TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 3
略語・用語の定義一覧 4
1. まとめ 5
2. 単回投与毒性試験 8
2.1. ラット（忍容性試験） 8
2.2. ラット（本試験） 10
2.3. サル 12
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 13
3.1. ラット 4 週間静脈内投与毒性試験 13
3.2. ラット 26 週間静脈内投与毒性試験 17
3.3. サル 4 週間静脈内投与毒性試験 19
3.4. サル 26 週間静脈内投与毒性試験 21
4. 遺伝毒性試験 23
4.1. イノツズマブ　オゾガマイシン 23
4.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 23
4.1.2. In vivo 小核試験 24
4.2. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 25
4.2.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 25
4.2.2. In vitro 小核試験 25
5. がん原性試験 26
6. 生殖発生毒性試験 26
6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 26
6.1.1. 重要な試験以外の試験 26
6.1.2. 重要な試験 27
6.2. 胚・胎児発生に関する試験 28
6.2.1. 重要な試験以外の試験 28
6.2.1.1. ラット 28
6.2.1.2. ウサギ 28
6.2.2. 重要な試験 29
6.2.2.1. ラット 29
6.2.2.2. ウサギ 30
6.3. 出生前および出生後の発生に関する試験 31

7. 局所刺激性試験 31
8. その他の毒性試験 31
8.1. イノツズマブ　オゾガマイシン 31
8.1.1. In vitro 血液適合性試験 31
8.1.2. オプレルベキンとの併用投与試験 32
8.2. G544 抗体 33
8.2.1. アカゲザル組織との交差反応性試験 33
8.2.2. ヒト，カニクイザル，イヌ，ウサギ，ラットおよびマウス組織との交差反応性試験 33
8.2.3. ヒト組織との交差反応性試験 34
8.3. 非結合カリケアマイシン誘導体 35
8.3.1. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 35
8.3.1.1. 単回投与毒性試験（マウス，ラットおよびイヌ） 35
8.3.1.2. 反復投与毒性試験（ラットおよびイヌ） 36
8.3.1.3. In vitro 光毒性試験 36
8.3.2. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut 36
8.3.2.1. 単回投与毒性試験（ラット） 36
8.3.3. N-Ac-ε-カリケアマイシン 37
8.3.3.1. 単回投与毒性試験（ラットおよびイヌ） 37
8.4. カリケアマイシン誘導体に関するその他の試験（肝毒性および血小板減少症の発現機序に関する探索的試験） 37
9. 考察および結論 41
9.1. 肝臓 42
9.2. リンパ系器官，骨髄および血液学的所見 44
9.3. 雄性生殖器 46
9.4. 雌性生殖器 47
9.5. 胚・胎児毒性 47
9.6. 神経系 48
9.7. 腎臓 48
9.8. 変異原性，染色体異常誘発性およびがん原性 49
9.9. その他の所見 50
9.10. 結論 51
10. 図表 52

LIST OF TABLES

Table 1.　イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性試験の概要 6

略語・用語の定義一覧

略語・用語	省略していない表現または用語の定義
AcBut	4-(4’-Acetylphenoxy)butanoic acid，4-(4′-アセチルフェノキシ)ブタン酸
ADA	Anti-drug antibody，抗薬物抗体
ADC	Antibody-drug conjugate，抗体薬物複合体
ALT	Alanine transaminase，アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	Activated partial thromboplastin time，活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate transaminase，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the serum concentration - time curve，血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{168}	Area under the serum concentration - time curve from time 0 to 168 hours after dosing，投与後 0 から 168 時間の血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{24}	Area under the serum concentration - time curve from time 0 to 24 hours after dosing，投与後 0 から 24 時間の血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the serum concentration-time curve from time zero to infinity，投与後 0 から無限時間まで外挿した血清中濃度－時間曲線下面積
C_{5min}	Serum concentration at 5 minutes after dosing，投与 5 分後の血清中濃度
C_{max}	Maximum serum concentration，最高血清中濃度
DMSO	Dimethyl sulfoxide，ジメチルスルホキシド
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid，エチレンジアミン四酢酸
GALT	Gut-associated lymphatic tissue，腸管関連リンパ組織
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
HA	Hyaluronic acid，ヒアルロン酸
IL	Interleukin，インターロイキン
IV	Intavenous，静脈内
LOAEL	Lowest-observed-adverse-effect level，最小毒性量
MNPCE	Micronucleated polychromatic erythrocyte，小核を有する多染性赤血球
N-Ac	N-acetyl，N-アセチル
NOAEL	No-observed-adverse-effect level，無毒性量
NOEL	No-observed-effect level，無影響量
NRH	Nodular regenerative hyperplasia，結節性再生性過形成
NZW	New Zealand White，ニュージーランドホワイト
PBS	Phosphate buffered saline，リン酸緩衝生理食塩水
PCE	Polychromatic erythrocyte，多染性赤血球
PT	Prothrombin time，プロトロンビン時間
SD	Sprague-Dawley
SEC	Sinusoidal endothelial cells，類洞内皮細胞
SOS	Sinusoidal obstruction syndrome，類洞閉塞症候群
TK	Toxicokinetics，トキシコキネティクス
VEGF	Vascular endothelial growth factor，血管内皮細胞増殖因子
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor，血管内皮細胞増殖因子受容体
VOD	Veno-occlusive disease，静脈閉塞性肝疾患

1. まとめ

イノツズマブ　オゾガマイシン（PF-05208773, CMC-544 または WAY-207294）の毒性プロファイルについて，広範に検討した。実施した試験の一覧を Table 1 に示す。試験デザインおよび評価項目は，日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH），経済協力開発機構（OECD）および各国の規制［米国食品医薬品局（FDA），欧州共同体指令および日本国内の規制］の中で概説された，一般に認められている原則および慣例に則って実施した。すべての重要な試験（一般毒性試験，生殖発生毒性試験および遺伝毒性試験），組織交差反応性試験および光毒性試験は，特記ない限り FDA の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用して実施した。

単回および 26 週間までの反復投与毒性試験，in vitro および in vivo 遺伝毒性試験，受胎能および初期胚発生試験（雌のみ）ならびに胚・胎児発生試験において，イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性を評価した。また，ラット，サルおよびヒトにおける血液適合性を評価した。毒性試験の投与経路は臨床で用いられている静脈内とした。一般毒性試験では，ラットおよびサルをそれぞれげっ歯類および非げっ歯類の動物種として選択した。イノツズマブ　オゾガマイシンの構成成分である G544（抗 CD22 抗体）はいずれの非臨床動物種の CD22 抗原にも結合しない（2.6.2.2.1.3 項）ことから，これらの動物種は標的以外に対する結合型または非結合カリケアマイシンの毒性を検討するためにのみ適切であると考えられる。なお，マウス，ラット，ウサギ，イヌまたはサルの組織には，G544 に特異的な抗体染色像は認められていない（2.6.6.8.2 項）。ラットおよびサルを用いた重要な反復投与毒性試験における投与スケジュールは，臨床の投与レジメン（週 1 回の 3 回投与からなる 3～4 週間を 1 サイクルとして，最大 6 サイクル）に対応し，週 1 回投与とした。イノツズマブ　オゾガマイシンに加え，構成成分である G544 の毒性についても，ラットおよびサルを用いた反復投与毒性試験の 1 投与群ならびにマウス，ラット，イヌ，カニクイザルおよびアカゲザルを用いた組織交差反応性試験において評価した。非結合カリケアマイシンである N-アセチル（N-Ac）-γ-カリケアマイシンジメチルヒドラジド（DMH）について，マウス，ラットおよびイヌを用いた単回または反復投与毒性試験，in vitro 遺伝毒性試験ならびに in vitro 光毒性試験を実施した。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 4-(4′-アセチルフェノキシ)ブタン酸（AcBut）（非結合カリケアマイシンとリンカー部分の複合体）および N-Ac-ε-カリケアマイシン（イノツズマブ　オゾガマイシンのラットにおける主な胆汁中排泄代謝物で，ヒト尿中にも検出されている）についても，ラットまたはイヌを用いた単回投与毒性試験を実施した。

サルを用いたその他の毒性試験として，イノツズマブ　オゾガマイシン投与による血小板減少に対するオプレルベキン（組換え型ヒトインターロイキン-11）の作用を検討した併用投与試験を実施し，また結合型および非結合カリケアマイシンに関連した肝毒性および血小板減少の機序を検討するために，非結合性のヒト化 IgG1 モノクローナル抗体に酸に不安定な AcBut リンカーを介して N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH を結合させた ADC を投与する探索的試験を実施した。

Table 1.　イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性試験の概要

試験の種類および期間 [a]	投与経路	動物種 [b]
イノツズマブ　オゾガマイシンに関する試験		
単回投与毒性試験		
単回投与および 2 週間観察 [c]	IV	Sprague-Dawley ラット
単回投与および 2 週間観察	IV	Sprague-Dawley ラット
単回投与および 2 週間観察	IV	カニクイザル
反復投与毒性試験		
4 週間投与 [d] および 4 週間回復	IV	Sprague-Dawley ラット
26 週間投与 [d]	IV	Sprague-Dawley ラット
4 週間投与 [d] および 4 週間回復	IV	カニクイザル
26 週間投与 [d]	IV	カニクイザル
遺伝毒性試験		
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	ネズミチフス菌，大腸菌
小核試験	IV	CD-1 マウス
生殖発生毒性試験		
受胎能試験（用量設定試験）	IV	Sprague-Dawley ラット
受胎能試験	IV	Sprague-Dawley ラット
発生試験（用量設定試験）	IV	Sprague-Dawley ラット
発生試験	IV	Sprague-Dawley ラット
発生試験（用量設定試験）	IV	New Zealand White ウサギ
発生試験	IV	New Zealand White ウサギ
その他の毒性試験		
血液適合性試験 [c]	In vitro	ラット，サル，ヒトの全血および血漿
オプレルベキンとの併用試験 [c,e]	IV	カニクイザル
G544 に関する試験		
組織交差反応性試験 [c]	In vitro	マウス，ラット，ウサギ，イヌ，カニクイザル，ヒトの組織
組織交差反応性試験 [c]	In vitro	アカゲザルの組織
組織交差反応性試験	In vitro	ヒトの組織
N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH に関する試験 [f]		
単回投与毒性試験		
単回投与および 6 週間観察	IV	CD-1 マウス
単回投与および 6 週間観察	IV	Sprague-Dawley ラット
単回投与および 6 週間観察	IV	ビーグル犬
反復投与毒性試験		
6 週間 [d]	IV	Sprague-Dawley ラット
6 週間 [d]	IV	ビーグル犬
遺伝毒性試験		
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	ネズミチフス菌，大腸菌
小核試験	In vitro	TK6 細胞
光毒性試験	In vitro	BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞
N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut に関する試験 [f]		
単回投与毒性試験		
1 日投与および 6 週間観察	IV	Sprague-Dawley ラット
N-Ac-ε-カリケアマイシンに関する試験 [f]		
単回投与毒性試験		
1 日投与および 6 週間観察	IV	Sprague-Dawley ラット
1 日投与および 6 週間観察	IV	ビーグル犬

Table 1.　イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性試験の概要

試験の種類および期間 [a]	投与経路	動物種 [b]
カリケアマイシン誘導体に関するその他の試験		
肝毒性および血小板減少症の発現機序に関する探索的試験		
6 週間投与および 3 週間回復 [c,g,h]	IV	カニクイザル

AcBut：4-(4'-アセチルフェノキシ)ブタン酸，DMH：ジメチルヒドラジド，GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，IV：静脈内，N-Ac：N-アセチル
a. 特記のない限り，すべての試験は GLP を適用して実施された。
b. ラットを用いた試験では，試験報告書によって系統名を CD VAF と表記したものと Sprague-Dawley と表記したものがある。本概要文中では表記を統一するため，これらのラットの系統名を Sprague-Dawley と表記する。
c. GLP 非適用
d. 週 1 回投与
e. オプレルベキンはイノツズマブ　オゾガマイシン単回投与の約 6 時間後より，125 μg/kg/日の用量で 5 日間，皮下投与した。
f. 参考文献
g. サル体内のエピトープを認識しない（交差反応性がない）抗体とカリケアマイシンを結合させた抗体薬物複合体を投与した。
h. 3 週間ごとに計 3 回投与

本概要文では特記のない限り，イノツズマブ　オゾガマイシンの投与量を体表面積当たりの G544 タンパク量（mg/m^2）として表記し，臨床でのイノツズマブ　オゾガマイシンの投与量（mg/m^2）と比較できるようにした。また，可能な場合には，イノツズマブ　オゾガマイシンの投与量を N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH-AcBut 量（μg/kg）としても表記した。重要な試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの薬物-抗体比（G544 抗体 1 分子に結合するカリケアマイシンの分子数）は 6.5～7.3（平均 6.9）であった。

ラットおよびサルにイノツズマブ　オゾガマイシンを単回または反復投与したときに観察された投与期間中の変化はおおむね類似しており，体重および摂餌量の減少，骨髄およびリンパ組織への毒性を示唆する血液パラメータの変化ならびに肝毒性を示唆する血液生化学パラメータの変化などが認められた。これらの両動物種における毒性の主要な標的臓器は，肝臓，リンパ造血系組織および雌雄生殖器であった。反復投与時に観察されたイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連したその他の毒性所見として，神経系（ラット）および腎臓（ラットおよびサル）の変化が認められた。消化管毒性はラットに高用量を単回投与したときのみ認められた。ラットおよびサルでは CD22 特異的なイノツズマブ　オゾガマイシンの結合が認められないことから，これらの変化は結合型または非結合カリケアマイシンによる非特異的な細胞毒性によるものと考えられる。カリケアマイシン誘導体（N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut および N-Ac-ε-カリケアマイシン）のマウス，ラットおよびイヌを用いた単回または反復投与毒性試験において，新たな標的臓器毒性は認められなかった。ラットで認められた精巣および精巣上体の変化ならびに軸索変性を除き，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した標的臓器毒性は回復または回復傾向が認められた。

In vitro 遺伝毒性試験では，イノツズマブ　オゾガマイシンは細菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかったが，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は細菌において変異原性を示したほか，ヒト TK6 リンパ芽球細胞において染色体異常を誘発した。In vivo では，イノツズマブ　オゾガマイシンはマウス骨髄において染色体異常を誘発し，無影響量（NOEL）は求められなかった。肝臓に前腫瘍性病変が，ラットでは単回投与および 4 週間以上の反復投与で，サルでは 26 週間反復投与したときの 1 例に観察された。また，ラットでは 26 週間

反復投与時に肝細胞腺腫が観察された。ラット 4 週間投与試験で認められた前腫瘍性病変および腫瘍性病変は，4 週間の休薬後にも観察された。

ラットを用いた受胎能および初期胚発生試験では，イノツズマブ　オゾガマイシンは雌の受胎能に影響を及ぼさなかった。ラットを用いた胚・胎児発生試験では，胚・胎児の吸収が増加するとともに生存胚数が減少し，胎児の体重減少およびそれと関連した胎児の骨化遅延が観察されたことから，イノツズマブ　オゾガマイシンは胎児毒性を有すると考えられた。イノツズマブ　オゾガマイシンは，ラットおよびウサギにおいて催奇形性を示さなかった。

In vitro 血液適合性試験では，ラット，サルおよびヒトの赤血球において，イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒による溶血は認められなかった。

サルを用いたオプレルベキン（組換え型ヒトインターロイキン-11）とイノツズマブ　オゾガマイシンの併用試験では，イノツズマブ　オゾガマイシン投与による血小板数減少がオプレルベキンとの併用によって，イノツズマブ　オゾガマイシン単独投与よりも速やかに回復することが示された。

組織交差反応性試験では，抗 CD22 抗体である G544 は非臨床試験に用いた動物種（マウス，ラット，イヌ，カニクイザルおよびアカゲザル）では特異的な染色を示さなかった。ヒト組織では，G544 は評価した組織中の CD22 発現細胞と反応した。この試験でみられた組織染色像は，文献で報告されている CD22 の免疫組織化学的分布と一致していた。

マウス BALB/c 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験において, N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は光毒性を示さなかった。

肝毒性および血小板減少の機序を検討するために実施した PF-06647259 を用いる探索的試験では，サルにおいて血小板数減少および静脈閉塞性肝疾患（VOD）［類洞閉塞症候群（SOS）とも呼ばれる］の初期段階に相当すると考えられる肝臓微小血管傷害が認められた。血小板数の急性の減少は肝臓特異的な内皮損傷の二次的変化として発生した血小板の捕捉によって生じたと考えられた。血小板に対する影響が持続した機序は不明であるが，トロンボポエチン減少により骨髄への刺激が不十分となり，慢性的な血小板産生減少に至った可能性が考えられる。

2. 単回投与毒性試験

ラットおよびサルを用いた単回静脈内投与試験を実施した。ラットでは忍容性試験および病理組織学的検査を含む本試験を行った（毒性試験の概要表，2.6.7.5）。

2.1. ラット（忍容性試験）

RPT-43870（参考資料），RPT-46233

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ラット血清アルブミンを含む PBS）を 0（対照），0.9，3.06，4.62 または 8.34 mg/m^2 の用量で SD ラット（3 匹/性/群）に単回静脈内投与した[a]

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は, カリケアマイシン量として 0, 10，35，50 または 100 µg/kg，G544 量として 0，0.15，0.51，0.77 または 1.39 mg/kg に相当する。

（RPT-43870；毒性試験の概要表，2.6.7.5）。用量は，当初はゲムツズマブ　オゾガマイシンのラット単回投与毒性試験の結果を参考に 0.9 および 3.06 mg/m^2 としたが，3.06 mg/m^2 で 7 日間以上の間良好な忍容性を示したことから，順次 4.62 および 8.34 mg/m^2 の用量を追加した。評価項目は一般状態（毎日），体重（試験前，試験 7 日および試験 14 日），週ごとの摂餌量（試験前，試験 1 週および試験 2 週），血液学的および血液生化学的検査（試験 3 日）ならびに剖検とした。対照群の動物は 14 日間の観察後に，0.9 mg/m^2 群または 3.06 mg/m^2 群の動物と同時に剖検を行った。ラット（3 匹/性/群）を用いて補助的なトキシコキネティクス（TK）試験（RPT-46233）を実施し，イノツズマブ　オゾガマイシンを 2.9 または 7.68 mg/m^2（カリケアマイシン量としてそれぞれ 35 または 100 µg/kg に相当）の用量で単回静脈内投与して，イノツズマブ　オゾガマイシン，G544 抗体および非結合カリケアマイシン誘導体の投与 14 日後までの曝露量を評価した。数値の変化は，対照群の平均値との差もしくは比率で示す（以下，特記ない限り同様）。

試験期間中，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した死亡，一般状態の変化または剖検所見は認められなかった。すべての本薬投与群で体重，体重増加量および摂餌量に軽微から中等度の減少がみられた。体重の変化の程度はおおむね用量依存的であり，4.62 または 8.34 mg/m^2 群で最も大きく減少した。対照群と比較した体重の低値は試験 14 日に最大となり，雄および雌でそれぞれ 12%および 13%減少した。摂餌量は 8.34 mg/m^2 群で最も大きく減少し，試験 7 日に雄および雌でそれぞれ 32%および 35%減少した。試験 3 日にすべての用量で複数の血液学的パラメータが概して用量依存的に変化し，4.62 mg/m^2 以上で最も大きく変化した。白血球パラメータ（白血球数，好中球数，リンパ球数および単球数）に軽微から中等度の減少がみられ，変化の程度は雄で-12%～-61%，雌では-17%～-60%であった。赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）は軽微に増加した（雄で最大 17%）。また，網赤血球数の減少（雄および雌でそれぞれ最大-78%および-77%）ならびに平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビンの軽微な減少（雌で最大-7%）がみられた。これらの血液学的パラメータの変化のうち，4.62 mg/m^2 以上で観察された白血球数およびリンパ球数の減少は毒性学的に意義のある変化と考えられた。8.34 mg/m^2 群の雌雄で AST の増加（最大 79%）がみられたが，毒性学的意義の低い変化と考えられた。他にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に直接起因する血液生化学パラメータの変化はなく，4.62 mg/m^2 以上の雌雄で観察された変化（グルコース，コレステロール，トリグリセリド，総タンパクおよびグロブリン）は，摂餌量減少または血液濃縮によるものと考えられた。8.34 mg/m^2 群の雌で無機リンの減少（-19%），3.06 または 8.34 mg/m^2 群の雌雄でサイロキシンの減少（最大-33%）がみられたが，これらの変化の毒性学的意義は明らかでない。

イノツズマブ　オゾガマイシンおよび G544 の全身曝露量（C_{5min} および AUC_{inf}）は用量の増加に伴って増加し，G544 の曝露量はイノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量よりも高かった。曝露量に性差はみられなかった。非結合カリケアマイシン誘導体は検出されたものの，その測定値は低く，ばらつきがみられた。

この試験においてラットにイノツズマブ　オゾガマイシンを単回静脈内投与したときの最大耐量は，最高用量の 8.34 mg/m^2 と判断された。

体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 6 を用いた。

2.2. ラット（本試験）

RPT-46645

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，デキストラン 40，ポリソルベート 80，塩化ナトリウムおよびトリス溶液を含む滅菌水）を 0（対照），8.22 または 16.4 mg/m^2 の用量でラット（6 匹/性/群）に単回急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.5）。本試験の最高用量は忍容性試験（RPT-43870）で用いた最高用量の 2 倍とした。評価項目は一般状態（14 日間の観察期間中に 1 日 1 回），体重（試験前，試験 1 日の投与前，試験 7 日および試験 14 日），摂餌量（週 1 回），臨床病理検査（試験 2，7 および 14 日），剖検，臓器重量および病理組織学的検査とした。

試験 5 日に 16.4 mg/m^2 群の 4 例が死亡した（1 例は死亡発見，3 例は安楽殺）。これらの動物でみられた一般状態変化は，円背位，自発運動低下，運動失調，冷触感，脱水，蒼白化または口鼻周囲の赤色汚れといった死戦期症状のみであった。死因は，肝臓（小葉中心性の肝細胞壊死），脾臓および胸腺（リンパ萎縮），骨髄（細胞密度の低下）および精巣（精細管変性）の変化を伴う多臓器障害と考えられた。安楽殺した 1 例では臨床病理学的データが得られており，この動物では白血球数，リンパ球数および単球数の減少に加え，ALT およびアルカリホスファターゼの増加が認められた。死亡した 4 例すべてで骨髄の細胞密度が顕著に低下し，重度なびまん性の小葉中心性肝細胞壊死が観察された。また，これらの動物の 1 例以上で認められた病理組織学的変化として，心臓の出血，盲腸粘膜の変性，腎尿細管の円柱形成，腺胃主細胞の好酸性化，精巣上体の精子減少，前立腺または乳腺（雄）の萎縮，精細管変性，腸間膜リンパ節の洞出血または数種の臓器/組織［脾臓，胸腺，下顎リンパ節，腸間膜リンパ節および腸管関連リンパ組織（GALT）］のリンパ萎縮が認められた。

その他の一般状態変化は溶媒成分の一つであるデキストラン 40 の影響と関連しており，この成分はラットでアナフィラキシー様反応（鼻，耳介または四肢の腫脹）を誘発することが知られている[b]。投与から数分以内に，対照群を含むすべてのラットがアナフィラキシー様反応（鼻，耳介または四肢の腫脹）の徴候を示した。そのため，すべてのラットに塩酸ジフェンヒドラミン（10 mg/kg）を皮下投与した。アナフィラキシー様反応は翌日にはおおむね消失したが，生存したラットの大部分では投与部位に皮膚病変（変色，腫脹または擦過傷）が生じ，これらの皮膚病変は剖検時（試験 14 日）まで持続した。

試験 7 日に，8.22 mg/m^2 の雄および雌の体重はそれぞれ 17%および 13%，16.4 mg/m^2 ではそれぞれ 19%および 12%減少した。試験 14 日の時点でもほとんど回復はみられず，イノツズマブ　オゾガマイシン投与群の体重は対照群より 14%～24%低値であった。試験 1 週の間の摂餌量は，8.22 mg/m^2 の雄および雌でそれぞれ 43%および 41%，16.4 mg/m^2 ではそれぞれ 59%および 43%減少した。試験 2 週には回復の徴候が認められたものの，イノツズマブ　オゾガマイシン投与群の摂餌量は依然として対照群より 22%～36%低値であった。

---

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，100 または 200 µg/kg，G544 量として 0，1.37 または 2.74 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 6 を用いた。

[b] Voorhees AB, Baker HJ, Pulaski EJ. Reactions of albino rats to injections of dextran. Proc Soc Exp Biol Med. 1951;76:254-6.

8.22 mg/m^2 以上の雌雄で，白血球数減少（-61%～-82%），リンパ球数減少（-40%～-86%）および網赤血球数減少（-90%～-97%）といった血液学的パラメータの変化がみられた。16.4 mg/m^2 ではこれに加え，血小板数減少（-81%～-93%）および赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）の減少（-16%～-28%）がみられた。これらの変化は主に試験 7 日に認められた。血液生化学的パラメータの変化は 8.22 mg/m^2 以上で認められ，最大の変化は概して試験 7 日または 15 日に認められた。具体的な所見としては，8.22 mg/m^2 以上で ALT の増加（最大 4.6 倍），サイロキシン，無機リン，グルコース，コレステロール，トリグリセリドおよびカリウムの減少が，16.4 mg/m^2 で AST の増加（最大 2.9 倍）ならびにアルブミン（-16%～-19%）およびグロブリン（-6%～-15%）の減少による総タンパクの減少（-14%～-16%）が認められた。これらの血液生化学的所見は主として肝臓に対する毒性を反映したものか，摂餌量の減少に伴う二次的変化と考えられた。試験 7 日に 16.4 mg/m^2 の雄 1 例でみられた ALT の増加（4.6 倍）は，病理組織学的検査でみられた中等度の肝細胞肥大と関連していた。すべての臨床病理学的所見は試験 15 日に回復または回復傾向を示した。

主な病理組織学的所見は骨髄，リンパ組織および雄性生殖器で観察され，他に腎臓，肝臓，肺および雌性生殖器でも認められた。8.22 mg/m^2 以上の雌雄で軽微から重度の骨髄細胞密度の減少が認められ，これに伴って顆粒球系細胞数および赤芽球系細胞数の減少が認められた。8.22 mg/m^2 以上の雌雄では腸間膜リンパ節，GALT，脾臓および胸腺に，16.4 mg/m^2 の雌雄では下顎リンパ節に軽微から極めて重度のリンパ萎縮が認められた。脾臓のリンパ萎縮は 8.22 または 16.4 mg/m^2 の雌でみられた脾臓重量（絶対および相対）の減少（-15%～-33%）と，また胸腺のリンパ萎縮は 8.22 mg/m^2 以上の雌雄でみられた胸腺重量（絶対および相対）の減少（-12%～-54%）と関連した変化であった。これらのリンパ系組織の変化のうち，GALT の変化は軽微から軽度であり，毒性学的意義は低いと考えられたが，その他のリンパ系組織の所見は毒性学的意義のある変化と考えられた。8.22 mg/m^2 以上の雄で精巣の小型化（絶対および相対重量 : 40%～67%減少）および軽微から極めて重度の精細管変性が認められた。精巣変性および体重減少に伴う二次的変化として，精巣上体重量の減少（-20%～-51%）を伴う精巣上体の小型化，軽微から重度の精巣上体の精子減少，前立腺重量の減少（-24%～-50%）を伴う軽微から軽度の前立腺萎縮および軽度から中等度の雄の乳腺萎縮が認められた。他の病理組織学的所見として，16.4 mg/m^2 の雌雄で軽微な腎尿細管円柱，8.22 mg/m^2 以上の雌で軽微から軽度の腎間質線維化巣が認められた。8.22 mg/m^2 以上の雌雄で軽微な肝臓オーバル細胞の過形成および肝細胞の色素沈着の増加が観察され，さらに 16.4 mg/m^2 の雄 1 例で中等度のびまん性肝細胞肥大がみられた。これらの肝臓の変化は，8.22 mg/m^2 以上での絶対肝臓重量の減少（-10%～-19%）および相対肝臓重量の増加（5%～12%）に関連したものであった。また，16.4 mg/m^2 の雌雄で重度の小葉中心性の肝細胞壊死が認められた。8.22 mg/m^2 以上の雌雄で肺胞マクロファージ出現率の上昇が認められた。16.4 mg/m^2 の雌で軽微から軽度の卵巣，子宮および腟上皮の萎縮が認められ，これらは卵巣および子宮の相対重量の減少（それぞれ-37%および-38%）に関連したものであった。上記の腎臓，肝臓，肺，雌雄生殖器および雄の乳腺で観察された病理組織学的変化のうち，精細管変性および肝臓の小葉中心性の壊死は毒性学的意義のある変化と考えられたが，その他の所見は，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連していたものの，軽微な変化であったこと，限られた部位に発現していたこと，対照群の動物でも観察される所見であること，顕著な臨床病理学的変化を伴わなかったこと，あるいは他の所見に伴う二次的変化と考えられることから，毒性学的な意義は低いと考えられた。脳，副腎（雄），心臓，腎臓，肝臓，脳下垂体（雄）および脾臓（雄）の絶対重量の減少および相対重量の増加が認められ，これらは体重減少に伴う変化であり，本薬投与の直接的な影響ではないと考えられた。対照群およびイノツズマブ　オゾガマイシン投与群の雌雄にお

いて，塩酸ジフェンヒドラミン投与部位の皮膚で高頻度に壊死病巣または炎症が生じたが，これらの影響は本薬投与に関連したものではなかった。

以上の結果から，ラットにおけるイノツズマブ　オゾガマイシンの概略の致死量は 8.22 ～ 16.4 mg/m^2 と考えられた。

2.3. サル

RPT-46644

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，デキストラン 40，ポリソルベート 80，塩化ナトリウムおよびトリス溶液を含む滅菌水）を 0（対照），4.11，8.22 または 16.4 mg/m^2 の用量でサル（2 匹/性/群；対照群は 1 匹/性/群）に単回急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.5）。用量は，当初はゲムツズマブ　オゾガマイシンのサル単回および反復投与毒性試験での忍容性に基づき 8.22 および 16.4 mg/m^2 としたが，これらの用量でみられた所見を考慮して 4.11 mg/m^2 を追加した。評価項目は，一般状態（14 日間の観察期間中に 1 日 1 回），体重（試験前および週 1 回），摂餌量（1 日 1 回），臨床病理検査（試験前ならびに試験 3，7 および 14 または 15 日），剖検および臓器重量（脳，心臓，腎臓および肝臓）とした。イノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および非結合カリケアマイシンの全身曝露量の評価のため，試験 1，3，7，10 および 14 日に採血した。

剖検の予定日（試験 15 日）まですべての動物が生存した。一般症状として，試験開始からおおむね 10 日以内に嘔吐および糞便異常（液状便，粘液便，軟便，赤色便または糞排泄減少）が認められ，これらの所見の発現例数および発現頻度（所見がみられた平均日数）は，いずれのイノツズマブ　オゾガマイシン投与群でも対照群より多かった。嘔吐はおおむね投与 1～4 日後に，4.11 mg/m^2 の雌 1 例，8.22 mg/m^2 の雄 2 例および雌 1 例ならびに 16.4 mg/m^2 の全例で認められた。糞便異常は試験開始からおおむね 10 日以内に，イノツズマブ　オゾガマイシンを投与した大部分の動物で認められた。赤色便は 4.11 mg/m^2 の雌 1 例で試験 7 日に，16.4 mg/m^2 の雄 1 例で試験 4 日にそれぞれ認められた。糞量減少は用量依存的であり，8.22 mg/m^2 での頻度は対照群より顕著に高かった。摂餌量の減少はすべてのイノツズマブ　オゾガマイシン投与群でみられ，最大の影響は 8.22 mg/m^2 で認められた。摂餌量の減少にもかかわらず体重に変化はみられなかったが，これは栄養補助剤を与えたためと考えられた。試験 3，7 または 14 日の血液学的パラメータの変化には概して性差はみられず，主にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した造血細胞の増殖抑制を反映した変化と考えられた。具体的な変化としては，4.11 mg/m^2 以上で試験 3 または 7 日に血小板数の減少（-64%～-94%）が，8.22 mg/m^2 以上で試験 3 または 7 日にリンパ球数の減少（-52%～-86%）および試験 7 または 14 日に赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）の減少（-20%～-48%）が認められた。その他，4.11 mg/m^2 以上で認められた用量に依存しない変化として，試験 3 または 7 日に単球数の減少（-51%～-94%），好中球数の減少（-30%～-74%），好酸球の減少（-37%～-100%）および網赤血球数の減少（-20%～-75%）がみられた。さらに，

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，25，50 または 100 µg/kg，G544 量として 0，0.34，0.68 または 1.37 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，サルの換算係数 12 を用いた。

試験 3，7 または 14 日に 4.11 mg/m^2 以上で活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）延長（25%～75%），プロトロンビン時間（PT）延長（21%～39%）およびフィブリノゲンの増加（33%～2.2 倍）が認められた。これらの血液学的パラメータ変化のうち，血小板数，リンパ球数および赤血球パラメータの減少ならびに APTT 延長は，毒性学的な意義のある変化であると考えられた。イノツズマブ　オゾガマイシン投与による肝毒性を示唆する血液生化学パラメータの変化として，4.11 mg/m^2 以上の雌雄で試験 3，7 または 14 日に ALT 増加（1.3～25.4 倍）および AST 増加（1.3～18.5 倍）が，　16.4 mg/m^2 の雄で試験 7 日に直接および間接ビリルビン増加による総ビリルビン増加（5～5.5 倍）が認められた。また，4.11 mg/m^2 以上の一部の動物（雌雄）でアルブミン，グロブリンおよび総タンパクの軽微から軽度の減少（試験 3 日に-10%～-17%，試験 7 日に-10%～-23%）が認められ，16.4 mg/m^2 での発現例数が最も多かった。4.11 mg/m^2 以上で試験 3，7 または 14 日にコレステロールの減少（-15%～-46%）およびグルコースの減少（-26%～-44%）が認められたが，これらの所見および血清タンパクの減少は摂餌量の減少によるものと考えられた。これらの所見のうち，16.4 mg/m^2 で試験 7 日にみられた AST，ALT および総ビリルビンの増加は毒性学的意義がある変化と考えられた。これらの臨床病理学的変化は試験 7 または 14 日までに回復または回復傾向が認められた。臓器重量および剖検では，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した影響は認められなかった。

イノツズマブ　オゾガマイシンおよび G544 の全身曝露量（C_{5min} および AUC_{inf}）は用量の増加に伴って増加し，性差は認められなかった。非結合カリケアマイシンの血清中濃度は測定したいずれの時点でもすべての動物で定量限界を下回ったため，TK パラメータの算出はできなかった。

以上の結果から，サルにおけるイノツズマブ　オゾガマイシンの概略の致死量は 16.4 mg/m^2 超と考えられた。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

3.1. ラット 4 週間静脈内投与毒性試験

RPT-46910

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，デキストラン 40，ポリソルベート 80，塩化ナトリウムおよびトリス溶液を含む滅菌水）を 0（生理食塩水を投与した対照群，20 匹/性），0（G544 を 4.01 mg/m^2/週の用量で投与した対照群，雄 24 匹，雌 20 匹），0.41（雄 19 匹，雌 15 匹），1.24（19 匹/性）または 4.07 mg/m^2/週（雄 24 匹，雌 20 匹）の用量で，週 1 回投与を 1 サイクルとして 4 回（試験 1，8，15 および 22 日），雌雄 SD ラットに急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.7A）。G544 投与対照群には，4.07 mg/m^2/週群に投与した溶液のタンパク濃度とほぼ等しくなるよう，同一の溶媒に G544 を溶解して投与した。用量は，ラット単回投与毒性試験（RPT-46645）において 8.22 mg/m^2（カリケアマイシン量とし

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0（生理食塩水），0（G544），5，15 または 50 µg/kg，G544 量として 0（生理食塩水），0.68（G544），0.07，0.21 または 0.69 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 5.9 を用いた。

て 100 μg/kg 相当）で顕著な体重増加量，摂餌量および血液学的パラメータの減少がみられたことから，カリケアマイシン量としてその半量に当たる 4.07 mg/m^2 を最高用量として選択した。生理食塩水投与対照群，G544 投与対照群および 4.07 mg/m^2/週群の一部の動物（5 匹/性/群）について 4 週間の休薬による回復性を評価した。また，サテライト群として G544 投与対照群（4.01 mg/m^2/週）ならびにイノツズマブ　オゾガマイシンの 0.41，1.24 および 4.07 mg/m^2/週群（雄 18 匹/群，ただし 1.24 mg/m^2/群は 18 匹/性/群）を設け，サイクル 1 およびサイクル 4 の 1，4，7 および 14 日目にイノツズマブ　オゾガマイシンおよび G544 の曝露量を測定した。評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査（試験 6，14，21，28 および 57 日；一部の動物では網赤血球以外について試験 3，10，17，24，36，43 および 51 日にも実施），血液生化学検査（試験 6，14，21，28 および 57 日），凝固検査（試験 29，30，31 および 57 日），ADA 測定（一部の動物を対象として投与前ならびに試験 15，29，43 および 51 日），免疫表現型検査（フローサイトメトリーにより，G544 投与対照群を除く各群の 10 匹/性/群を対象として試験 28 日），臓器重量，剖検ならびに病理組織学的検査とした。

5 例の死亡が認められたが，いずれの死亡もイノツズマブ　オゾガマイシン投与との関連はなかった。3 例［G544 投与対照群 2 例および 4.07 mg/m^2/週群（TK 群）1 例］が採血後に死亡し，これらの死亡は採血手技によるものと考えられた。G544 投与対照群の雌 1 例は試験中に出産したため安楽殺した。4.07 mg/m^2/週の雄 1 例は 3 回目の投与後に死亡し，この死亡は溶媒成分の一つであるデキストラン 40 によるアナフィラキシー様反応のためと考えられた。この個体では同群の他の個体と類似した病理組織学的変化も認められた。

一般状態観察では，糞便異常（変色便および糞量減少）および脱水（4.07 mg/m^2/週の雄 1 例）がみられた。糞便異常は 0.41 mg/m^2/週以上で用量依存的に観察された。糞量減少および脱水は少数例で認められ，イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒投与に関連した摂餌量への影響に付随した二次的な影響の可能性が考えられる。その他の一般症状変化は，デキストラン 40 によるアナフィラキシー様反応か，あるいはサイクル 1（試験 1 日）およびサイクル 2（試験 8 日）の投与前に行った予防処置（ジフェンヒドラミンの皮下投与）に関連するものと考えられた。ジフェンヒドラミンによる前処置にもかかわらず，多くのラットにアナフィラキシー様反応が生じた。このアナフィラキシー様反応の特徴として鼻，足蹠または耳介の腫脹が認められ，4 回の各投与日（試験 1，8，15 および 22 日）に投与後間もなく発現した。アナフィラキシー様反応が生じたほぼすべての動物は G544 投与対照群および 4.07 mg/m^2/群に属し，これらの群では投与したデキストラン 40 の用量が最も高かった。アナフィラキシー様反応の大部分は投与日のうちに回復した。また，多くの生存例ではジフェンヒドラミンの注射部位に皮膚病変（変色，腫脹または擦過傷）が認められた。

すべての用量のイノツズマブ　オゾガマイシン投与群の雌雄で体重増加量の減少が認められ，試験 1 週から投与期間終了時まで持続した。0.41 mg/m^2/週以上での試験 28 日（最終投与から 6 日後）の体重は，対照群よりも 5%～26%低値で，1.24 mg/m^2/週以上の雌では試験の早期に体重が減少した。4.07 mg/m^2/週における体重への影響は休薬によって回復し，生理食塩水投与対照群と同程度の体重増加率を示したが，試験 56 日（休薬中最後の体重測定日）での雄および雌の体重はそれぞれ 23%および 12%低値であった。同様に摂餌量の減少が観察され，概して投与期間の最初の 2 週間に影響が最も大きかった。試験 1 週における 0.41 mg/m^2/週以上での摂餌量は，対照群よりも約 8%～32%少なかったが，投与期間中のすべてのイノツズマブオゾガマイシン投与群で最後の 2 週間に，また 4.07 mg/m^2/週では休薬期間中に回復した。その結果，休薬期間終了時の 4.07 mg/m^2/週での摂餌量は生理食塩水投与対照群と同程度かまたはわずかに少ない程度であった。

1.24 mg/m^2/週以上の雌雄で赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）の減少（-4%～-35%）および網赤血球数の減少（-36%～-89%）が試験 6 日より認められた。4.07 mg/m^2/週の雌雄では，1 回以上の投与サイクルで白血球数（-14%～-45%），リンパ球数（-42%～-56%），好中球数（-46%～-53%），血小板数（-21%，雌のみ）および好酸球数（-32%～-63%）の減少がみられた。これらの血液学的パラメータ変化のうち，4.07 mg/m^2/週で認められたリンパ球数，網赤血球数および赤血球パラメータの変化は毒性学的に意義のある所見と考えられた。試験 28 日（最終投与から 6 日後）に実施した末梢血リンパ球の免疫表現型検査では，4.07 mg/m^2/週の雌雄ですべての主要なサブタイプのリンパ球数の減少がみられた。CD45RA+ B リンパ球の減少率（-66%～-79%）は，CD8 および CD4 T リンパ球の減少率（それぞれ-26%～-32%および-34%～-38%）よりも大きかった。主要なリンパ球のサブタイプごとに異なる影響が生じ，B リンパ球集団で最も顕著な影響が発現することは，げっ歯類に DNA 傷害性薬物を投与した際に一般的にみられる現象である[a,b,c]。G544 群およびイノツズマブ　オゾガマイシン投与群の一部の動物で，各投与の 2 日後（試験 3，10，17 および 24 日）ならびに休薬 2～4 週（試験 36，43 および 51 日）にも血液学的パラメータ（網赤血球数を除く）を測定したところ，投与 6 または 7 日後に主に 4.07 mg/m^2/週でみられた上述の変化と同様の変化が，0.41 mg/m^2/週以上で認められた。1.24 mg/m^2/週以上の雄で試験 29 日に軽微なフィブリノゲンの増加（8%～24%）が認められた。0.41 mg/m^2/週以上の雌雄では，すべての投与サイクルで ALT の増加（1.2～2.4 倍）が観察され，4.07 mg/m^2/週での ALT 増加は一部の動物で肝細胞変性（後述）を伴っていたことから毒性学的意義のある変化と考えられた。他に 1 回以上の投与サイクルで雌雄に認められたイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した血液生化学パラメータの変化は，0.41 mg/m^2/週以上での軽微から軽度のアルカリホスファターゼの増加（17%～54%），コレステロールの増加（24%～44%）およびトリグリセリドの減少（-16%～-63%）ならびに 1.24 mg/m^2/週以上での AST の増加（17%～70%）およびグルコースの減少（-10%～-26%）であった。グルコース，コレステロールおよびトリグリセリドの変化は 4.07 mg/m^2/週で最も大きく，主に摂餌量の減少によるものと考えられた。さらに，1.24 mg/m^2/週以上の雌で無機リンの増加，4.07 mg/m^2/週の雄でサイロキシンの減少が認められた。生理食塩水投与対照群と G544 投与対照群の間では，臨床病理パラメータに顕著な差は認められなかった。以上の臨床病理学的変化は，雌のトリグリセリド増加を除き回復または回復傾向が認められた。

病理組織学的検査では主に骨髄，リンパ組織，肝臓，神経および雌雄生殖器に所見が認められ，肺および腎臓にも変化がみられた。1.24 mg/m^2/週以上の雄および 4.07 mg/m^2/週の雌で骨髄に軽度の（重症度の平均。以下同じ）萎縮が観察された。4.07 mg/m^2/週の雌 1 例では軽微な骨髄の壊死が認められ，数例の雄では骨髄内の萎縮領域に小型の壊死病巣が認められた。4.07 mg/m^2/週の雄および 1.24 mg/m^2/週以上の雌では脾臓に軽微から軽度の髄外造血が認められた。1.24 mg/m^2/週以上の雌雄では，胸腺，脾臓，GALT ならびに腸間膜および下顎リンパ

[a] Thompson SC, Bowen KM, Burton RC. The effect of immunosuppressive agents on lymphocyte subsets in rat peripheral blood. Int J Immunopharmacol. 1987;9:747-59.

[b] Zandvoort A, Lodewijk ME, Klok PA, et al. Slow recovery of follicular B cells and marginal zone B cells after chemotherapy: implications for humoral immunity. Clin Exp Immunol. 2001;124:172-9.

[c] Loc NK, Oláh I, Kittner Z, et al. Effects of cyclophosphamide on the rat's mesenteric lymph node. Acta Morphol Acad Sci Hung. 1981;29:335-51.

節に軽微なリンパ萎縮が認められた。GALT ではリンパ萎縮に伴って，単細胞壊死の軽微な増加がみられた。骨髄およびリンパ組織の萎縮は，4.07 mg/m^2/週での胸腺の小型化ならびに雌雄の絶対および相対胸腺重量の減少（-35%～-57%）と関連していた。休薬後の動物では，リンパ組織の萎縮（軽微から軽度）の徴候はわずかな動物でしか認められず，骨髄壊死は認められなかった。

肝臓では肝細胞肥大（軽微から軽度）が 1.24 mg/m^2/週以上の雄および 4.07 mg/m^2/週の雌で認められ，4.07 mg/m^2/週の両性における変化は限局性または多巣性の軽微な肝細胞変性を伴っていた。4.07 mg/m^2/週でオーバル細胞の軽微な過形成および軽微な核の大型化（雄のみ）が観察され，0.41 mg/m^2/週以上で髄外造血が認められた。肝臓の髄外造血は，骨髄およびリンパ組織で観察された萎縮の二次的な影響と考えられた。休薬終了時に肝細胞肥大（軽微から軽度），オーバル細胞の過形成（軽微から中等度），肝細胞の核の大型化および明細胞巣（1 例）が雄雌のいずれかまたは両方で観察された。

1.24 mg/m^2/週以上の雌雄で坐骨神経に，4.07 mg/m^2/週で頸髄（後索および側索，雌）および三叉神経（雌雄）に，軽微な軸索変性が観察された。休薬後にも 4.07 mg/m^2/週の雌雄で軸索変性（坐骨神経，三叉神経および頸髄）が認められ，坐骨神経の軸索変性の重症度（軽微から軽度）は休薬後の方が主試験群（軽微）より高かった。これに加え，休薬後の動物では腰髄の軸索変性（軽微）が新たに観察された。

雄では，0.41 mg/m^2/週以上で用量依存的な精細管変性（軽度から極めて重度）が観察され，その特徴としてセルトリ細胞の層のみを有し，間細胞を欠く萎縮した精細管が認められ，付随して管内に巨大精子細胞がみられた。精巣の病理組織学的変化は，精巣の小型化（0.41 mg/m^2/週以上）および絶対および相対精巣重量の減少（-10%～-69%，0.41 mg/m^2/週以上）と相関していた。精細管変性に伴う二次的所見として，1.24 mg/m^2/週以上での精巣上体の精子減少ならびに 4.07 mg/m^2/週での前立腺および精嚢の萎縮がみられた。また，剖検では精嚢（0.41 および 4.07 mg/m^2/週）ならびに精巣上体および前立腺（1.24 mg/m^2/週以上）の小型化または重量減少が認められた。0.41 mg/m^2/週以上では，雄の乳腺組織の萎縮も観察された。休薬後，重度から極めて重度の精細管変性は依然として認められ，同時に二次的変化として精巣上体の精子減少も認められた。精巣の変化は精巣の小型化ならびに精巣（-63%～-71%）および精巣上体（-35%～-49%）の絶対および相対重量の減少と相関した。雄の乳腺の萎縮は回復傾向を示した。

雌の生殖器官の病理組織学的所見として，4.07 mg/m^2/週で卵巣，子宮および腟の萎縮（いずれも軽微）が観察され，これらの所見に関連して子宮の小型化ならびに子宮および卵巣の絶対重量の減少（それぞれ-21%および-21%～-36%）が認められた。卵巣では，二次および三次卵胞が減少し，一次卵胞は変性が認められた。子宮では，子宮筋層および子宮内膜の厚みの減少ならびに腟上皮の層数の減少がみられた。4.07 mg/m^2/週の雌 1 例では乳腺の萎縮がみられた。休薬後，雌 1 例では両側卵巣の黄体内で単細胞壊死（軽度）が増加し，卵巣の絶対および相対重量が 20%～32%減少したが，卵巣に萎縮はみられなかった。

その他の所見として，0.41 mg/m^2/週以上で肺実質に散在する肺胞マクロファージの軽微な増加が認められ，休薬後の雄で肺胞マクロファージがみられたが，軽微な変化であり，毒性学的意義は低いと考えられた。1.24 mg/m^2/週の雄 1 例ならびに 4.07 mg/m^2/週の大部分の雄および雌 1 例で尿細管のタンパク円柱形成が認められ，休薬後にも尿細管のタンパク円柱形成（軽微）が雌雄両方で持続して認められ，腎実質中にランダムに分布していた。G544 投与対照群では臓器重量，剖検または病理組織学的所見に変化はみられなかった。

イノツズマブ　オゾガマイシンおよびG544の曝露量（C_{5min}およびAUC_{168}）は用量の増加とともに増加し，初回と4回目の投与後を比較したところ，蓄積はないかわずかであった。雌雄両方でイノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量を評価した唯一の用量である1.24 mg/m^2/週では，曝露量に性差は認められなかった。非結合カリケアマイシン誘導体の血清中濃度は，4.07 mg/m^2/週の3例で4回目投与の5分後に測定された以外は定量限界（10.5 ng eq/mL）未満であったため，非結合カリケアマイシン誘導体のTKパラメータは算出できなかった。4回目の投与後，2例にADAが検出され，1例はG544群，他の1例は4.07 mg/m^2/週群であった。一方，0.41 mg/m^2/週群および1.24 mg/m^2/週群ではADAは確認されなかった。

雄性生殖器で最低用量の0.41 mg/m^2/週から毒性学的に意義のある変化が認められたことから，本試験ではNOAELを求めることはできず，最小毒性量（LOAEL）は0.41 mg/m^2/週と考えられた。0.41 mg/m^2/週の雄における4回目投与後のイノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量（C_{5min}およびAUC_{168}）は，それぞれ1980 ng/mLおよび50700 ng•h/mLであった。

3.2. ラット26週間静脈内投与毒性試験

RPT-65042

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，デキストラン40，ポリソルベート80，塩化ナトリウムおよびトリス溶液を含む滅菌水）を0（溶媒対照），0.073，0.218または0.727 mg/m^2/週の用量で雌雄SDラット(20匹/性/群)に週1回投与を1サイクルとして26回，急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表, 2.6.7.7B）。用量は，ラット4週間試験（RPT-46910）において1.24 mg/m^2/週で摂餌量減少（-18～-20%，主に投与1週に発現）および体重減少（4回投与後に-8～-13%）などがみられたことから，最高用量を0.727 mg/m^2/週とした。サテライト群（雄9匹/群；対照群は雄5匹/群）を設けて1および25回目投与後のイノツズマブ　オゾガマイシン，G544ならびに非結合および総カリケアマイシンの曝露量を測定した。また，別のサテライト群（雄5匹/群）を設け，試験22，85，176および197日にイノツズマブ　オゾガマイシンに対するADA反応を評価した。評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，臨床病理学的検査（血液学的検査，血液生化学検査および凝固検査；試験88および179日），臓器重量，剖検ならびに病理組織学的検査（対照および0.727 mg/m^2/週群から採取した全組織および他の群から採取した一部の組織）ならびに雄5匹/群から採取した肝臓切片の免疫組織化学染色とした。

2例が死亡したが，いずれの死亡もイノツズマブ　オゾガマイシン投与との関連はなかった。死亡した動物はいずれも対照群で，雄1例は下部尿路疾患とそれに続いて発症した敗血症により死亡し，TK評価用のサテライト対照群の雄1例は後肢異常のため安楽殺した。

一般状態および眼科学的検査では，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した変化は認められなかった。

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として0，1，3または10 µg/kg，G544量として0，0.012，0.036または0.121 mg/kgに相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数6を用いた。

体重は用量依存的に軽微から顕著な減少を示し，投与終了時（最終投与の 6 日後）において，0.073, 0.218 および 0.727 mg/m^2/週の雌雄の体重は, 対照群と比較してそれぞれ 3%～4%, 5%～6%および 18%～24%低値であった。これらの影響は摂餌量の減少と相関しており，0.073 および 0.218 mg/m^2/週の雌雄では軽微（-1%～-5%）であったのに対し，0.727 mg/m^2/週の雌雄では顕著であった（それぞれ-12%および-10%）。体重および摂餌量に対する影響は，その変化の程度から 0.727 mg/m^2/週では毒性学的に意義のある変化と考えられた。

臨床病理パラメータの変化は主に 0.727 mg/m^2/週で認められたが，軽度な変化であり，関連する病理組織学的所見もみられなかったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。試験 88 日（試験 13 週）および試験 179 日（試験 26 週）の両方の採血において，0.727 mg/m^2/週の雌雄に赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）の軽微な減少（-5%～-13%）が認められた。また，一方または両方の採血において，0.727 mg/m^2/週の雌雄に網赤血球数の減少（-14%～-55%）ならびに赤血球分布幅（7%），平均赤血球容積（2%～7%）および平均赤血球ヘモグロビン量（3%～7%）の軽微な増加が認められた。赤血球パラメータおよび網赤血球数の軽微な減少は造血抑制を示唆する変化と考えられた。0.218 mg/m^2/週の雌雄でも，一方または両方の採血において赤血球パラメータの軽微な減少（-3%～-6%），平均赤血球容積の軽微な増加（3%～4%）および平均赤血球ヘモグロビン量の軽微な増加（雄のみ，3%）が認められた。0.073 および 0.218 mg/m^2/週の雄では，フィブリノゲンの軽微な増加（10%～21%），総グロブリンの軽微な増加（11～15%）およびアルブミン/グロブリン比の軽微な減少（-13%）が認められた。一方または両方の採血において 0.727 mg/m^2/週の雌雄にみられた好中球数（20%～78%），単球数（28%～80%）およびフィブリノゲン（12%～61%）の軽微から軽度の増加は炎症を示唆するものであったが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。0.727 mg/m^2/週の雌雄でアルブミンの軽微な減少（-9%～-18%）および総グロブリンの増加（10%～19%）が試験 179 日（試験 26 週）に認められ，これによりアルブミン/グロブリン比が低下し（-15%～-30%），また同時に総タンパクの軽微な減少（-3%～-4%）もみられた。これらの血清タンパクの変化は炎症を示唆する血液学的所見と一致するものであった。アルブミンの減少については，病理組織学的検査で 0.727 mg/m^2/週にみられた進行性腎症も部分的に関与している可能性がある。

主な病理組織学的所見は肝臓および雄性生殖器で観察され，このほか腎臓および肺でも変化が認められた。肝臓では 0.073 mg/m^2/週以上では軽微から中等度の好酸性細胞巣，軽微から中等度のオーバル細胞の過形成および軽微から重度の血管拡張が，0.218 mg/m^2/週以上で軽微から軽度の好塩基性細胞巣，軽微から中等度の肝細胞肥大および核の大型化が，また 0.727 mg/m^2/週で肝細胞腺腫および軽微な類洞拡張（雌のみ）が認められ，0.218 mg/m^2/週の雄 1 例では軽度の胆管線維症が認められた。好塩基性/好酸性細胞巣および肝細胞腫は，剖検で認められた多巣性淡色隆起性の肝臓変色と関連する変化であり，血管拡張は剖検で認められた暗変色化または陥凹化と関連した。肝細胞肥大は剖検でみられた肝腫大およびすべての用量で認められた体重に対する相対肝臓重量の増加（最大 30%）と関連した。肝臓切片の免疫組織化学的検査では，0.218 mg/m^2/週以上で肝細胞核の Ki-67 染色陽性数の増加を指標とした肝細胞増殖活性の増加が認められた。このほか，雄では 0.073 mg/m^2/週以上で軽微から軽度の肝細胞空胞化および髄外造血の増加が，0.218 mg/m^2/週以上で軽微から軽度の線維化が認められた。髄外造血の増加は 0.727 mg/m^2/週の雌でも認められた。線維化はほとんどの場合軽微で多巣性であり，多くは被膜下にみられた。0.073 mg/m^2/週以上にみられた肝臓の病理組織学的変化は，血管拡張が重度に認められたこと，また腺腫，好塩基性/好酸性細胞巣およびオーバル細胞の過形成といった前腫瘍性病変または腫瘍性病変が観察されたことから，毒性学的に意義のある所見と考えられた。0.073 mg/m^2/週以上の雄で軽微から重度の精巣細管変性が用

量依存的に認められた。精巣細管変性は絶対および相対精巣重量の減少（0.073 mg/m^2/週で-28%～-31%，0.218 mg/m^2/週で-35%～-38%，0.727 mg/m^2/週で-58%～-65%）ならびに剖検でみられた精巣の小型化と関連する変化であった。精巣変性の二次的変化と考えられるその他の所見として，0.073 mg/m^2/週以上の雄では軽微から重度の精巣上体の精子減少および軽微から中等度の乳腺萎縮が認められ，0.727 mg/m^2/週の雄では軽微な精嚢粘液減少が認められた。腎臓では，0.218 mg/m^2/週以上の雌雄に慢性進行性腎症の頻度および重症度の増加（軽微～重度）が認められ，剖検で認められた腎皮質の淡明化および顆粒状所見と関連した。当該所見がヒトへの外挿性のないラットに特異的な腎症の悪化であるか，イノツズマブ　オゾガマイシンによる直接的な影響であるかは明らかでない。肺では，0.727 mg/m^2/週の雌で肺胞マクロファージの頻度が増加したが，軽微な変化であり，毒性学的意義は低いと考えられた。

イノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および総カリケアマイシンの曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）は，0.218～0.727 mg/m^2/週の用量間では用量に比例して増加し，試験 25 週の値は試験 1 週の値と同程度またはわずかに小さかった。一方，0.073 mg/m^2/週での試験 25 週におけるこれら 3 つの測定対象物質の濃度はいずれも定量下限値付近または未満であり，ADA の存在が示唆された。サテライト群で ADA を測定した結果，ADA は 0.073 mg/m^2/週でのみ，5 例中 2 例に検出された。TK 評価用のサテライト群（0.073 および 0.218 mg/m^2/週群）でさらに ADA について評価したところ, それぞれ 6 例中 6 例および 2 例中 2 例で ADA が検出された。ADA の存在が本試験の妥当性または解釈に影響を及ぼすことはないと考えられた。

肝臓および精巣で最低用量の 0.073 mg/m^2/週から毒性学的に意義のある変化が認められたことから, 本試験では NOAEL を求めることはできず, LOAEL は 0.073 mg/m^2/週と考えられた。0.073 mg/m^2/週の雄における試験 1 週の曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）はそれぞれ 252 ng/mL および 7630 ng•h/mL（試験 25 週ではいずれも定量限界未満）であった。

3.3. サル 4 週間静脈内投与毒性試験

RPT-46909

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，デキストラン 40，ポリソルベート 80，塩化ナトリウムおよびトリス溶液を含む滅菌水）を 0（生理食塩水を投与した対照群，5 匹/性/群），0（G544 を 4.08 mg/m^2/週の用量で投与した対照群，3 匹/性/群），0.36（3 匹/性/群），1.32（3 匹/性/群）または 4.20 mg/m^2/週（5 匹/性/群）の用量で，週 1 回投与を 1 サイクルとして 4 回（試験 1，8，15 および 22 日），雌雄カニクイザルに急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.7C）。G544 投与対照群には，4.20 mg/m^2/週群に投与した溶液のタンパク濃度とほぼ等しくなるよう，同一の溶媒に G544 を溶解して投与した。用量は，サルを用いた単回投与毒性試験（RPT-46644）において最低用量の 4.11 mg/m^2（カリケアマイシン量として 25 µg/kg 相当）より摂餌量の減少および臨床病理パラメータの変化が認められたことから，同じカリケアマイシン量に相当する 4.20 mg/m^2/週を最高用量とした。生理食塩水投与対照群および 4.20 mg/m^2/週群の一部の動物（2 匹/性/群）について 4 週間の休薬期間をおき，回復性

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0（生理食塩水），0（G544），2.5，8 または 25 µg/kg，G544 量として 0（生理食塩水），0.34（G544），0.03，0.11 または 0.35 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，サルの換算係数 12 を用いた。

を評価した。サイクル 1 およびサイクル 4 の 1，3，5，7 または 14 日目にイノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および非結合カリケアマイシンの曝露量の測定のため，また試験前ならびに試験 15，29，43 および 57 日に ADA 測定のため，採血を行った。一般状態観察，体重測定（週 1 回），摂餌量測定（1 日 1 回），眼科学的検査，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学検査および凝固検査，試験前ならびに試験 2，4 および 8 週；血液学的検査は試験 4，10，17，25，36，43 および 51 日にも実施），尿検査（試験前ならびに試験 4 および 8 週），臓器重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。特記ない限り，以下の数値の変化は投与前値との差の平均値で示す。

死亡は認められなかった。一般状態観察では，主に 4.20 mg/m^2/週で嘔吐，糞便異常（液状便，粘液便または軟便）および糞量減少がみられた。これらの一般症状の発現例数および発現頻度（変化がみられた平均日数）は，いずれの本薬投与群でも対照群より多かった。嘔吐の大部分は試験 4～7 日（初回投与から 3～6 日後）に生じた。糞便異常および糞排泄減少の発現には個体差が大きく，糞便異常の発現例数および発現頻度の増加は，4.20 mg/m^2/週でのみ認められた。糞排泄減少は，摂餌量の減少と相関した変化であった。0.36 mg/m^2/週以上で摂餌量の減少が認められ，4.20 mg/m^2/週で最も大きく減少した。4.20 mg/m^2/週の多くの個体で投与期間全体にわたって摂餌量が減少した（雄 5 例中 2 例および雌 5 例中 4 例で平均 11 日間）。果物および栄養補助剤を補給したため，摂餌量は減少したものの体重減少はみられなかった。4 週間の休薬期間中に，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した嘔吐はみられなかった。休薬期間中にほぼすべての個体で散発的に糞便異常がみられたが，投与開始前から糞便異常の発現頻度が高かった 2 例（対照群の雄 1 例および 4.20 mg/m^2/週の雄 1 例）を除き，糞便異常の発現頻度はおおむね低かった。摂餌量は休薬期間の最初の 2 週間では減少がみられたが，休薬期間終了時では対照群と同程度であった。

臨床病理パラメータの変化におおむね性差はなかった。試験 14 または 28 日に赤血球パラメータの減少が 1.32 mg/m^2/週の雌雄 3 例中それぞれ 1 例（-9%～-16%）および 4.20 mg/m^2/週の全例（-10%～-31%）でみられた。赤血球パラメータの減少は造血障害によるものと考えられ，4.20 mg/m^2/週の少数例では試験 28 日に網赤血球の減少（-33%～-50%）もみられた。試験 14 または 28 日に，リンパ球数の減少が 1.32 mg/m^2/週の雌雄 3 例中 1～2 例（-46%～-68%）および 4.20 mg/m^2/週の全例（-55%～-83%）で認められ，これに関連して白血球数の減少が 4.20 mg/m^2/週の雌雄 5 例中 3～4 例（-47%～-67%）で認められた。血小板数の減少が試験 4 日に 0.36 mg/m^2/週の雌 1 例（-67%）および 1.32 mg/m^2/週以上（-48%～-93%）で認められ，試験 14 日には 4.20 mg/m^2/週の雄 1 例（-40%）でもみられた。1.32 mg/m^2/週以下でみられた血小板数の変化は，試験 10 日までに速やかに回復した。これらの変化のうち，4.20 mg/m^2/週で観察された白血球数，リンパ球数，血小板数および赤血球パラメータの変化は，その程度から毒性学的意義のある変化と考えられた。試験 14 日に 4.20 mg/m^2/週の雌雄および 1.32 mg/m^2/週の雄でフィブリノゲンの増加（15%～79%）がみられた。血液生化学パラメータについては，1.32 mg/m^2/週以上では雄または雌で AST（2.1～4.3 倍），ALT（2.5～3.5 倍）および血清グロブリン（24%～66%）の増加が，4.20 mg/m^2/週の雌雄でアルブミンの減少（-15%～-26%），雌で無機リン（-10%～-40%），血液尿素窒素（-37%～-65%）およびサイロキシン（-35%～-45%）の減少が認められた。これらの血液生化学パラメータの変化は毒性学的意義の低い変化と考えられた。血液学的および血液生化学的パラメータの変化は，4.20 mg/m^2/週での ALT およびグロブリンの増加を除き，回復または回復傾向が認められた。

イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した病理組織学的所見が骨髄，リンパ器官，卵巣，子宮および精巣に認められた。1.32 mg/m^2/週以上の雄で軽微な骨髄細胞の減少がみられた。0.36 mg/m^2/週以上の雌雄で下顎および腸間膜リンパ節，胸腺または脾臓に軽微から極めて重

度のリンパ萎縮がみられ，4.20 mg/m^2/週で発現例数および重症度が最大となった。リンパ萎縮は概して胸腺（軽微から重度）で最も顕著にみられ，雄では 0.36 mg/m^2/週以上，雌では 1.32 mg/m^2/週以上で発現例数が増加し，4.20 mg/m^2/週では雌雄各 3 例中，それぞれ 2 例および 3 例で重度に認められた。1.32 mg/m^2/週以上の雌で軽微から重度の卵巣萎縮がみられ，特徴として発育卵胞が存在しないかまたは減少していた。0.36 mg/m^2/週以上では，卵巣の絶対および相対重量が減少した（対照群と比較して-21%～-50%）。4.20 mg/m^2/週の雌では子宮内膜間質の厚みの減少および子宮内膜腺の減少を特徴とする軽微から軽度の子宮萎縮がみられ，この所見と関連して 0.36 mg/m^2/週以上の雌で子宮重量の減少（対照群と比較して-33%～-53%）が認められた。4.20 mg/m^2/週の雄 2 例の精巣でセルトリ細胞の変化（細胞質の萎縮および空胞化）が認められたものの，1 例を除くすべての雄で精巣が未成熟であったため，イノツズマブ　オゾガマイシンが精子形成に及ぼす影響を評価することはできなかった。軽微な骨髄細胞の減少を除いて，4.20 mg/m^2/週で認められた上記の臓器重量変化および病理組織学的変化は毒性学的意義のある所見と考えられた。G544 投与対照群では，臓器重量，剖検所見または病理組織学的所見に投与に関連する変化は認められなかった。4.20 mg/m^2/週での骨髄細胞の減少およびリンパ萎縮は発現例数または重症度（軽微）が軽減し，回復傾向が示唆された。また，卵巣重量の減少（-22%～-28%），子宮重量の減少（-29%～-36%）および卵巣萎縮（軽微から軽度）は投与期間終了時に比べて軽減しており，子宮萎縮も観察されなかったことから，これらの変化についても回復傾向が示唆された。

イノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）は用量比を上回って増加し，G544 の曝露量はほぼ用量に比例して増加した。イノツズマブ　オゾガマイシンおよび G544 の曝露量に性差は認められなかった。試験 4 週の曝露量（AUC_{168}）の雌雄合算値は，試験 1 週の値より大きかった。イノツズマブ　オゾガマイシンの 1 回目および 4 回目投与後における非結合カリケアマイシン誘導体の血清中濃度は，4.20 mg/m^2/週の 1 例で 4 回目投与から 5 分後に定量された以外，いずれの測定時点においても全用量群の全例で定量限界（70.4 ng/mL）未満であった。そのため，非結合カリケアマイシン誘導体の TK パラメータを算出することはできなかった。いずれの測定時点においても，イノツズマブ　オゾガマイシンまたは G544 の投与後に ADA が検出された個体は存在しなかった。

4.20 mg/m^2/週で嘔吐，摂餌量減少，血液学的パラメータの変化，リンパ系組織の変化および雌性生殖器の変化が認められたことから，NOAEL は 1.32 mg/m^2/週と考えられた。1.32 mg/m^2/週の 4 回目投与後（試験 4 週）における曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）の雌雄合算値は，それぞれ 4580 ng/mL および 119000 ng•h/mL であった。

3.4. サル 26 週間静脈内投与毒性試験

RPT-65773

イノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（溶媒対照），0.072，0.216 または 0.732 mg/m^2/週の用量で，週 1 回投与を 1 サイクルとして 26 回，雌雄カニクイザル（4 匹/性/群）に急速静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.7D）。用量は，サル 4 週間試験（RPT-46909）において

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.5，1.5 または 5 µg/kg，G544 量として 0，0.006，0.018 または 0.061 mg/kg に相当する。体重あた

1.32 mg/m^2/週で摂餌量が減少したものの忍容性は良好であったことから，26 週間投与によってイノツズマブ　オゾガマイシンの影響が検出され，かつ良好な忍容性が予想される用量として，0.732 mg/m^2/週を最高用量とした。1 回目および 25 回目投与後におけるイノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および非結合カリケアマイシンの曝露量の測定のため，また試験前ならびに試験 57，113 および 183 日に ADA 測定のため，採血を行った。評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学検査および凝固検査，試験前ならびに試験 4，13 および 26 週），尿検査（試験前および試験 26 週），臓器重量，剖検および病理組織学的検査とした。

0.732 mg/m^2/週の雄 1 例（試験 37 日）および雌 2 例（試験 87 および 142 日）をイノツズマブ　オゾガマイシン投与による瀕死状態のため安楽殺した。雄 1 例では，摂餌量の減少，四肢および腹部の水分貯留による体重増加，蒼白化，自発運動の低下，総タンパクおよびアルブミンの減少，尿タンパク，タンパク円柱形成を伴う糸球体腎炎ならびに亜急性全身性血管炎がみられ，瀕死状態はタンパク喪失を伴う糸球体腎炎が原因と考えられた。糸球体腎炎および血管炎の病理組織学的特徴から，ADA に関連した免疫複合体の沈着の可能性が考えられる。このサルでは ADA は検出されなかったが，血清中のイノツズマブ　オゾガマイシンにより ADA 検出が妨げられたか，あるいは採血時に ADA 量が少なかったか存在しなかった可能性がある。しかしながら，イノツズマブ　オゾガマイシン投与時に認められた変化であるため，糸球体腎炎が本薬投与に関連した所見である可能性は否定できない。雌 2 例では，摂餌量の減少，削痩，体重減少，蒼白化，全身性の骨格筋減少，赤血球パラメータおよび白血球数の減少がみられたが，瀕死の原因を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。これら雌 2 例の血清中にも ADA は検出されなかった。

生存例における一般状態変化として，0.732 mg/m^2/週の雄に浮腫（眼窩，鼻口周囲）が試験 22 週から投与期間終了時まで観察されたが，動物の健康状態に影響はなく，病理組織学的検査でも関連する変化はみられなかったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。体重または摂餌量にはイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した影響は認められず，眼科学的検査でも影響はみられなかった。

血液学的検査では，0.216 mg/m^2/週以上で赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少（-8%～-22% ; 雌は 0.216 mg/m^2/週，雄は 0.732 mg/m^2/週），血小板数の減少（雌雄，-11%～-44%）および単球数の増加（1.5～3.1 倍，雌雄）が，0.732 mg/m^2/週では平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビンの増加（8%）ならびに赤血球分布幅の増加（5%～17%）（雄または雌），および白血球数の減少（-36%～-43%，雌雄；主にリンパ球の絶対数の減少による）が認められた。血液生化学的パラメータへの影響として，0.216 mg/m^2/週以上でグロブリンの増加（9%～39%）およびアルブミン/グロブリン比の低下（-15%～-31% ; 雄は 0.732 mg/m^2/週のみ）ならびに AST の増加（1.6～4 倍，雌雄）が，0.732 mg/m^2/週でアルブミンの減少（-11%～-21%，雄）および ALT の増加（2.1～2.8 倍，雄）が認められた。0.216 mg/m^2/週以上で認められた影響はおおむね用量依存的であった。

臓器重量および剖検では，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した変化は認められなかった。本薬投与に関連した病理組織学的所見が肝臓，脾臓，胸腺，リンパ節および卵巣に

りの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，サルの換算係数 12 を用いた。

認められた。0.072 mg/m^2/週以上の雌雄に肝細胞萎縮を伴う軽微から中等度の類洞拡張が認められた。0.216 mg/m^2/週以上の雌雄に軽微な肝細胞肥大が観察され，0.732 mg/m^2/週の雌 1 例で変異肝細胞巣が観察された。この変異肝細胞巣は，サルで以前に実施したイノツズマブ　オゾガマイシンの試験では認められておらず，前腫瘍性病変の可能性が考えられた。なお，変異肝細胞巣はげっ歯類では前腫瘍性病変として知られているが，カニクイザルの自然発生病変としては一般的ではなく[a]，サルにおける発症機序や腫瘍発生との関連性は明らかではない。0.072 mg/m^2/週以上では肝細胞核の Ki-67 染色陽性を指標とした肝細胞増殖活性の増加が示された。肝重量には変化がみられなかったことから，この増殖活性の増加は肝細胞のターンオーバーの増加によるもので，肝臓における細胞毒性を示唆するものと考えられた。胸腺では，0.732 mg/m^2/週の雄で細胞減少の発現例数および重症度が増加した。0.732 mg/m^2/週の雄では，脾臓の胚中心/辺縁帯および腸間膜リンパ節の胚中心に，軽微から中等度の細胞減少が観察された。0.732 mg/m^2/週の雌の 2 例の生存例では，いずれにおいても安楽殺した雌と同様に卵巣の軽微な萎縮が観察された。

イノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および総カリケアマイシンの曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）は用量比を上回って増加し，性差は認められなかった。すべての雌雄とも，25 週間のイノツズマブ　オゾガマイシン投与後にイノツズマブ　オゾガマイシン，G544 および総カリケアマイシンの蓄積が認められた。非結合カリケアマイシンの血清中濃度は，2 例（0.072 mg/m^2/週の 1 例および 0.732 mg/m^2/週の 1 例）を除き，いずれの動物のいずれの採血時点においても定量限界未満であった。ADA は検出されなかったが，0.216 mg/m^2/週以上の個体では最後の採血時点にもイノツズマブ　オゾガマイシンが検出されており，この血清中イノツズマブ　オゾガマイシンが ADA 反応の検出を妨げた可能性がある。

肝臓で最低用量の 0.072 mg/m^2/週から毒性学的に意義のある変化が認められたことから，本試験では NOAEL を求めることはできず，LOAEL は 0.072 mg/m^2/週と考えられた。0.072 mg/m^2/週では，試験 25 週におけるイノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量（C_{5min} および AUC_{168}）の雌雄合算値は，それぞれ 184 ng/mL および 3830 ng•h/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

In vitro および in vivo 試験でイノツズマブ　オゾガマイシンの遺伝毒性を評価した。また，非結合カリケアマイシン誘導体である N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH についても in vitro 試験を実施した。In vitro 試験における代謝活性化系としては Aroclor 1254 誘導雄ラットの肝 S9 画分を添加した。

4.1. イノツズマブ　オゾガマイシン

4.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

RPT-48308

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 および TA1537 株）および大腸菌（WP2 *uvr*A pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験を実施した（毒性試験の概要表，2.6.7.8A）。プレート法を用いた予備試験およびプレインキュベーション法を用いた確認試験では，カリケアマイシン量

[a] Reindel JF, Walsh KM, Toy KA, et al. Spontaneously occurring hepatocellular neoplasia in adolescent cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Vet Pathol. 2000;37:656-62.

として 0.073，0.22，0.73，2.2 および 7.3 µg/プレートの濃度で各濃度につき 3 プレートを使用し，代謝活性化系の存在下および非存在下でイノツズマブ　オゾガマイシンの変異原性を評価した。7.3 µg/プレートは，本試験として用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの製剤として評価可能な最高濃度であった。プレートあたりの復帰突然変異体の平均コロニー数が濃度依存的に増加し，対照の平均コロニー数の 2 倍（TA98，TA100 および WP2*uvr*A pKM101 株）または 3 倍（TA1535 および TA1537 株）を上回った場合に，変異原性陽性とみなした。溶媒対照には滅菌水を用い，陽性対照としては代謝活性化系非存在下では 2-ニトロフルオレン（TA98 株），アジ化ナトリウム（TA100 および TA1535 株），9-アミノアクリジン（TA1537 株）およびメチルメタンスルホン酸（WP2*uvr*A pKM101 株）を，代謝活性化系存在下では 2-アミノアントラセンを使用した。予備試験および確認試験の各々で薬物の濃度を分析し，最高濃度の試験溶液が目標濃度（73 µg/mL）であることを確認した。

予備試験および確認試験のいずれにおいても，溶媒対照における自然復帰突然変異の頻度は背景データの範囲内で，薬物の沈殿や顕著な細胞毒性の徴候はみられなかった。予備試験では，陽性対照によって誘発された復帰突然変異の頻度は，溶媒対照の 4～125 倍であった。予備試験および確認試験の両者とも，評価可能な最高濃度である（カリケアマイシン量として）7.3 µg/プレートまでのイノツズマブ　オゾガマイシンでプレートを処理しても，変異原性反応は陰性であった（復帰突然変異の頻度は溶媒対照の 1.5 倍以下）。溶媒対照および陽性対照のデータから，本試験系の適切性が確認された。

代謝活性化系の存在下または非存在下で，イノツズマブ　オゾガマイシンは評価可能な最高濃度まで，ネズミチフス菌または大腸菌のいずれに対しても変異原性を示さなかった。

4.1.2. In vivo 小核試験

RPT-47573

雄 CD-1 マウス（4 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンを 0（溶媒），1.14，2.31，5.04，9.24 または 18.5 mg/m^2 の用量で単回静脈内投与した[a]（毒性試験の概要表，2.6.7.9）。投与の約 47 時間後に骨髄を採取し，処理した後に多染性赤血球（PCE）および小核を有する PCE（MNPCE）の割合を顕微鏡下で評価した。

用量設定試験のイノツズマブ　オゾガマイシン投与群で細胞毒性および MNPCE が観察されたため，本試験は実施しなかった。

イノツズマブ　オゾガマイシンは 5.04 mg/m^2 以下の用量では骨髄において細胞毒性を示さなかった。一方，9.24 mg/m^2 以上では総赤血球中の PCE の割合が減少したことから，細胞毒性が示唆された。MNPCE の出現頻度（%）は 1.14 mg/m^2 以上で溶媒対照群と比較して用量依存的に増加し，小核誘発作用が示された。

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，28，56，122.5，225 または 450 µg/kg，G544 量として 0，0.38，0.77，1.68，3.08 または 6.16 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，マウスの換算係数 3 を用いた。

以上の結果より，イノツズマブ　オゾガマイシンは最低用量である 1.14 mg/m^2 以上で雄マウスにおいて小核を誘発した。この試験では無影響量は求められなかった。

4.2. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH

4.2.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

[redacted]GR143

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 および TA1537 株）および大腸菌（WP2 *uvr*A pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験を実施した（毒性試験の概要表，2.6.7.8B）。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は 0.0121，0.0241，0.0482，0.0964，0.193，0.386，0.771，1.54，3.09，6.17，12.3，24.7，49.4，98.8，198 および 395 µg/プレートの濃度で各濃度につき 3 プレートを使用し，代謝活性化系の存在下および非存在下でプレート法により変異原性を評価した。プレートあたりの復帰突然変異体の平均コロニー数が濃度依存的に増加し，対照の平均コロニー数の 2 倍（TA98，TA100 および WP2*uvr*A pKM101 株）または 3 倍（TA1535 および TA1537 株）を上回った場合に，変異原性反応陽性とみなした。溶媒対照には DMSO（100 µL/プレート）を用い，陽性対照としては，代謝活性化系非存在下では 2-ニトロフルオレン（TA98 株），アジ化ナトリウム（TA100 および TA1535 株），ICR-191 アクリジン（TA1537 株）および 4-ニトロキノリン-N-オキシド（WP2 *uvr*A pKM101 株）を，代謝活性化系存在下では 2-アミノアントラセンを使用した。

6.17 µg/プレート以上の TA100 および TA1535 株（代謝活性化系非存在下），12.3 µg/プレート以上の TA98 株（代謝活性化系非存在下）ならびに TA100 および TA1535 株（代謝活性化系存在下），24.7 µg/プレート以上の TA1537 株（代謝活性化系非存在下），49.4 µg/プレート以上の TA98 および TA1537 株（代謝活性化系存在下）ならびに 395 µg/プレートの WP2 *uvr*A pKM101 株（代謝活性化系存在下および非存在下）で復帰突然変異体のコロニー数の減少または背景の細菌の生育阻害がみられ，細胞毒性が認められた。また，3.09 µg/プレートの TA100 および TA1535 株（代謝活性化系非存在下），6.17 µg/プレートの TA100 および TA1535 株（代謝活性化系存在下），12.3 µg/プレートの TA1537 株（代謝活性化系非存在下），24.7 µg/プレートの TA98 および TA1537 株（代謝活性化系存在下）ならびに 198 µg/プレートの WP2 *uvr*A pKM101 株（代謝活性化系存在下および非存在下）では背景の細菌の生育が軽微に阻害された。WP2 *uvr*A pKM101 株の復帰突然変異体のコロニー数が代謝活性化系非存在下で 3.09 µg/プレート以上で，存在下では 12.3 µg/プレート以上で増加し，変異原性陽性と判定された。その他の菌株では，代謝活性化系存在下または非存在下で陰性であった。溶媒対照および陽性対照のデータから，本試験系の適切性が確認された。

以上の結果から，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は大腸菌 WP2 *uvr*A pKM101 株において代謝活性化系存在下または非存在下で変異原性陽性であり，ネズミチフス菌 TA98，TA100，TA1535 および TA1537 株においては代謝活性化系存在下または非存在下で変異原性陰性であった。

4.2.2. In vitro 小核試験

[redacted]GR142

TK6 ヒトリンパ芽球細胞を N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH と短時間（4 時間）または長時間（27 時間），代謝活性化系存在下または非存在下でインキュベートして小核誘発能を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.8C）。溶媒対照は DMSO（最終濃度 1% v/v），陽性対照としてはマイトマイシン C（4 時間処理，代謝活性化系非存在下），ビンブラスチン（27 時間処理，

代謝活性化系非存在下）およびシクロホスファミド（4 時間処理，代謝活性化系存在下）を使用した。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 濃度は当初 0.00223～0.395 ng/mL としたが，細胞毒性が認められなかったため，0.00235～39.5 ng/mL の濃度範囲で再試験を実施した。小核の評価に用いた N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 濃度は 4 時間処理（代謝活性化系非存在下）では 0.0556（細胞毒性 7%；以下同じ），0.0989（19%）および 0.198 ng/mL（37%），27 時間処理（代謝活性化系非存在下）では 0.00418（0%），0.0417（21%）および 0.0989 ng/mL（49%），4 時間処理（代謝活性化系存在下）では 0.0989（4%），0.395（24%）および 0.618 ng/mL（36%）であった。これらの薬物濃度ならびに溶媒および陽性対照について，各濃度あたり 2000 個の細胞を観察して小核を有する細胞を計数した。4 時間処理（代謝活性化系非存在下）では 0.198 ng/mL で，27 時間処理（代謝活性化系非存在下）では 0.0417 および 0.0989 ng/mL で，4 時間処理（代謝活性化系存在下）では 0.395 および 0.618 ng/mL で小核を有する細胞の割合が統計的に有意に増加した。溶媒対照および陽性対照のデータから，本試験系の適切性が確認された。

以上の結果から，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は TK6 細胞において，代謝活性化系存在下および非存在下で小核を誘発することが示された。

5. がん原性試験

イノツズマブ　オゾガマイシンは適応症が進行がん（急性リンパ性白血病）であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，がん原性試験は実施していない。しかしながら，ラットを用いた単回，4 週間および 26 週間毒性試験ならびにサルを用いた 26 週間毒性試験において，肝臓に前腫瘍性病変または腫瘍性病変が認められている（2.6.6.2.2，2.6.6.3.1，2.6.6.3.2，2.6.6.3.4 項）。

6. 生殖発生毒性試験

6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

6.1.1. 重要な試験以外の試験

RPT-68341

雌 SD ラット（10 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.011，0.036 または 0.109 mg/m^2/日の用量で[a]，無処置雄ラットとの交配開始の 2 週間前から交配期間を通じて妊娠 7 日まで，1 日 1 回静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.11）。用量はラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験（RPT-67396）において 0.109 mg/m^2/日以上で胎児死亡が認められたこと，および反復投与毒性試験（RPT-46910, RPT-65042）における忍容性に基づいて選択した。妊娠 12 日にすべてのラットで帝王切開を行った。母動物の死亡，一般状態，体重および体重変化，摂餌量，性周期，交尾行動および受胎能，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重

[a] この用量設定試験および次項の本試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.15，0.5 または 1.5 µg/kg，G544 量として 0，0.0018，0.0061 または 0.018 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 6 を用いた。

量，胎児数ならびに死亡胚数を評価した。以下の数値の変化は，対照群の平均値との差で示す（以後同じ）。

交配前期間（試験 1～14 日）に，0.109 mg/m^2/日で体重減少（対照群が 11 g の体重増加を示したのに対し 1 g の体重減少）が認められ，交配前最終日には 5%減少した。同用量では妊娠 0～7 日には体重増加量が減少（-27%）した。摂餌量は妊娠 0～7 日に 0.036 および 0.109 mg/m^2/日で減少（それぞれ-7%および-15%）し，妊娠 8～11 日にも減少（それぞれ-4%および-7%）がみられた。黄体数は 0.109 mg/m^2/日で軽微に減少（-12%）し，その結果として着床数および生存胚数が減少（それぞれ-12%および-15%）するとともに，着床数減少により妊娠子宮重量も減少（-42%）した。性周期，交尾行動，受胎能への影響はいずれの用量でもみられなかった。

6.1.2. 重要な試験

RPT-69733

雌 SD ラット（25 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.011，0.036 または 0.109 mg/m^2/日の用量で，無処置雄ラットとの交配開始の 2 週間前から交配期間を通じて妊娠 7 日まで，交尾しなかった雌では安楽殺の前日まで，1 日 1 回静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.12）。用量は前項の用量設定試験（RPT-68341）の結果から，母動物に対する毒性がある程度予測される用量として 0.109 mg/m^2/日を最高用量とした。非交配のサテライト群（対照群は 3 匹/群，イノツズマブ　オゾガマイシン群では 6 匹/群）を設けて，投与 14 日にイノツズマブ　オゾガマイシンおよび総カリケアマイシンの血清中濃度を測定し，さらに ADA の産生（投与前ならびに投与 14 および 42 日）を評価した。妊娠 12 日にすべてのラットで帝王切開を行った。評価項目は母動物の死亡，一般状態，体重および体重変化，摂餌量，性周期，交尾行動および受胎能，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重量，胎児数ならびに死亡胚数とした。0.109 mg/m^2/日で体重，体重増加量および摂餌量の減少が認められた。体重増加量は交配前には 86%，妊娠 0～7 日には 26%減少したが，投与終了後の妊娠 8～11 日には軽微に増加（24%）した。妊娠 12 日の最終体重および妊娠子宮重量により補正した体重増加量（妊娠 0～11 日）は，それぞれ 4%および 6%減少した。摂餌量は妊娠 0～7 日に軽微に減少（-9%）した。胚吸収率は 0.109 mg/m^2/日で増加し（対照群が 3%であったのに対して 8%），それに伴って生存胚数と妊娠子宮重量の軽微な減少がみられた（それぞれ-5%および-17%）。黄体数は 0.109 mg/m^2/日で軽微に減少（-5%）したが，着床数および着床前死亡胚数への影響は認められなかった。一般状態，母動物の剖検，性周期，交尾行動および受胎能への影響は，いずれの用量でもみられなかった。

非妊娠雌ラットにおけるイノツズマブ　オゾガマイシンおよび総カリケアマイシンの曝露量は，用量比を上回って増加した。投与 42 日の ADA 陽性率は，0，0.011，0.036 および 0.109 mg/m^2/日でそれぞれ 0%（3 例中 0 例），33%（6 例中 2 例），40%（5 例中 2 例）および 83%（6 例中 5 例）であった。投与 14 日には ADA は検出されなかったが，この時の試料中にはイノツズマブ　オゾガマイシンが確認されており，これが ADA の検出を妨げた可能性が考えられる。

0.109 mg/m^2/日で母動物の体重増加量および摂餌量が減少し，胚吸収率の増加および生存胚数の減少が認められたことから，母動物の一般毒性ならびに受胎能および初期胚発生に関する NOAEL はいずれも 0.036 mg/m^2/日と考えられた。0.036 mg/m^2/日の投与 14 日における曝露量（C_{5min} および AUC_{24}）はそれぞれ 126 ng/mL および 1720 ng•h/mL であった。

6.2. 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1. 重要な試験以外の試験

6.2.1.1. ラット

RPT-67396

妊娠 SD ラット（10 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.036，0.109 または 0.364 mg/m^2/日の用量で[a]，妊娠 6～17 日に 1 日 1 回 12 日間静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.11）。用量は，週 1 回投与で実施したラット 4 週間投与毒性試験（RPT-46910）において NOAEL が 0.41 mg/m^2/週（カリケアマイシン量として 5 µg/kg/週）であり，この用量を連日投与した際に母動物に毒性が発現することが予測されたことから，カリケアマイシン量として等用量にあたる 0.364 mg/m^2/日を最高用量とした。妊娠 21 日にすべてのラットで帝王切開を行った。評価項目は母動物の死亡，一般状態，体重および体重変化，摂餌量，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重量，胎児数，死亡胚/胎児数，胎児の性別および胎児体重，胎児の外表ならびに胎盤の外観とした。以下の数値の変化は，対照群の平均値との差で示す。

母動物の体重増加量は 0.109 および 0.364 mg/m^2/日で妊娠 6～17 日に減少（それぞれ-18%および-91%）し，0.364 mg/m^2/日では投与終了後（妊娠 18～20 日）も減少（-137%）が持続した。妊娠子宮重量で補正した母動物の体重増加量(妊娠 6～20 日)および妊娠 21 日の最終体重は，0.364 mg/m^2/日でいずれも減少（-118%および-30%）した。体重増加量の減少と関連して，摂餌量は 0.364 mg/m^2/日で減少（妊娠 6～17 日では-25%，妊娠 18～20 日では-47%）した。妊娠子宮重量は 0.109 および 0.364 mg/m^2/日で減少（それぞれ-22%および-98%）したが，これは 0.109 mg/m^2/日で一部の胎児（10 腹中 5 腹）が，また 0.364 mg/m^2/日では全胎児が死亡（早期の胚吸収）したことによるものと考えられた。胎児体重は 0.109 mg/m^2/日で約 25%減少した。母動物の一般状態および剖検，また胎児の性比，外表および口蓋形態ならびに胎盤の外観にイノツズマブ　オゾガマイシン投与の影響は認められなかった。

6.2.1.2. ウサギ

RPT-70227

妊娠 New Zealand White（NZW）ウサギ（8 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.015，0.044，0.145 または 0.436 mg/m^2/日の用量で[b]，妊娠 6～19 日に 1 日 1 回 14 日間静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.11）。ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試

---

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.5，1.5 または 5 µg/kg，G544 量として 0，0.0061，0.018 または 0.061 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 6 を用いた。

[b] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.1，0.3，1 または 3 µg/kg，G544 量として 0，0.015，0.044，0.145 または 0.436 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ウサギの換算係数 12 を用いた。

験（RPT-67396）において 0.109 および 0.364 mg/m^2/日（カリケアマイシン量としてそれぞれ 1.5 および 5 µg/kg/日に相当）で母動物および胚・胎児に毒性が認められたことから，ウサギにおいても母動物への影響が予測される用量として，カリケアマイシン量として 3 µg/kg/日に相当する 0.436 mg/m^2/日を最高用量とした。評価項目は母動物の死亡，一般状態，体重および体重変化，摂餌量，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重量，胎児数，死亡胚/胎児数，胎児体重，胎児の外表ならびに胎盤の外観とした。

0.436 mg/m^2/日群の 1 例が妊娠 15 日に死亡し，一般状態変化として赤色物を含む液状便と糞便による被毛の汚染が認められた。剖検の結果，腟および結腸の外壁の赤色変化，結腸内の液状便および脾臓表面の不規則化が認められた。死因は特定できなかったが，イノツズマブ　オゾガマイシン投与との因果関係は否定できないと考えられた。また，0.044 mg/m^2/日群の 1 例は妊娠 24 日に外傷が認められ，両後肢を庇う動作がみられたため，同日安楽殺した。当該動物の死亡は偶発的な事故によるもので，イノツズマブ　オゾガマイシン投与との関連はないと考えられた。生存例では，0.145 および 0.436 mg/m^2/日で糞量減少の発現頻度増加がみられ，この所見がみられた個体で摂餌量が著しく減少した。0.436 mg/m^2/日で糞量減少を示した 4 例中 3 例では，剖検日の糞に赤色物が確認された。母動物の体重増加量は投与期間中の妊娠 6～19 日に 0.044 mg/m^2/日以上で 13%～39%減少した。0.436 mg/m^2/日では投与終了後の妊娠 20～28 日でも体重増加量の減少（-59%）が持続し，その結果，同用量では母動物の最終体重の減少（-4%）がみられた。摂餌量は 0.436 mg/m^2/日で妊娠 6～19 日に 23%減少し，投与終了後の妊娠 20～28 日にも摂餌量の減少（-13%）は持続した。後期胚吸収数（1 腹あたり）は 0.436 mg/m^2/日で増加（対照群の 0.57 に比べて 2.29）し，その結果着床後死亡率が対照群の 11.6%に対して 23.6%に増加して生存胎児数が 10%減少した。0.436 mg/m^2/日では胎児体重の減少（-21%）も認められた。0.436 mg/m^2/日では，生存胎児数および平均胎児体重の減少に関連して，妊娠子宮重量の減少（-11%）も認められた。唯一顕著であった胎児の肉眼的所見として，胎児体重の減少がみられた 0.436 mg/m^2/日の 1 例で胎盤変色の発現頻度の増加が認められた。0.015 mg/m^2/日ではイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した影響はみられなかった。

6.2.2. 重要な試験

6.2.2.1. ラット

RPT-68342

妊娠 SD ラット（25 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.011，0.036 または 0.109 mg/m^2/日の用量で[a]，妊娠 6～17 日に 1 日 1 回静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.13A）。用量は，ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験（RPT-67396）において 0.109 mg/m^2/日で一部の胎児に死亡が認められたことから，これを最高用量とした。妊娠 21 日に全生存例で帝王切開を行った。サテライト群（9 匹/群）を設け，妊娠 15 日にイノツズマブ　オゾガマイシンおよび非結合カリケアマイシンの血清中濃度を測定した。母動物の死亡，

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.15，0.5 または 1.5 µg/kg，G544 量として 0，0.0018，0.0061 または 0.018 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ラットの換算係数 6 を用いた。

一般状態，体重および体重変化，摂餌量，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重量，胎児数，死亡胚/胎児数，胎児の性別，胎児体重，胎児の外表，内臓および骨格ならびに胎盤の外観を評価した。

イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した一般状態変化および剖検所見は認められなかった。0.109 mg/m^2/日では妊娠 6～17 日に母動物の体重増加量の減少（-26%）および摂餌量の減少（-11%）が認められ，最終体重（妊娠 21 日）も 5%減少した。同用量では，妊娠子宮重量により補正した母動物の体重増加量（妊娠 6～20 日）が 21%減少した。胎児体重は 0.109 mg/m^2/日で 22%減少し，その結果，妊娠子宮重量も 19%減少した。0.036 mg/m^2/日でも胎児体重は軽微（-5%～-6%）に減少した。胎児体重減少に関連して，これらの用量の胎児で骨化遅延の発現頻度が上昇した（対照の 33%に対し，0.036 mg/m^2/日で 41%，0.109 mg/m^2/日で 70%）。0.109 mg/m^2/日で骨化遅延がみられた部位は，肋骨，頭蓋骨，胸骨分節および椎骨であった。さらに 0.109 mg/m^2/日の胎児では，上腕骨短小/肥厚，肩甲骨奇形，尺骨奇形の発現頻度も増加したが，これらの所見は可逆的と考えられ，この用量で認められた母動物への毒性，胎児成長遅延および骨化遅延の結果として生じたものと考えられた[a]。胎児の性比，外表および内臓ならびに胎盤の外観にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した影響はみられなかった。

イノツズマブ　オゾガマイシンの曝露量（AUC_{24}）は用量比を上回って増加した。非結合カリケアマイシンの血清中濃度は，全ての検体で定量限界（10.5 ng/mL）未満であった。

0.109 mg/m^2/日で母動物に体重，体重増加量および摂餌量の減少が認められたことから，母動物の一般毒性に関する NOAEL は 0.036 mg/m^2/日と考えられた。0.036 mg/m^2/日以上で胎児体重の減少および骨化遅延が認められたことから，胚･胎児発生に関する NOAEL は 0.011 mg/m^2/日と考えられた。0.011 および 0.036 mg/m^2/日での妊娠 15 日の C_{5min} はそれぞれ 28.6 および 145 ng/mL，AUC_{24} はそれぞれ 364 および 1680 ng•h/mL であった。

6.2.2.2. ウサギ

RPT-72134

交配した NZW ウサギ（20 匹/群）にイノツズマブ　オゾガマイシンまたは溶媒（ショ糖，ポリソルベート 80，トリス溶液および塩化ナトリウムを含む滅菌水）を 0（対照），0.015，0.044 または 0.145 mg/m^2/日の用量で[b]，妊娠 6～19 日に 1 日 1 回静脈内投与した（毒性試験の概要表，2.6.7.13B）。用量は，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験（RPT-70227）において 0.436 mg/m^2/日で死亡が認められ，　0.145 mg/m^2/日では体重増加量の減少（妊娠 6～19 日に -13%）がみられたことから，母動物に軽微な毒性が発現することが予測される用量として，0.145 mg/m^2/日を最高用量とした。妊娠 15 日（4 匹/群）および妊娠 29 日（全例）にイノツズ

[a] Kimmel CA, Garry MR, DeSesso JM. Relationship between bent long bones, bent scapulae, and wavy ribs: Malformations or variations? Birth Defects Research (Part B) 2014;101:379-92.

[b] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 0，0.1，0.3，または 1 µg/kg，G544 量として 0，0.0012，0.0036 または 0.012 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，ウサギの換算係数 12 を用いた。

マブ　オゾガマイシンおよび総カリケアマイシンの血清中濃度を測定し，妊娠 5 および 29 日（全例）ならびに妊娠 15 日（4 匹/群）の投与前に ADA を測定した。妊娠 29 日に全生存例で帝王切開を行った。評価項目は母動物の死亡，一般状態，体重および体重増加量，摂餌量，流産率，母動物の剖検，黄体数，妊娠子宮重量，胎児数，死亡胚/胎児数，胎児の性別および胎児体重，胎児の外表，内臓および骨格ならびに胎盤の外観とした。母動物の体重増加量および摂餌量は 0.145 mg/m^2/日群で軽微に減少した。体重増加量の減少（-46%）は一過性で，妊娠中期（妊娠 12～15 日）に生じたが，投与終了時の体重には影響はみられなかった。摂餌量の減少が妊娠 12～15 日（-16%）および妊娠 16～19 日（-11%）に認められ，投与終了後の妊娠 20～28 日（-9%）にも継続して認められた。これらの体重増加量および摂餌量の減少は，毒性学的意義の低い変化と考えられた。妊娠子宮重量，胎児の性比，体重または形態および胎盤の外観にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した影響は認められなかった。

妊娠 15 日のイノツズマブ　オゾガマイシンおよび総カリケアマイシンの曝露量は，ほぼ用量に比例して増加した。ADA 陽性の動物数は，対照で 18 例中 0 例，0.015 mg/m^2/日で 20 例中 10 例，0.044 mg/m^2/日で 19 例中 5 例，0.145 mg/m^2/日で 19 例中 9 例であり，大部分は妊娠 29 日に検出された。妊娠 15 日には ADA 陽性を示した個体はいなかったが，イノツズマブ　オゾガマイシンが ADA の検出を妨げた可能性も考えられる。そのため，妊娠 6～19 日にイノツズマブ　オゾガマイシンおよび総カリケアマイシンの曝露量に ADA が及ぼした影響は明らかでない。

最高用量の 0.145 mg/m^2/日でも母動物において毒性学的意義のある変化が認められなかったことから，母動物の一般毒性に関する NOAEL は 0.145 mg/m^2/日と考えられた。また，この用量では胚・胎児発生毒性がみられなかったことから，胚・胎児発生に関する NOAEL も 0.145 mg/m^2/日と考えられた。0.145 mg/m^2/日での妊娠 15 日の C_{5min} および AUC_{24} は，それぞれ 977 ng/mL および 13300 ng•h/mL であった。

6.3. 出生前および出生後の発生に関する試験

イノツズマブ　オゾガマイシンは適応症が進行がん（急性リンパ性白血病）であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，出生前および出生後の発生に関する試験は実施していない。

7. 局所刺激性試験

イノツズマブ　オゾガマイシンの局所刺激性試験は実施していないが，ラット単回静脈内投与毒性試験ならびにラットおよびサルを用いた 4 および 26 週間静脈内投与毒性試験における投与部位の剖検および病理組織学的検査から局所刺激性を評価した。その結果，投与部位にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した変化は認められなかった。

8. その他の毒性試験

8.1. イノツズマブ　オゾガマイシン

8.1.1. In vitro 血液適合性試験

RPT-46353（参考資料）

SD ラット，カニクイザルおよびヒトの全血およびクエン酸処理血漿試料を用いて，イノツズマブ　オゾガマイシンの静脈内投与用製剤の溶血能およびタンパク凝集能を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。イノツズマブ　オゾガマイシンの最高濃度は，ラットおよびサルの単回投与毒性試験で用いた製剤の最高濃度である 66.7 µg/mL（カリケアマイシン量として）とし，さらにイノツズマブ　オゾガマイシンおよび溶媒（2.78%ショ糖，1.67%デキストラン

40，0.018%ポリソルベート 80，0.54%塩化ナトリウムおよび 0.449%トリス溶液，pH 8.0）を生理食塩液（0.85%）で 1～20 倍に希釈（イノツズマブ　オゾガマイシン濃度はカリケアマイシン量として約 3.2～33.4 µg/mL）して検討した。ラット，サルおよびヒトの試料において，イノツズマブ　オゾガマイシン溶液および溶媒による溶血は認められなかった。また，反応液の上清をスペクトルスキャン解析した結果，メトヘモグロビンの形成は認められなかった。さらに，検討したすべての動物種の血漿でイノツズマブ　オゾガマイシン溶解液および溶媒による沈殿はみられず，血漿タンパク濃度にも影響は認められなかった。したがって，イノツズマブ　オゾガマイシンの静脈内投与用製剤をラット，サルおよびヒトに静脈内投与しても，溶血は生じないと考えられた。

8.1.2. オプレルベキンとの併用投与試験

RPT-63930（参考資料）

オプレルベキン［組換え型ヒトインターロイキン-11（rhuIL-11），Neumega®］は，化学療法に伴う血小板減少症の予防薬として海外で使用されている。本試験では，雌サルにおけるイノツズマブ　オゾガマイシン投与による血小板減少に対するオプレルベキンの作用を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。イノツズマブ　オゾガマイシンを 3.6 mg/m^2（カリケアマイシン量として 25 µg/kg[a]）の用量で 2 群の雌カニクイザル（4 匹/群）に単回急速静脈内投与した。2 群のうち 1 群はイノツズマブ　オゾガマイシンの単独投与とし，もう 1 群にはイノツズマブ　オゾガマイシン投与の約 6 時間後よりオプレルベキンを 125 µg/kg/日の用量で 5 日間連日皮下投与した。イノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，サル 4 週間毒性試験（RPT-46909）において最高用量である 4.20 mg/m^2/週（カリケアマイシン量として 25 µg/kg）での忍容性が良好であり，また当該用量で血小板数の減少が認められたことから設定した。評価項目は一般状態，体重，血液学的検査（試験前ならびに試験 1～8，10，12 および 14 日），凝固検査および血液生化学検査（試験前ならびに試験 7 および 14 日）とした。以下の数値の変化は投与前値との差の平均値で示す。

イノツズマブ　オゾガマイシン単独投与およびオプレルベキン併用投与のいずれの群においても，一般状態および体重に変化は認められなかった。血小板数の減少がオプレルベキン投与の有無にかかわらず同時期かつ同程度にみられた。血小板数の減少は試験 2 日までには観察され（イノツズマブ　オゾガマイシン単独投与群：-41%～-58%，オプレルベキン併用投与群：-16%～-64%），試験 3 日または 4 日に減少幅は最大となった（それぞれ-68%～-87%および-74%～-84%）。これらの減少は試験 7 日または 8 日までにオプレルベキン併用投与群の全例で回復したが，イノツズマブ　オゾガマイシン単独投与群では 4 例中 1 例で回復したのみで，残りの 3 例では試験 10 日または 12 日まで回復しなかった。この結果から，オプレルベキン併用投与群ではイノツズマブ　オゾガマイシン単独投与群に比べて血小板数減少がやや早く回復することが示された。

---

[a] この試験で用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの用量は，カリケアマイシン量として 25 µg/kg，G544 量として 0.30 mg/kg に相当する。体重あたりの用量（mg/kg）から体表面積あたりの用量（mg/m^2）への換算には，サルの換算係数 12 を用いた。

この他，イノツズマブ　オゾガマイシン単独投与群では試験 14 日に全例で，試験 7 日には一部の個体で AST の軽微な増加（39%～2.2 倍）がみられ，これに関連して試験 14 日に 4 例中 2 例で ALT の増加（85%～3 倍）がみられた。オプレルベキン併用投与群では 4 例中 2 例に AST の増加（43%および 79%）がみられたが，これに関連する ALT の増加（66%）は 1 例のみにみられた。AST および ALT の増加は，サルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの単回および反復投与毒性試験（RPT-46644, RPT-46909, RPT-65773）でも認められた変化である。オプレルベキン併用投与群では試験 7 日に一過性で中等度のフィブリノゲンの増加（3 倍～4.3 倍）およびアルブミンの減少（-17%～-23%）が全例にみられ，試験 14 日までに回復傾向が認められたことから，これらは主にオプレルベキン投与による急性期反応に関連した変化と考えられた。試験 7 日または 14 日に両投与群の全例で軽度から中等度のグロブリンの増加ならびに無機リンおよびアルブミンの減少が認められたが，これらもサルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの一般毒性試験で認められた変化であった。

8.2. G544 抗体

8.2.1. アカゲザル組織との交差反応性試験

RPT-46813（参考資料）

アカゲザル 3 匹から採取した血管（内皮），骨髄，小腸，腎臓，肝臓，リンパ節，脾臓および横紋（骨格）筋の凍結切片を用いて，G544 との組織交差反応性を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。陽性対照組織として CD22 を発現すると予測されるヒト扁桃の濾胞の胚中心およびマントル層のリンパ球を用い，陰性対照組織としては同じ組織において CD22 陰性と考えられる濾胞間領域のリンパ球を使用した。また，陰性対照抗体として，G544 と同一の免疫グロブリンサブクラス（IgG4）に属するが，異なる抗原を特異的に認識する HuIgG4 抗体を使用した。G544 または HuIgG4 抗体（濃度 5 µg/mL）と二次抗体を前もって反応させて形成した複合体を用いる間接免疫ペルオキシダーゼ染色法により，組織を染色した。その後，組織をヘマトキシリンで対比染色し，光学顕微鏡下で観察した。

ヒト扁桃の陽性対照組織の凍結切片，すなわち濾胞の胚中心およびマントル層のリンパ球に加え，上皮内に遊走した，あるいは粘膜下に存在するリンパ球は G544 によって特異的に染色された。一方，T 細胞が分布すると考えられるヒト扁桃の濾胞間領域のリンパ球は G544 によって染色されず，扁桃のいずれの組織でも陰性対照抗体による特異的な染色はみられなかった。評価したアカゲザルの組織では，G544 による特異的な染色は認められなかった。

8.2.2. ヒト，カニクイザル，イヌ，ウサギ，ラットおよびマウス組織との交差反応性試験

RPT-46814（参考資料）

ヒト，カニクイザル，イヌ，ウサギ，ラットおよびマウスから採取した血管（内皮），骨髄，小腸，腎臓，肝臓，リンパ節，脾臓および横紋（骨格）筋の凍結切片を用いて，G544 との組織交差反応性を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。各動物種につき 3 例から各組織を採取して評価した。陽性および陰性対照組織，陰性対照抗体ならびに染色は 2.6.6.8.2.1 項と同様の方法を用いた。

陽性および陰性対照組織ならびに陰性対照抗体における染色の結果は 2.6.6.8.2.1 項と同様であった。ヒトから採取した各組織のうち，リンパ節および脾臓の濾胞の胚中心およびマントル層では G544 により染色されたリンパ球が観察され，腎臓，肝臓，横紋（骨格）筋といった非リンパ系組織の間質でも，G544 により染色されたリンパ球がまれに観察された。しかし，ヒトの骨髄，血管（内皮）または小腸には，評価したいずれの個体でも G544 による染色は認

められなかった。これらの組織で G544 との反応がみられなかった原因として，試料が小さく，十分な細胞数での評価ができなかったことが考えられる。サル，イヌ，ウサギ，ラットまたはマウスでは，評価したいずれの組織でも G544 に特異的な染色は認められなかった。

8.2.3. ヒト組織との交差反応性試験

RPT-63271

3 例のドナーから採取したヒト組織凍結切片（副甲状腺は 2 例）を用いて G544 との組織交差反応性を評価した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。G544 濃度が 0.5 または 10 µg/mL であったのを除き，陽性および陰性対照組織，陰性対照抗体ならびに染色は 2.6.6.8.2.1 項と同様の方法を用いた。

陽性および陰性対照組織ならびに陰性対照抗体における染色の結果は，ヒト扁桃組織で上皮内および粘膜下を観察しなかったのを除いて 2.6.6.8.2.1 項と同様であった。一連のヒト組織を評価した結果，リンパ節（濾胞），脾臓（濾胞およびマントル層ならびに赤脾髄），扁桃（濾胞およびマントル層），GALT，浸潤した単核細胞および血液塗抹標本のリンパ球において G544 の染色が認められた。染色は膜および細胞質に局在していた。多くの標本で 0.5 および 10 µg/mL のいずれの濃度の G544 でも染色が認められたが，0.5 µg/mL の方が染色強度または頻度が低かった。3 例中 1 例の骨髄では単核細胞に染色が認められた。この細胞の種類は形態学的特徴の詳細が不明であったため特定できなかったが，リンパ球またはリンパ球前駆体である可能性が考えられた。G544 のいずれの濃度においても，白脾髄およびリンパ節において濾胞樹状細胞に染色が認められた。真皮および乳腺の間質線維にも染色が認められた。皮膚と乳腺組織の染色性は質的にも量的にも同様であり，G544 の 10 µg/mL の濃度においてのみ低度から中等度に認められた。子宮頸部では，外子宮口の上皮下間質線維（微細フィラメント）に染色性が認められた。これら 3 組織（皮膚，乳腺および子宮頸部）のいずれにおいても，染色された間質線維の種類は特定できなかった。

以上の結果から，G544 は評価に用いたヒト組織の CD22 が発現していると考えられる細胞と反応した。本試験で認められた組織染色性は，文献に報告された CD22 の免疫組織化学的分布[a,b,c,d]と一致するものであった。G544 の染色は，真皮および乳腺の間質線維ならびに子宮頸部の外子宮口の上皮下間質線維にも認められた。

---

[a] Korkusuz P, Dagdeviren A, Asan E, et al. Immunophenotypic analysis of human spleen compartments. Ann Anat. 2002:184:431-41.

[b] Moyron-Quiroz JE, Partida-Sanchez S, Donis-Hernandez R, et al. Expression and function of CD22, a B-cell restricted molecule. Scand J Immunol. 2002;55:343-51.

[c] Ogata T, Yamakawa M, Imai Y, et al. Follicular dendritic cells adhere to fibronectin and laminin fibers via their respective receptors. Blood. 1996;88:2995-3003.

[d] Tedder TF, Poe JC, Haas KM. CD22: a multifunctional receptor that regulates B lymphocyte survival and signal transduction. Adv Immunmol. 2005;88:1-50.

8.3. 非結合カリケアマイシン誘導体

非結合カリケアマイシン誘導体として，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut および N-Ac-ε-カリケアマイシンの毒性を単回投与または反復投与毒性試験で評価した。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH はイノツズマブ　オゾガマイシンから加水分解によって遊離する細胞毒性物質である。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut は N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH に酸に不安定な AcBut リンカーが結合した化合物で，開発当初の原薬製造工程における中間体であった。また，N-Ac-ε-カリケアマイシンはイノツズマブ　オゾガマイシンのラットにおける主な胆汁中排泄代謝物で，ヒト尿中にも検出されている。なお，以下に示す非結合カリケアマイシン誘導体の単回および反復投与毒性試験は，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH のマウス単回投与毒性試験を除き，ゲムツズマブ　オゾガマイシン（マイロターグ®）の申請時に実施・提出されている。

8.3.1. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH

N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の毒性をマウス，ラットまたはイヌを用いた単回および反復投与毒性試験で評価するとともに，光毒性を in vitro で検討した。イノツズマブ　オゾガマイシンの標的臓器毒性と比較して，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH 投与による新たな標的臓器毒性は認められなかった。

8.3.1.1. 単回投与毒性試験（マウス，ラットおよびイヌ）

MIRACL-24627, MIRACL-26628, MIRACL-26629（いずれも参考文献）

N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の単回静脈内投与毒性試験を，マウス（MIRACL-24627），ラット（MIRACL-26628）およびイヌ（MIRACL-26629）を用いて実施した。動物は，投与後 45～47 日間観察した。いずれの動物種でも，高用量で体重および摂餌量の減少が認められた。マウスでは 300 μg/kg 以上で肝臓の主な病理組織学的変化として肝細胞の多形性および結節性再生が認められ，これに関連して肝臓重量の増加および剖検所見として肝臓表面粗造がみられた。ラットでは 300 μg/kg 以上で全例が死亡した。死亡例における毒性所見は，主に肝臓，腎臓，脾臓，胸腺，骨髄および胃に認められた。肝臓では病理組織学的変化として肝細胞の核・細胞質の大型化（軽微～軽度）および単細胞壊死（軽微）がみられ，これらに関連して剖検では肝臓の蒼白化が認められた。腎臓では尿細管上皮に核・細胞質の大型化（軽微）および壊死が認められた。脾臓および胸腺ではリンパ球減少（軽度～重度）がみられ，脾臓では髄外造血の減少（軽微～軽度）が認められた。骨髄では細胞数減少（軽度～重度）が認められた。胃では前胃の潰瘍または炎症ならびに棘細胞肥厚がみられ，これに関連した剖検所見として潰瘍および膨張がみられた。これらの胃の所見はストレスに伴う二次的変化の可能性が考えられた。100 μg/kg を投与した生存例のラットでは，病理組織学的変化は肝細胞および腎臓尿細管上皮に，それぞれ軽微な核・細胞質の大型化が認められた。イヌでは 75 μg/kg 以上で死亡例が認められた。生存例における臨床病理学的変化は APTT の延長のみで，病理組織学的変化としては腎尿細管上皮に軽微な再生像が認められ，尿細管に軽度な変性または壊死が生じていたことが示唆された。死亡例にみられた他の病理組織学的変化として，脾臓，胸腺またはリンパ節でリンパ球数減少（軽微～重度）がみられ，これらに関連した剖検所見として脾臓および胸腺の小型化が認められた。骨髄では細胞数の減少（軽微～重度）が認められた。小腸または大腸では核・細胞質の大型化（軽微～中等度）がみられ，通常壊死，うっ血または出血を伴った。またこれらに関連した剖検所見として，腸管粘膜の赤色化が認められた。

8.3.1.2. 反復投与毒性試験（ラットおよびイヌ）

MIRACL-26630, MIRACL-26707（いずれも参考文献）

ラット（MIRACL-26630）およびイヌ（MIRACL-26707）を用いて週 1 回の静脈内投与による 6 週間毒性試験を実施した。これらの試験において，主な毒性は骨髄，リンパ器官および雌雄生殖器にみられ，いくつかの組織では核・細胞質の大型化または過形成が認められた。ラットおよびイヌのいずれにおいても骨髄細胞の減少ならびにリンパ組織（リンパ節，胸腺，扁桃腺，GALT または脾臓）のリンパ球数減少または萎縮が認められ，これに伴って臓器重量の増加または減少，ならびに血液学的変化（赤血球パラメータおよび白血球数の減少，または血小板数増加）がみられた。ラットでは腎臓および肝臓に核・細胞質の大型化が，小腸および大腸では上皮の過形成が認められた。ラットの雄性生殖器の所見は，乳腺の軽度な萎縮/雌性化のみであった。イヌの雄性生殖器における所見として，精巣胚上皮の萎縮（軽度～重度）ならびにそれに伴う二次的変化として精巣上体の精子減少および前立腺の萎縮が認められ，これに関連して精巣重量の減少（中等度～重度）がみられた。雌性生殖器の変化はイヌのみにみられ，卵巣の卵胞未発達およびそれに伴う二次的変化として膣上皮萎縮が認められた。イヌでみられたその他の病理組織学的変化として，胃底腺に壊死細胞残渣（軽微～軽度），膵臓に外分泌腺の萎縮，腺房の壊死および島細胞の過形成，甲状腺に機能亢進を示唆する形態学的変化として濾胞の小型化および上皮の高さの増加（軽微～中等度）が認められた。

8.3.1.3. In vitro 光毒性試験

[redacted]GR009

N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は UVA～UVB/可視光線（290～700 nm）の波長範囲でモル吸光係数（molar extinction coefficient; MEC）が 10000 L/mol/cm 以上と顕著な吸光を示すことから，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の光反応性について，Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro ニュートラルレッド取り込み（NRU）試験を実施した（毒性試験の概要表, 2.6.7.17）。Balb/c 3T3 細胞（クローン A31）を 0, 0.17, 0.3, 0.53, 0.95, 1.69, 3.00, 5.34 および 9.5 µg/mL の N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH で 90 分間処理した。最高濃度の 9.5 µg/mL は，溶媒（1%DMSO を含むダルベッコ PBS）中における N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の溶解度の上限であった。処理した細胞は，5 J/cm^2 の紫外線 A 波（UVA）あるいは 22 mJ/ cm^2 の紫外線 B 波（UVB）で約 30 分間照射するか，または遮光状態に置いた。照射後約 22 時間に NRU によって細胞の生存率（無処置対照との比率）を測定した。陽性対照にはプロメタジンを用いた。照射下および非照射下での濃度 - 反応曲線から 50%阻害濃度（IC_{50}）を求め，光毒性係数（photo-irritancy factor; PIF）および平均光作用（mean photo effect; MPE）を算出した。

N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は UVA あるいは UVB の照射下または非照射下において，最高濃度の 9.5 µg/mL でも細胞毒性または光毒性を示さず，IC_{50} を算出できなかったことから，PIF は 1，MPE は 0.02 未満と判断され，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は光毒性を有しないことが示された。プロメタジンの PIF は 5 以上，MPE は 0.15 以上であり，本試験が適切な条件で実施されたことが確認された。したがって，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH とタンパク質が結合した ADC であるイノツズマブ　オゾガマイシンも，光毒性を有しないと考えられる。

8.3.2. N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut

8.3.2.1. 単回投与毒性試験（ラット）

MIRACL-26709（参考文献）

ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した。死亡例は 300 µg/kg 以上で認められた。主な毒性は骨髄，リンパ組織，肝臓，腎臓および雄性生殖器にみられた。骨髄では細胞数減少（軽度～重度）が認められた。脾臓および胸腺ではリンパ球数減少（中等度～極めて重度）が認められ，これらの臓器の小型化を伴っていた。肝臓では，生存例には細胞核・細胞質の大型化（軽微～中等度）がみられ，瀕死状態となった動物では肝細胞壊死，およびそれに伴う剖検所見として巣状の蒼白化が認められた。腎臓では，尿細管の変性/再生および好塩基化（軽微～中等度），尿細管拡張（軽度～中等度）および尿細管上皮の細胞核・細胞質の大型化（軽微～中等度）が認められた。雄性生殖器の変化としては，精巣胚上皮の萎縮が認められた。また，死亡例では胃に膿瘍が認められ，これはストレスまたは免疫抑制に伴う二次的変化と考えられた。

8.3.3. N-Ac-ε-カリケアマイシン

8.3.3.1. 単回投与毒性試験（ラットおよびイヌ）

MIRACL-25706, MIRACL-25707（いずれも参考文献）

ラット（MIRACL-25706）およびイヌ（MIRACL-25707）を用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した。動物は，投与後 42～47 日間観察した。ラットでは，一般状態，体重，摂餌量および臨床病理検査において N-Ac-ε-カリケアマイシン投与に関連した変化はいずれの用量でも認められなかった。心臓重量の軽微な減少および胸腺重量の軽微な増加が認められたが，関連する剖検または病理組織学的所見はみられなかった。評価したいずれの組織においても，剖検または病理組織学的所見は認められなかった。イヌでも，一般状態，体重，摂餌量，臨床病理検査，臓器重量，剖検および病理組織学的検査において，N-Ac-ε-カリケアマイシン投与に関連した変化はいずれの用量でも認められなかった。

8.4. カリケアマイシン誘導体に関するその他の試験（肝毒性および血小板減少症の発現機序に関する探索的試験）

[redacted]GR346（参考資料）

イノツズマブ　オゾガマイシンやゲムツズマブ　オゾガマイシンのように，カリケアマイシンを成分として含む ADC のヒトにおける主な標的非依存的な毒性として，血小板減少症および肝臓微小血管障害がある。そのため，血小板減少症の発症機序を検討し，肝毒性の特性を評価するとともに肝毒性のバイオマーカーを探索することを目的として，カニクイザルを用いた 9 週間投与試験を実施した（毒性試験の概要表，2.6.7.17）。本試験の被験物質である PF-06647259 は，非結合性のヒト化 IgG1 モノクローナル抗体に酸に不安定な AcBut リンカーを介して N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH を結合させた ADC である。

PF-06647259 を 0.5 mg/kg の用量（カリケアマイシンとして 20 µg/kg に相当）でカニクイザル（雄 8 匹/群）に 3 週ごとに 1 回投与を 1 サイクルとして 3 回（試験 1，22 および 43 日）静脈内投与した。対照群の動物（雄 7 匹/群）には溶媒（20 mmol/L トリス，8.5%ショ糖，0.02%ポリソルベート 80 および 0.005% EDTA 二ナトリウムを含む PBS，pH 8.0）を投与した。一般状態観察および摂餌量測定は毎日，体重測定は投与開始前ならびに試験 1 日より週 1 回行った。血液学的検査（網血小板およびトロンボポエチンを含む），血液生化学的検査［血管内皮細胞増殖因子（VEGF），IL-6 およびヒアルロン酸（HA）を含む］，凝固検査［プロテイン C およびプラスミノーゲン活性化因子阻害因子 1（PAI-1）を含む］，血小板活性化に関するバイオマーカー測定（CD61 および CD62P）ならびに血中マイクロ RNA（miRNA；miR-21，miR-122 および miR-126）測定は，投与開始前あるいは試験 2，4，7，11，16，18，25，32，

42，44，46，49，53，58 または 63 日に実施した。動物は試験 3 日（初回投与から 48 時間後，対照群 1 例および PF-06647259 投与群 2 例）または試験 63 日（3 回目投与から 21 日後，対照群 2 例および PF-06647259 投与群 6 例）に安楽殺し，剖検，病理組織学的検査，免疫組織化学染色および組織化学染色［PTAH（リンタングステン酸・ヘマトキシリン），アルシアンブルー，マッソントリクロームまたはレチクリン］を実施した。なお，対照群の残りの 4 例は試験終了後，飼育コロニーに戻した。特記ない限り，以下の数値の変化は投与前値との差の平均値で示す。

試験期間中に死亡は認められなかった。PF-06647259 を投与したサルに認められた一般状態変化は胸部，鼠蹊部，前後肢および投与部位周辺の暗色化ならびに投与部位周辺の皮膚の乾燥のみであった。体重および摂餌量に影響は認められなかった。

PF-06647259 を投与したすべてのサルで血小板数の減少が認められた。初回投与サイクルでは血小板数は急性かつ可逆的に減少し，それ以降のサイクルでは初回ほど顕著ではないものの持続的な減少を示した。以下，血小板数に関し，急性の減少と持続的な減少に分けて記述する。

血小板数は初回投与の 24 時間後（試験 2 日）より減少（-47%）し，投与 48～72 時間後に最低値（-36～-86%）となったが，初回投与サイクルの最終評価時点である試験 18 日までに完全に回復した。試験 3 日に実施した病理組織学的検査では骨髄における巨核球の密度や形態に変化はみられておらず，血小板産生抑制の徴候は認められなかった。また，動物の正常な血小板の寿命が 5～10 日であること[a]を考慮すると，この急激な血小板数の減少は，骨髄での血小板産生に対する急性の影響ではなく，末梢における血小板の捕捉および破壊による変化と考えられる。血中に直接的な血小板活性化（CD61 および CD62P）またはサイトカイン放出（IL-6）の徴候は認められなかった。カリケアマイシンを含む ADC に共通する変化として肝酵素の上昇および肝臓微小血管への影響が認められていることから，血小板減少と肝臓内皮障害との関連に着目して評価した。試験 3 日に安楽殺した動物において肝臓に病理組織学的変化はみられなかったが，内皮細胞の VEGFR-2 および血小板の CD41 の免疫組織化学染色ならびに肝臓の透過電子顕微鏡観察では主に中間帯で中等度から重度の類洞内皮細胞（SEC）の減少およびそれに伴う中等度から重度の血小板の捕捉，活性化および脱顆粒が認められた。試験 3 日の肺および腎臓には同様の病理組織学的所見はみられなかった。したがって，急性の血小板数減少は PF-06647259 による肝臓に特異的な内皮細胞障害の二次的変化として発生した血小板捕捉によるものと考えられた。凝固検査では PT には変化はなく，軽微な APTT 延長およびフィブリノゲン増加がみられたのみであった。

一方，上述の通り初回投与後の血小板数は試験 18 日までに投与前値にまで回復したが，第 2 投与サイクル以降でみられた血小板数減少は初回ほど顕著ではないものの完全には回復せず，第 3 投与サイクルの最終評価時点である試験 63 日まで持続した（-20%～-54%）。試験 63 日に実施した病理組織学的検査においても骨髄の巨核球に PF-06647259 投与に関連した変化は認められておらず，またこの時点では肝臓にも血小板の顕著な捕捉は認められなかった。この第 2 投与サイクル以降の持続性の血小板数減少の機序の詳細は明らかではないが，血清中

[a] Moroni M, Lombardini E, Salber R, et al. Hematological changes as prognostic indicators of survival: Similarities between Gottingen minipigs, humans, and other large animal models. PloS ONE. 2011;6:e25210.

トロンボポエチンが主として初回投与サイクルの試験3～7日にPF-06647259を投与したすべてのサルで減少（最大-67%）し，それ以降の投与サイクルでも重症度は初回より低いもののほとんどのサルで減少は持続したことから，このトロンボポエチン減少により骨髄への刺激が不十分となり，慢性的な血小板産生減少に至った可能性が考えられる。

ゲムツズマブ　オゾガマイシンのヒトにおける副作用として肝臓の血管内皮障害が報告されており，これは静脈閉塞性肝疾患（VOD）［類洞閉塞症候群（SOS）とも呼ばれる］および結節性再生性過形成（NRH）に至ることがある[a]。現在，この種の肝障害の発症機序に基づく高感度で特異的なバイオマーカーは存在しないことから，本試験では肝臓における病変を詳細に検討するとともに，種々のバイオマーカー［PAI-1，プロテインC，VEGF，HAならびにmiRNA（miR-21，miR-122およびmiR-126）］の診断上の有用性について，標準的な肝臓の生化学的マーカーと比較検討した。試験3日に認められた病理組織学的変化は主に血小板捕捉を伴うSEC減少であり，試験63日には軽微から軽度の多巣性の類洞拡張または肝細胞萎縮が認められた。VEGFR-2の免疫組織化学染色の結果，試験3日には中間体で中等度から重度に，またそれより程度は低いものの小葉中心でも染色の減少が認められたが，試験63日には主に肝細胞萎縮が認められた部位に内皮細胞染色の変化が軽微かつ巣状にみられたのみであり，SECの顕著な回復が示唆された。しかし，試験63日のSECでは，CD34発現の増加が認められた。CD34は類洞の毛細血管化のマーカーであり，肝機能障害と関係することが知られている[b]。標準的な肝臓パラメータに対するPF-06647259投与に関連した主な変化は軽微なASTの増加（最大3.09倍）であり，試験4日以降の試験期間全体にわたって持続した。AST増加はPF-06647259を投与したサル8例中7例で認められた。ALTに一貫した増加はみられず，8例中3例で最大2.24倍の増加を示した。これら3例では肝細胞障害を示す病理組織学的所見は認められておらず，ASTのみが一貫して増加した理由，またそのASTがどこの細胞に由来するものであるかは，現時点では明らかでない。ASTは肝臓に特異的な酵素ではなく，イノツズマブ　オゾガマイシンやPF-06647259を投与したときの変動の幅も大きくないことから，ASTは肝臓における微小血管傷害の高感受性あるいは特異的なマーカーとは考えられなかった。APTTおよびフィブリノゲンは軽微に増加した。PAI-1，プロテインCおよびVEGFにPF-06647259投与に関連した変化は認められなかった。HAはPF-06647259を投与した全例で軽微から軽度に増加した。HAの増加は試験2日（最大4.71倍）から認められ，試験4日（最大6.76倍）に最大になった後初回投与サイクル中に回復傾向を示したが，第2以降の投与サイクルではHAの増加が持続した（最大8.49倍）。HAは細胞外基質に含まれる多糖類の一つであり，全身の間葉系細胞によって合成され，ほとんど肝臓のSECのみによって分解される[c]。血中HAレベルは肝臓のSECの構造的および機能的障害によって増加し，臨床的に

[a] McKoy J, Angelotta C, Bennett CL, et al. Gemtuzumab ozogamicin-associated sinusoidal obstructive syndrome (SOS): An overview from the research on adverse drug events and reports (RADAR) project. Leuk Res. 2007;31:599-604.

[b] Narita M, Oussoultzoglou E, Chenard MP, et al. Liver injury due to chemotherapy-induced sinusoidal obstruction syndrome is associated with sinusoidal capillarization. Ann Surg Oncol. 2012;19:2230-7.

[c] Eriksson S, Fraser JR, Laurent TC, et al. Endothelial cells are a site of uptake and degradation of hyaluronic acid in the liver. Exp Cell Res. 1983;144:223-8.

も SEC 障害を伴う肝障害を非侵襲的に検出する手段として検討されている[a,b]。血清中 HA の増加は AST と良い相関を示し（R = 0.84），試験 3 および 63 日における肝臓の病理組織学的変化とも関連した。特に，PF-06647259 投与によって AST が増加せず，HE 染色による病理組織学的検査で肝臓に所見が認められなかった 1 例のサルでは HA の増加もみられなかったのに対し，試験 63 日に AST が 3.06 倍に増加し，肝臓にも軽度の病理組織学的所見が認められた個体では，同日に HA も全個体中で最大の値（投与前値 64.4 ng/mL に対し試験 63 日は 311.9 ng/mL）を示した。以上の結果から，HA は SEC に対する初期の構造的障害（試験 3 日）および後期の機能的障害（試験 63 日）の両方を検出することのできるマーカーであることが示唆された。

miRNA の評価では，PF-06647259 を投与したサルで，試験期間を通していずれの測定時点でも miR-122 の増加が認められ，肝障害が示唆された。miR-122 は試験の終盤（試験 35～50 日）に最大となり，反復投与により肝臓への障害が蓄積された可能性が考えられる。あるいは，本試験では詳細なトキシコキネティクスの検討は実施していないが，各投与日の約 3 週間後に当たる試験 25，46 および 63 日に採取した血清検体を用いて総抗体濃度を測定した結果から薬物の蓄積が示唆され，miR-122 が試験終盤に最高値を示したのは，蓄積した薬物の影響による可能性も考えられる。測定最終時点である試験 63 日には miR-122 は試験 35～50 日に比べて減少しており，肝障害の回復傾向と相関した可能性が考えられる。miR-126 および miR-21 は初回投与後のほとんどあるいはすべての測定時点で減少し，内皮細胞の障害あるいは機能低下が示唆された。これらの miRNA の変動の程度は比較的低く（7 倍未満），また対照群および PF-06647259 投与群のいずれにおいても大きな個体差が認められた。したがって，PF-06647259 の投与によって miR-21，miR-122 および miR-126 の血清中濃度に変化は認められたものの，これらが肝臓の微小血管傷害のバイオマーカーとして適切であるかは明らかでない。

その他の PF-06647259 投与に関連した臨床病理所見として，赤血球パラメータ（再生の徴候を伴う），リンパ球数，総白血球数，アルブミンおよびカルシウムの減少ならびに総タンパクおよびグロブリンの増加が認められた。また，一般状態および剖検所見として皮膚に異常な暗色化または創傷/瘢痕/痂皮が，病理組織学的所見として大腿骨の骨髄に動脈症（骨髄支質における，壊死または線維化を伴った中膜の肥厚した中型～大型の動脈の出現）が認められた。

以上のように，非結合性の抗体とカリケアマイシンからなる ADC である PF-06647259 は，カニクイザルにおいて血小板数減少および肝臓微小血管傷害を惹起した。肝臓の病理組織学的検査より，試験 3 日には血小板捕捉を伴う SEC の減少が，試験 63 日には類洞の毛細血管化を示唆する CD34 の過剰発現を特徴とする回復した SEC の機能的変化および主に類洞拡張または肝細胞萎縮からなる実質組織の再構築が認められた。血小板数は初回投与サイクルには SEC 障害の二次的変化として急性かつ可逆的に減少した。血小板数は第 2 投与サイクル以降

[a] Fried MW, Duncan A, Soroka S, et al. Serum hyaluronic acid in patients with veno-occlusive disease following bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 2001;27:635-9.

[b] Van den Broek MA, Vreuls CP, Winstanley A, et al. Hyaluronic acid as a marker of hepatic sinusoidal obstruction syndrome secondary to oxaliplatin-based chemotherapy in patients with colorectal liver metastases. Ann Surg Oncol. 2013;20:1462-9.

でも持続的に減少したが，その詳細な機序は明らかでない。血清中 HA 濃度は PF-06647259 投与によって増加し，AST および肝臓の病理組織学的変化と関連したことから，HA が肝臓微小血管傷害の発症機序に基づく高感度な診断マーカーとなる可能性が示唆された。

9. 考察および結論

イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性プロファイルを一般毒性，遺伝毒性および生殖発生毒性試験によって広範に評価した結果，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した主要な影響として，肝臓，リンパ造血系組織および雌雄生殖器に対する影響ならびに胚・胎児毒性および変異原性/がん原性の可能性が特定された。その他，イノツズマブ　オゾガマイシンの反復投与によって，ラットおよびサルにおける腎臓への影響ならびにラットにおける神経系への影響が認められた。イノツズマブ　オゾガマイシンはラットおよびサルの CD22 に対して特異的な結合を示さないことから，これらの種々の臓器に認められた本薬投与による影響は，結合型または非結合カリケアマイシンによる非特異的な細胞毒性に由来するものと考えられる。非結合カリケアマイシン誘導体（N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH AcBut および N-Ac-ε-カリケアマイシン）のマウス，ラットおよびイヌを用いた単回または反復投与毒性試験において，新たな標的臓器毒性は認められなかった。G544 を単独でラットおよびサルに投与しても毒性は認められず，これは G544 がラットやイヌなどの非臨床動物種の CD22 には結合しないことから，予測された結果であった。イノツズマブ　オゾガマイシンの単回および反復投与によって用量依存的な体重増加量または摂餌量の減少が認められた。不耐容の徴候を示す一般状態変化に続く瀕死状態/死亡は，ラット単回投与の 16.4 mg/m^2 およびサル 26 週間反復投与の 0.732 mg/m^2 で生じた。サルで瀕死状態/死亡が発生したときの曝露量（90700 ng•h/mL）は日本人における治療時の曝露量（32500 ng•h/mL[a]）を上回っていた。N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は変異原性および染色体異常誘発物質であることが確認され，イノツズマブ　オゾガマイシンも染色体異常誘発物質であることが示された。

ラットを用いて，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の 6 週間（週 1 回投与）試験およびイノツズマブ　オゾガマイシンの 4 および 26 週間（週 1 回投与）試験を実施して反復投与時の毒性を評価した。ラットにおけるイノツズマブ　オゾガマイシンおよび N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の毒性の標的臓器はおおむね同様であり，骨髄，精巣，腎臓，肝臓，卵巣，雄の乳腺および脾臓であった。肝臓および腎臓は天然に存在するカリケアマイシンであるγ-カリケアマイシンをラットに投与した場合でも標的臓器であったことから（MIRACL-24560, MIRACL-24625），これらはイノツズマブ　オゾガマイシンおよび非結合カリケアマイシン誘導体の反復投与時の共通した標的臓器と考えられる。末梢神経系および中枢神経系は，イノツズマブ　オゾガマイシンによる毒性の標的臓器であったが，N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH，γ-カリケアマイシンまたは G544 のみを投与したときの標的臓器ではなかった。イノツズマブ オゾガマイシンのラット単回投与試験において剖検または病理組織学的所見が認められた臓器は N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH またはγ-カリケアマイシンを投与したラットで観察されたものとおおむね同様であり（MIRACL-24559, MIRACL-24564），肝臓，腎臓，脾臓，精巣，胸腺，リンパ節，骨髄および胃であった。サルを用いた非結合カリケアマイシン誘導体の単

[a]再発または難治性 ALL 患者を対象にイノツズマブ　オゾガマイシンを 1.8 mg/m^2/サイクルで反復投与したときのサイクル 4 の第 1 日（投与量 0.8 mg/m^2）における日本人の AUC_{168} の平均値（母集団薬物動態モデルに基づくシミュレーションによる推定値）（2.7.2.3.1.2 項）

回または反復投与毒性試験は実施しなかったが，γ-カリケアマイシンのサルを用いた単回投与試験（MIRACL-24563）では肝臓が標的臓器として特定され，病理組織学的所見として肝細胞の細胞多型および再生像が観察された。したがって，イノツズマブ　オゾガマイシンの単回および反復投与による毒性プロファイルは N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH またはγ-カリケアマイシンのものと同様であり，このことからもイノツズマブ　オゾガマイシンによる毒性は結合型または非結合カリケアマイシンによる標的に依存しない毒性に起因すると考えられる。

以下の項目に示す曝露比は，各々の毒性所見に関するイノツズマブ　オゾガマイシンの NOAEL または LOAEL における AUC とヒトに最大用量（0.8 mg/m^2）を投与したときの臨床曝露量（AUC_{168} 値 32500 ng•h/mL）との比較で算出した。

9.1. 肝臓

ラットおよびサルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの単回投与試験および最長 26 週間の反復投与試験において肝臓の変化が認められた。サルにおける主要な肝臓の所見として，AST または ALT の増加に加え，SEC の損傷/減少および血小板捕捉を伴う類洞拡張ならびに多巣性の肝細胞肥大などの病理組織学的変化が認められた。これらの所見は肝臓の微小血管障害を示すものであり，臨床試験で報告されている VOD/SOS や NRH の初期段階と形態学的に類似した所見であると考えられる。他の重要な所見として，ラットにおける前腫瘍性病変および腫瘍性病変，ならびに 1 例のサルで変異肝細胞巣が認められた。

ラットおよびサルで観察された血液生化学的パラメータの変化として，反復投与試験において用量依存的な AST または ALT の増加が 0.41 mg/m^2/週以上のラットおよび 0.216 mg/m^2/週以上のサルで認められた。単回投与試験でも，AST および ALT の増加はラットおよびサルのそれぞれ 8.22 mg/m^2 以上および 4.11 mg/m^2 以上で観察された。サル単回投与試験では 8.22 mg/m^2 以上で総ビリルビンの増加も観察されたが，ラットおよびサルの 26 週間反復投与試験でそれぞれ最大 0.727 mg/m^2/週および 0.732 mg/m^2/週を投与しても総ビリルビンの増加はみられなかった。

ラットを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの 4 または 26 週間反復投与試験で認められた肝臓の病理組織学的変化として，0.218 mg/m^2/週以上における肝細胞の核の大型化（軽微～中等度）および肝細胞肥大（軽微～中等度）ならびに 4.07 mg/m^2/週群における肝細胞変性（軽微）が認められた。肝細胞肥大と関連して，0.073 mg/m^2/週以上では剖検時に肝肥大および肝臓の相対重量（体重比）の増加が認められた。ラット 26 週間反復投与試験で認められたその他の病理組織学的所見として，0.073 mg/m^2/週以上における肝細胞の空胞化（軽微～軽度），血管拡張（軽微～重度）および髄外造血，0.218 mg/m^2/週の雄 1 例における胆管線維症（軽度），0.218 mg/m^2/週以上における線維化（軽微，多巣性）ならびに 0.727 mg/m^2/週における類洞拡張（軽微）が認められた。血管拡張はほとんどが被膜下にみられ，剖検で認められた暗変色化または陥凹化と関連する所見であった。サルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの 4 週間反復投与試験では，4.20 mg/m^2/週までの用量で肝臓の病理組織学的変化はみられなかった。サル 26 週間反復投与試験では，0.072 mg/m^2/週以上で肝細胞萎縮を伴う類洞拡張（軽微～中等度）および 0.216 mg/m^2/週以上で肝細胞肥大（軽微）が観察された。イノツズマブ　オゾガマイシンをラットに単回投与したときには，8.22 mg/m^2 以上で絶対肝重量は減少したが相対肝重量は増加し，16.4 mg/m^2 群では肝細胞肥大および肝細胞の褐色色素沈着の増加が観察された。16.4 mg/m^2 の単回投与後に死亡または瀕死状態のため安楽殺したラットでは，重度の小葉中心性の肝細胞壊死が認められた。これらの観察された肝毒性は，カリケアマイシンの作用機序および肝臓での細胞傷害作用と一致している。また，反復投与試験ではラットの

肝臓に前腫瘍性病変および腫瘍性病変が，サルでは 1 例で変異肝細胞巣が認められた。これらの所見については 2.6.6.9.8 項で考察する。

ラット 4 週間反復投与試験では，4 週間の休薬期間終了時にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した病理組織学的所見は回復または回復傾向を示した。肝細胞変性は回復したが，肝細胞肥大（軽微～軽度），単細胞壊死の増加（軽微）および核の大型化（軽微）は雌雄で回復傾向を示したのみであった。サル 4 週間反復投与試験では，イノツズマブ　オゾガマイシン投与による肝臓に関連した所見は，4 週間の休薬期間終了時には認められなかった。

イノツズマブ　オゾガマイシンはラットまたはサルの CD22 抗原とは結合しないことから，上記の肝臓の所見は非結合または結合型カリケアマイシンによる標的非依存的な作用によるものと考えられる。サルにおける肝毒性について詳細に検討し，臨床試験で報告された肝毒性との関係を評価するため，イノツズマブ　オゾガマイシンならびに同一のリンカーおよびカリケアマイシン部分を含む社内で評価した他の ADC［すなわち，ゲムツズマブ　オゾガマイシン，PF-06647259 および PF-06647263（抗エフリン A4 IgG1 抗体に AcBut リンカーを介して N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH を結合させた ADC）］を投与したサルの肝臓での病理組織学的所見について横断的に評価した[a]。サルで認められた肝臓の病理組織学的変化はカリケアマイシンを含む ADC の各試験にわたって同様であり，主として肝細胞の肥大/再生を示唆する病巣を伴う多巣性の類洞拡張または肝細胞萎縮であった。その他の試験間での一貫性が比較的低い病理組織学的所見として，中心静脈の内膜肥厚および概して類洞拡張の領域でみられたクッパー細胞の色素沈着が観察された。PF-06647263 を用いた試験では，VEGFR-2 に対する免疫組織化学染色で SEC の減少が認められ，これは類洞拡張および肝細胞萎縮の領域で最も顕著にみられ，類洞の微細な線維化を伴った。また，レチクリン染色により肝細胞の肥大/再生像を明らかにし，その特性についてさらに評価した結果，肥大した肝細胞の小結節が認められ，これらはほとんどの場合二層性に配列しており，萎縮した肝細胞がその辺縁を囲んでいた。サルにおけるこれらの肝臓の所見は，オキサリプラチンを投与したヒトで報告されたものと形態学的に類似しており[b]，VOD/SOS および NRH の発症段階を示すものと考えられた。

肝障害の発症機序をさらに検討し，肝毒性のバイオマーカー候補を特定することを目的として，ヒト化非結合性 IgG1 モノクローナル抗体にイノツズマブ　オゾガマイシンと同様に AcBut リンカーを介して N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH を結合させた ADC である PF-06647259 のサルを用いた探索的試験を実施した（2.6.6.8.4 項）。試験 3 日の剖検で採取した肝臓試料を用いて行った病理組織学的検査（SEC および血小板の光学顕微鏡，透過電子顕微鏡および免疫組織化学染色による評価を含む）の結果，顕著な肝細胞の損傷はみられなかったが，主に中間帯で中等度から重度の SEC の減少が認められた。さらに，SEC の減少に伴って肝臓での血小板の捕捉，活性化および脱顆粒が認められ，これが急性の血小板数減少の原因になったと考えられた。その後，試験 63 日には SEC は回復したものの類洞の毛細血管化を示す CD34 の過剰発現が認められた，また軽微から軽度の類洞拡張または肝細胞の萎縮を

[a] Nonclinical Toxicity of Antidoby-Calicheamicin Conjugates (White Paper)（参考文献）

[b] Rubbia-Brandt L, Lauwers GY, Wang H, et al. Sinusoidal obstruction syndrome and nodular regenerative hyperplasia are frequent oxaliplatin-associated liver lesions and partially prevented by bevacizumab in patients with hepatic colorectal metastasis. Histopathology. 2010;56:430-9.

主な特徴とする実質組織の再構築が認められた。これらの病理組織学的検査の結果から，肝臓の SEC の損傷は当該毒性所見の起因となる現象と考えられた。PF-06647259 投与に関連したバイオマーカーの変化は血清中 HA の増加のみであり，この増加は試験 2 日（最大で投与前値の 4.71 倍）から認められ，試験 4 日（同 6.76 倍）に最大になった後初回投与サイクル中に回復傾向を示したが，第 2 以降の投与サイクルでは HA の増加が持続した（最大 8.49 倍）。HA は細胞外基質に含まれる多糖類の一つであり，全身の間葉系細胞によって合成され，ほとんど肝臓の SEC のみによって分解される[a]。AST は最大で投与前値の 3.09 倍に増加した。血清中 HA の増加は，試験 3 および 63 日の AST および肝臓の病理組織学的変化と相関していた。このように，サルでみられた肝臓の所見は SEC の一次的な損傷に関連した微小血管障害を示すものであり，VOD/SOS の初期段階に相当する所見と考えられる。サルで認められたこうした肝臓の変化は，標的結合性および非結合性のいずれの抗体からなる ADC でも認められていることから，標的に依存しない毒性であると考えられる。

イノツズマブ　オゾガマイシンを 26 週間投与したとき，ラットおよびサルで最低用量のそれぞれ 0.073 mg/m^2/週（投与 1 週の AUC_{168} は 7630 ng•h/mL）および 0.072 mg/m^2/週（AUC_{168} は 3830 ng•h/mL）から肝毒性が観察された。ラットおよびサルでの LOAEL における曝露量は，最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）のそれぞれ 0.1 倍および 0.2 倍であった。

VOD/SOS を含む肝障害については，臨床でも死亡例が報告されていることから，添付文書（案）において「本剤投与中は患者の状態を十分に観察し、VOD/SOS の徴候や症状の発現に注意すること」と注意喚起する。

9.2. リンパ系器官，骨髄および血液学的所見

ラットおよびサルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの単回投与試験および26週間までの反復投与試験において，血液学的所見ならびに骨髄およびリンパ系器官の病理組織学的変化が認められた。主要な血液学的所見としては，ラットおよびサルにおける赤血球パラメータおよびリンパ球数の減少ならびにサルにおける血小板数の減少が認められた。急性の血小板数減少はイノツズマブ　オゾガマイシンによる肝臓に特異的な内皮細胞障害の二次的変化としての血小板捕捉によるものと考えられるが，持続性の血小板数減少の機序は明らかではない。

ラットで最もよくみられた血液学的変化は赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット）の減少であった。この変化は概して網赤血球数の減少を伴い，単回投与試験では 8.22 mg/m^2 以上で，反復投与試験では 0.218 mg/m^2/週以上で認められた。最も顕著な変化は網赤血球数の減少で，反復投与試験では 0.727 mg/m^2/週以上の用量で進行性の赤血球パラメータ減少を伴った。試験中の死亡がなかった群では白血球数の減少が認められたが，これは主にリンパ球数の減少によるもので，リンパ球数の減少は単回投与試験では 4.62 mg/m^2 以上で，4 週間反復投与試験では 4.07 mg/m^2/週で認められた。一過性の血小板数の減少が単回投与試験の 8.22 mg/m^2 以上および 4 週間反復投与試験の 4.07 mg/m^2/週（雌のみ）で，試験 6 または 7 日に認められた。最も顕著な血小板数の減少は単回投与試験の 16.4 mg/m^2

[a] Eriksson S, Fraser JR, Laurent TC, et al. Endothelial cells are a site of uptake and degradation of hyaluronic acid in the liver. Exp Cell Res. 1983;144:223-8.

でみられ，これに関連して死亡および肝小葉中心性壊死が認められたが，後者の所見は血小板への影響の一因となった可能性が考えられた。これらの血液学的変化に関連して，単回投与試験の 8.22 mg/m^2 以上および 4 週間反復投与試験の 1.24 mg/m^2/週以上では，病理組織学的所見として骨髄の造血細胞の減少ならびに胸腺，脾臓，リンパ節または GALT のリンパ球数減少が観察された。4 週間反復投与試験での 4 週間の休薬期間終了時に，血液学的所見ならびに骨髄およびリンパ系器官の病理組織学的変化は回復または回復傾向を示した。

サルでみられた血液学的変化は主に赤血球パラメータ，リンパ球数および血小板数の減少であった。単回投与試験の 16.4 mg/m^2 および反復投与試験の 0.732 mg/m^2/週以上で観察された赤血球パラメータの減少は，試験期間全体にわたって徐々に進行した。網赤血球数も減少したが，必ずしも赤血球パラメータの減少とは一致しなかった。リンパ球数の減少は，単回投与試験の 8.22 mg/m^2 以上および反復投与試験の 0.732 mg/m^2/週以上で観察された。血小板数の減少は初回投与後まもなく認められ，最も顕著な影響は単回投与試験の 4.11 mg/m^2 以上で試験 3 日に，4 週間反復投与試験の 0.36 mg/m^2/週以上で試験 4 日に観察され，単回投与試験の 4.11 mg/m^2 以上では試験 14 日までに，4 週間反復投与試験の 1.32 mg/m^2/週以下および 4.20 mg/m^2/週ではそれぞれ試験 10 日および 28 日までに回復した。骨髄の病理組織学的所見は 4 週間反復投与試験の 1.32 mg/m^2/週以上でみられた軽微な細胞数減少のみであり，この所見は血液学的変化の一因となった可能性も考えられるが，サルの血小板の寿命は通常 6～8 日であることを考慮すると，血小板数の急速な減少は骨髄での血小板産生低下よりむしろ末梢での血小板の破壊を示唆しており，これについては後述のサルを用いた探索的試験を実施してさらに検討した。リンパ球数の減少と関連する変化として，反復投与試験の 0.36 mg/m^2/週以上では胸腺，脾臓またはリンパ節の軽微から極めて重度のリンパ球数減少が観察された。4 週間反復投与試験での 4 週間の休薬期間終了時に，血液学的所見ならびに骨髄およびリンパ系器官の病理組織学的変化は回復または回復傾向を示した。

2.6.6.9.1 項で述べた PF-06647259 の探索的試験（2.6.6.8.4 項）において，血小板減少の発症機序についても検討した。PF-06647259 投与に関連した主要な血液学的変化は血小板数の減少であり，初回投与サイクルでは血小板数は急性かつ可逆的に減少し，それ以降のサイクルでは初回ほど顕著ではないものの持続的な減少を示した。骨髄に血小板産生低下の徴候はなく（巨核球の密度および形態は正常範囲内），血中に直接的な血小板活性化またはサイトカイン放出（IL-6）の徴候は認められなかった。試験 3 日の剖検で採取された肝臓試料を用いて行った病理組織学的評価（SEC および血小板の光学顕微鏡，透過電子顕微鏡および免疫組織化学染色による評価を含む）の結果，主に中間帯で中等度から重度の SEC の消失とそれに付随する血小板の捕捉，活性化および脱顆粒が認められた。試験 3 日の肺および腎臓には同様の病理組織学的所見はみられず，急性の血小板数減少は PF-06647259 による肝臓特異的な内皮損傷の二次的変化として発生した血小板の捕捉によって生じたと考えられた。初回投与から 3 週間後に血小板数は投与前値に回復したが，それ以降の投与サイクルでは完全には回復せず，血小板に対する影響が持続した機序は不明であるが，トロンボポエチン減少により骨髄への刺激が不十分となり，慢性的な血小板産生減少に至った可能性が考えられる。同様の機序による肝臓における血小板の捕捉および凝集による血小板減少症はオキサリプラチンを投与した患者でも報告されており，これについても肝臓の SEC 損傷との関連が指摘されている[a]。

[a] Tajima H, Ohta T, Miyashita T, et al. Oxaliplatin-based chemotherapy induces extravasated platelet aggregation in the liver. Molecular and Clinical Oncology. 2015;3: 555-8.

以上のように，イノツズマブ　オゾガマイシン投与による主な血液学的変化はラットおよびサルでみられた赤血球パラメータおよびリンパ球数の減少ならびにサルでみられた血小板数の減少であった。ラットおよびサルではイノツズマブ　オゾガマイシンは標的の CD22 抗原と結合しないため，両動物種におけるこれらの血液学的変化は，カリケアマイシンによる標的に依存しない影響に起因するものと考えられた。26 週間反復投与試験における血液学的変化に対する NOAEL は，ラットでは 0.218 mg/m^2/週（AUC_{168} は 20200 ng•h/mL），サルでは 0.216 mg/m^2/週（AUC_{168} は 21700 ng•h/mL）であった。ラットおよびサルでの NOAEL における曝露量は，最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）のそれぞれ 0.6 倍および 0.7 倍であった。

骨髄抑制については臨床においても致命的な転帰をたどる場合があり，また骨髄抑制に起因した感染症による死亡例も報告されていることから，添付文書（案）において「骨髄抑制作用に起因する感染症，出血や他の副作用の徴候や症状を観察し，必要に応じ，減量，休薬，中止又は抗感染症薬の投与等の適切な処置を行うこと」と注意喚起する。

9.3. 雄性生殖器

主にラットを用いた単回投与試験および 4 週間以上の反復投与試験において，雄性生殖器（精巣，精巣上体，前立腺，精嚢および乳腺）への影響が認められた。単回投与試験では 8.22 mg/m^2 以上で軽微から極めて重度の精細管変性が認められ，関連する所見として精巣の小型化ならびに精巣の絶対および相対重量の減少が認められた。また，精巣での変性変化を反映する所見として，精巣上体の精子減少，精巣上体の小型化，前立腺萎縮ならびに精巣上体および前立腺の重量減少が認められた。4 週間以上の反復投与試験では，0.073 mg/m^2/週以上で用量依存的な精細管変性（軽度～極めて重度）が認められた。精細管変性の特徴として，高頻度にセルトリ細胞の層のみを有する萎縮した精細管が認められ，付随して管内に巨大精子細胞がみられた。精巣の病理組織学的所見と関連して，0.073 mg/m^2/週以上で精巣小型化ならびに絶対および相対精巣重量の減少が認められた。0.073 mg/m^2/週以上では，精細管変性の二次的所見として精巣上体の精子減少が認められた。同用量では，雄の乳腺の萎縮も観察された。4 週間反復投与試験のみで観察された他の所見として，精嚢（0.41 mg/m^2/週以上）ならびに精巣上体および前立腺（1.24 mg/m^2/週以上）の小型化または重量減少が認められた。26 週間反復投与試験では，0.727 mg/m^2/週で軽微な精嚢腺液減少が認められた。4 週間反復投与試験では，4 週間の休薬期間終了時に重度から極めて重度の精細管変性は依然として認められ，二次的変化として精巣上体の精子減少も認められた。精巣の変化と関連して，精巣の小型化ならびに精巣および精巣上体の重量減少も認められた。雄の乳腺の萎縮は，休薬期間終了時までに回復傾向を示した。正常な精子形成サイクルでは精原細胞の成熟に約 8 週間を要することから[a]，ラット 4 週間反復投与試験で精細管変性の回復または回復傾向がみられないことは予測可能であった。また，精巣上体の回復は精巣に対する一次的な影響が回復した後に起こると考えられることから，精巣上体の所見が持続することも予測可能であった。イノツズマブ　オゾガマイシン投与によって生じた精巣に対する影響は，カリケアマイシンを成分に含む他の ADC の細胞障害作用と同様であった[b]。

[a] Foster PMD. Testicular organization and biochemical function. In: Lamb JC, Foster PMD, editors. The Physiology and Toxicology of Male Reproduction. New York: Academic Press; 1988:7-34.

[b] Nonclinical Toxicity of Antidoby-Calicheamicin Conjugates (White Paper)（参考文献）

サルを用いた 4 週間反復投与試験では，1 例を除く全例で精巣が未成熟であったため，イノツズマブ　オゾガマイシンが精子形成に及ぼす影響を評価することはできなかった。ただし，4.20 mg/m^2/週の雄 2 例の精巣では，セルトリ細胞の空胞化が認められた。26 週間反復投与試験では，0.732 mg/m^2/週までの用量でイノツズマブ　オゾガマイシンを投与した雄サルの生殖器官に影響はみられなかった。しかし，試験に用いたサルの年齢および雄性生殖器の成熟状態から判断して，生殖器官への影響を十分に評価することはできていないと考えられた。

ラットの 26 週間反復投与試験では，0.073 mg/m^2/週（投与 1 週の AUC_{168} は 7630 ng•h/mL）から雄性生殖器に毒性所見が認められ，このときの曝露量は最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）の 0.2 倍であった。サルに関しては，反復投与毒性試験で用いた雄の成熟度にはばらつきがあったため，雄性生殖器に対する影響を正確に評価することはできなかった。

9.4. 雌性生殖器

ラットおよびサルを用いたイノツズマブ　オゾガマイシンの単回投与試験および 4 週間反復投与試験において，雌の生殖器官（卵巣，子宮，腟および乳腺）への影響が認められた。

ラット単回投与試験では，16.4 mg/m^2 で卵巣，子宮および腟上皮の軽微から軽度の萎縮が認められ，これと関連して卵巣および子宮の相対重量の減少も認められた。ラット 4 週間反復投与試験では 4.07 mg/m^2/週で卵巣，子宮および腟の軽微な萎縮が認められ，これに関連して子宮の小型化ならびに子宮および卵巣の絶対重量の減少が認められた。サル 4 週間反復投与試験では 1.32 mg/m^2/週以上で軽微から重度の卵巣萎縮が認められ，これに関連して 0.36 mg/m^2/週以上で卵巣の絶対および相対重量の減少がみられた。4.20 mg/m^2/週では軽微から軽度の子宮萎縮が認められ，これに関連して 0.36 mg/m^2/週以上で子宮重量が減少した。ラットの卵巣では二次および三次卵胞が減少し，一次卵胞の変性がみられた。ラットおよびサルの子宮の所見として，ラットで子宮筋層，サルで子宮内膜の厚みが減少し，ラットで子宮内膜の高さが減少し，サルで子宮内膜腺が減少した。また，ラット 4 週間反復投与試験では 4.07 mg/m^2/週で腟上皮の層の数が減少し，腟の重量減少と関連していた。同用量の雌 1 例では乳腺の萎縮がみられた。ラットでは 4 週間の休薬期間終了時に，1 例の両側卵巣の黄体内で軽度な単細胞壊死の発生率が増加し，卵巣の絶対および相対重量が減少したが，明らかな卵巣萎縮や子宮重量の減少はみられなかった。サルでは 4 週間の休薬期間終了時に卵巣および子宮の重量減少ならびに卵巣萎縮は回復傾向を示し，子宮萎縮は回復した。サル 26 週間反復投与試験で観察された変化は 0.732 mg/m^2/週での軽微な卵巣萎縮のみであり，ラット 26 週間反復投与試験では雌性生殖器への影響は認められなかった。

26 週間反復投与試験において，ラットの 0.727 mg/m^2/週（AUC_{168} は 64000 ng•h/mL）およびサルの 0.732 mg/m^2/週（AUC_{168} は 90700 ng•h/mL）までの用量で雌性生殖器に毒性所見は認められず，このときの曝露量は最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）のそれぞれ 2.0 倍および 2.8 倍であった。

9.5. 胚・胎児毒性

ラットの受胎能試験ならびにラットおよびウサギの胚・胎児発生試験では，ラットの胎児体重の減少を除き，母動物に毒性が生じる用量においてのみ，胎児に対する影響が認められた。ラット受胎能試験では，0.109 mg/m^2/日で母動物の体重，体重増加量および摂餌量の軽微な減少が認められ，また胚吸収の増加およびそれに伴う生存胚数の減少が観察された。胚・胎児発生試験では，ラットの 0.109 mg/m^2/日およびウサギの 0.145 mg/m^2/日で母動物の体重増加量および摂餌量の軽微な減少が認められた。ラットでは 0.036 mg/m^2/日以上で胎児体重の減少な

らびにそれに関連して胎児の骨化遅延（肋骨，頭蓋骨，胸骨分節および椎骨）が認められ，0.109 mg/m^2/日では上腕骨短小/肥厚，肩甲骨奇形および尺骨奇形の発現例数が増加した。ラットにおけるこれらの胎児の形態への影響は可逆的であり，胎児の成長遅延の結果として生じたものと考えられた[a]。これら以外には胎児の形態にイノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連する変化は認められなかった。ウサギ胚・胎児発生試験では，重要な試験において0.145 mg/m^2/日までの用量で胚・発生毒性は認められなかったが，用量設定試験では0.436 mg/m^2/日で母動物に死亡を含む顕著な毒性所見がみられると同時に胎児体重減少および胎児の死亡が認められた。

胚･胎児発生に関するラットおよびウサギにおけるNOAELはそれぞれ0.011 mg/m^2/日（AUC_{24}は364 ng•h/mL）および0.145 mg/m^2/日（AUC_{24}は13300 ng•h/mL）で，これらの値は最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）の0.08倍および2.9倍であった。

毒性試験で上述したような雌雄生殖器系に対する影響および胚・胎児毒性が観察されていることから，添付文書（案）において「妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には，治療上の有益性が危険を上回ると判断される場合にのみ投与すること。妊娠可能な女性に対しては，治療中及び本剤の最終投与後少なくとも8ヵ月，妊娠可能な女性をパートナーに持つ男性に対しては，治療中及び本剤の最終投与後少なくとも5ヵ月は有効な避妊を行うよう指導すること」と注意喚起する。

9.6. 神経系

ラット4週間反復投与試験で末梢および中枢性軸索の変性が観察されたが，26週間試験では認められなかった。4週間反復投与試験の1.24 mg/m^2/週以上で坐骨神経の軽微な軸索変性がみられ，4.07 mg/m^2/週の雌で頸髄（後索および側索）に，雌雄で三叉神経に，軽微な軸索変性が観察された。4週間の休薬期間終了時には，4.07 mg/m^2/週において坐骨神経の軸索変性は増悪し，頸髄および三叉神経の軸索変性も依然として認められた。さらに同用量では，休薬期間終了時に腰髄の軽微な軸索変性が新たに認められた。サルの単回および反復投与試験では，神経系への影響は認められなかった。

ラット4週間反復投与試験における軸索変性に関するNOAELは0.41 mg/m^2/週（AUC_{168}は50700 ng•h/mL）であり，これは最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）の1.6倍であった。

9.7. 腎臓

ラットおよびサルの単回または反復投与試験において，腎臓への影響が認められた。ラットでは，単回投与試験の16.4 mg/m^2（瀕死例のみ）および4週間反復投与試験の1.24 mg/m^2/週以上で尿細管のタンパク円柱形成（軽微～軽度）が観察されたが，これに随伴する病変が腎臓に認められなかったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。26週間反復投与試験では，0.218 mg/m^2/週以上の雌雄に慢性進行性腎症の発現例数および重症度の増加（軽微～重度）が認められ，これに関連して剖検で腎皮質の淡明化および顆粒状外観が認められた。当該所見がヒトへの外挿性のないラットに特異的な腎症の悪化であるか，イノツズマブ　オ

[a] Kimmel CA, Garry MR, DeSesso JM. Relationship between bent long bones, bent scapulae, and wavy ribs: Malformations or variations? Birth Defects Research (Part B) 2014;101:379-92.

ゾガマイシンによる直接的な影響であるかは明らかでない。サルでは，26 週間反復投与試験において 0.732 mg/m^2/週の雄 1 例を試験 37 日に安楽殺したが，この 1 例ではタンパク喪失を伴う糸球体腎炎が瀕死状態の原因と考えられた。この糸球体腎炎に付随する所見として，尿タンパク，腎尿細管の円柱形成および亜急性全身性血管炎が認められた。糸球体腎炎または全身性血管炎は単回および 4 週間反復投与試験では認められなかった。糸球体腎炎および血管炎の経時変化および病理組織学的特徴から，ADA による免疫複合体の沈着の可能性が考えられる。このサルでは ADA は検出されなかったが，血清中のイノツズマブ　オゾガマイシンにより ADA 検出が妨げられたか，あるいは採血時に ADA 量が少なかったか存在しなかった可能性がある。しかしながら，イノツズマブ　オゾガマイシン投与時に認められた変化であるため，糸球体腎炎が本薬投与に関連した所見である可能性は否定できない。

ラットおよびサルにおける 26 週間反復投与試験の腎臓に関する NOAEL はそれぞれ 0.073 mg/m^2/週（AUC_{168} は 7630 ng•h/mL）および 0.216 mg/m^2/週（AUC_{168} は 21700 ng•h/mL）であり，これは最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）のそれぞれ 0.2 倍および 0.7 倍であった。

9.8. 変異原性，染色体異常誘発性およびがん原性

イノツズマブ　オゾガマイシンの遺伝毒性を評価した結果，染色体異常誘発性が確認されたが変異原性は認められなかった。イノツズマブ　オゾガマイシンは雄マウスにおいて，検討した最低用量である 1.14 mg/m^2 より用量依存的に小核の出現頻度を増加させた。また，イノツズマブ　オゾガマイシンから遊離する細胞毒性物質である N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH は, 細菌を用いた in vitro 復帰突然変異試験および培養ヒトリンパ芽球細胞 TK6 を用いた試験において，それぞれ変異原性および染色体異常誘発性を示した。また，天然に存在するカリケアマイシンであるカリケアマイシンγは DNA を強力に切断する物質であり，配列特異的な二本鎖切断を引き起こすこと[a]，またその作用機序に由来して，in vitro 小核試験および in vitro 染色体異常試験において強力に染色体損傷を誘発することが知られている物質である[b,c]。

イノツズマブ　オゾガマイシンを 26 週間投与したとき, 病理組織学的検査でラット肝臓に前腫瘍性病変または腫瘍性病変を示す用量依存的な所見が認められ，サル 1 例で変異肝細胞巣が認められた。ラットでは，0.727 mg/m^2/週で肝細胞腺腫が，0.073 mg/m^2/週以上で好塩基性または好酸性変異細胞巣（軽微～中等度）およびオーバル細胞の過形成（軽微～中等度）が認められた。肝細胞腺腫ならびに好塩基性および好酸性細胞巣は，剖検で認められた多巣性淡色隆起性の肝臓変色と関連するものであった。オーバル細胞の軽微な過形成は単回投与試験（8.22 mg/m^2 以上）および 4 週間反復投与試験（4.07 mg/m^2/週）でも観察された。サルの 26 週間反復投与試験では，0.732 mg/m^2/週の雌 1 例で変異肝細胞巣が観察された。変異肝細胞

[a] Zein N, Poncin M, Nilakantan R, et al. Calicheamicin γ_1^I and DNA: Molecular recognition process responsible for site-specificity. Science. 1989;244:697-9.

[b] Van Duijn-Goedhart A, Zdzienicka MZ, Sankaranarayanan K, et al. Differential responses of Chinese hamster mutagen sensitive cell lines to low and high concentrations of calicheamicin and neocarzinostatin. Mutation Research. 2000;471:95–105.

[c] Zhou T, Akopiants K, Mohapatra S, et al. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase and the repair of 3’-phosphoglycolate-terminated DNA double-strand breaks. DNA Repair. 2009;8:901-11.

巣はげっ歯類では前腫瘍性病変と考えられるが[a,b]，カニクイザルの自然発生病変としては一般的ではなく[c]，サルにおける発症原因や腫瘍形成との関連は不明である。26 週間反復投与試験では，ラットの 0.218 mg/m^2/週以上およびサルの 0.072 mg/m^2/週以上において，これらの所見と関連して肝細胞核の Ki-67 染色を指標とした肝細胞増殖活性の増加が示された。この増殖活性の増加ならびに前腫瘍性病変および腫瘍性病変は，肝細胞のターンオーバーの増加によるものと考えられ，両動物種の肝臓における遺伝毒性および細胞毒性と符合するものである。ラット 4 週間反復投与試験での 4 週間の休薬期間終了時には，オーバル細胞の過形成（軽微～中等度）が依然として観察され，雄 1 例で明細胞巣が観察された。サルの 4 週間反復投与試験では，4 週間の休薬期間終了時に前腫瘍性病変または腫瘍性病変は認められなかった。

ラット 26 週間反復投与試験では最低用量（0.073 mg/m^2/週；AUC_{168} は 7630 ng•h/mL）から前腫瘍性病変が認められ，これが LOAEL と考えられた。サル 26 週間反復投与試験における前腫瘍性病変または腫瘍性病変に関する NOAEL は 0.216 mg/m^2/週（AUC_{168} は 21700 ng•h/mL）と考えられた。これらの曝露量は最大用量を投与したヒトにおける曝露量（AUC_{168}；32500 ng•h/mL）のそれぞれ 0.2 倍および 0.7 倍であった。

上述したイノツズマブ　オゾガマイシンの遺伝毒性および前腫瘍性/腫瘍性病変については，添付文書（案）の「その他の注意」の項に記載し，注意喚起する。

9.9. その他の所見

ラットまたはサルの単回または反復投与試験において，凝固パラメータ（APTT および PT）に加え，血液生化学的パラメータとしてフィブリノゲン，アルブミン，グロブリン，アルブミン/グロブリン比（A/G 比），グルコース，コレステロール，トリグリセリド，リン，カリウムおよびサイロキシンなどの変化が観察された。病理組織学的所見として，ラットの単回または反復投与試験において肺胞マクロファージの増加が認められた。盲腸，胃および心臓の変化はラット単回投与試験において瀕死状態のラットでのみ観察された。

サル単回投与試験において 4.11 mg/m^2 以上で APTT の軽度から中等度の延長および PT の軽微から軽度の延長が観察された。APTT の変化は用量依存的であったが，投与 7～14 日後に回復または回復傾向が認められた。APTT または PT の変化は，サルの反復投与試験あるいはラットの単回または反復投与試験では認められなかった。フィブリノゲンの増加（軽微～軽度）は，ラットの 4 または 26 週間反復投与試験の 0.727 mg/m^2/週以上ならびにサル単回投与試験の 4.11 mg/m^2 以上および 4 週間反復投与試験の 1.32 mg/m^2/週以上で認められた。アルブミン，グロブリン，A/G 比または総タンパクの軽微な増加または減少は，ラットおよびサルの単回投与試験（ラット 16.4 mg/m^2，サル 4.11 mg/m^2 以上）および 26 週間反復投与試験（ラット 0.727 mg/m^2/週，サル 0.216 mg/m^2/週以上）で認められた。アルブミンおよびグロブリンの変化はサル 4 週間反復投与試験（1.32 mg/m^2/週以上）でも観察された。ラットおよびサルでみ

[a] Goodman DG, Maronpot RR, Newberne PM, et al. Proliferative and selected other lesions of the liver of rats. In: Guides for Toxicology Pathology. STP/ARP/AFIP. Washington, DC. 1994:1-15.

[b] Bannash P, Haertel T, Su Q. Significance of hepatic preneoplasia in risk identification and early detection of neoplasia. Toxicol Pathol. 2003;31:134-9.

[c] Reindel JF, Walsh KM, Toy KA, et al. Spontaneously occurring hepatocellular neoplasia in adolescent cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Vet Pathol. 2000;37:656-62.

られたフィブリノゲンおよび血清タンパクの軽微から軽度の増加は炎症の可能性を示唆するもので，一部の動物では血液学的所見（好中球数および単球数の軽微から軽度の増加）と関連していた。血清タンパクの減少は主に摂餌量の減少によるものと考えられた。フィブリノゲンおよび血清タンパクの変化は，全身性炎症を示唆する病理組織学的所見がみられない，変化の程度が小さい，用量反応性がみられない，あるいは摂餌量の減少に伴う二次的変化であることから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。コレステロール，グルコースまたはトリグリセリドの軽微な減少は，ラットおよびサルの単回投与試験（ラット 8.22 mg/m^2 以上，サル 4.11 mg/m^2 以上）ならびにラットの 4 週間反復投与試験（0.41 mg/m^2/週以上）で観察された。雌ラットで認められたトリグリセリドの減少は，4 週間の休薬期間後も持続した。これらのパラメータの減少は摂餌量の減少によるものと考えられ，毒性学的意義の低い変化と考えられた。無機リンはラットの単回投与試験（8.22 mg/m^2 以上）およびサルの 4 週間反復投与試験（4.20 mg/m^2/週）で減少し，ラットの 4 週間反復投与試験（1.24 mg/m^2/週以上）で増加した。サイロキシンの減少は，ラット単回投与試験（3.06 mg/m^2 以上）ならびにラットおよびサルの 4 週間反復投与試験（ラット 4.07 mg/m^2/週，サル 4.20 mg/m^2/週）で認められた。カリウムの減少はラット単回投与試験（8.22 mg/m^2 以上）で観察された。無機リン，サイロキシンおよびカリウムの変化は軽微から軽度であり，毒性学的意義の低い変化と考えられた。肺胞マクロファージの増加は，ラットの単回投与試験（8.22 mg/m^2 以上）ならびに 4 および 26 週間反復投与試験（それぞれ 0.41 mg/m^2/週以上および 0.727 mg/m^2/週）で観察されたが，軽微な変化であり，毒性学的意義の低い変化と考えられた。心臓の出血，盲腸粘膜の変性および胃主細胞の好酸性変化は，ラットの単回投与試験において，16.4 mg/m^2 群の瀕死状態の個体でのみ認められた。

9.10. 結論

イノツズマブ　オゾガマイシンの毒性プロファイルを，単回投与毒性試験，最長 26 週間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，雌の受胎能着床までの初期胚発生に関する試験，胚・胎児発生試験ならびに組織交差反応性試験を実施して評価した。非結合カリケアマイシン誘導体についても単回投与毒性試験，最長 6 週間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験または光毒性試験を実施した。ラットおよびサルの単回および反復投与試験において，本薬の活性部分である N-Ac-γ-カリケアマイシン DMH の薬理作用である DNA 鎖切断による細胞毒性に起因すると考えられる主要な標的臓器への影響が両動物種の肝臓，リンパ造血系組織および雌雄生殖器で認められた。サルの肝臓で認められた所見は微小血管障害を示唆しており，臨床試験で報告されている VOD/SOS および NRH と形態学的に類似した，これらの病態の初期段階を示すものと考えられる。急性の血小板数減少はイノツズマブ　オゾガマイシン投与による肝臓特異的な内皮の損傷の二次的変化として発生した血小板の捕捉によって生じたと考えられるが，血小板数減少が持続した機序は不明である。イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連した毒性学的に意義のあるその他の所見として，軸索変性がラットの 4 週間反復投与試験で観察される（ただし 26 週間反復投与試験では認められなかった）とともに糸球体腎炎がサルの 26 週間反復投与試験の 1 例で認められ，その結果当該動物は試験 37 日に安楽殺された。糸球体腎炎は ADA 産生と関係していると考えられるが，イノツズマブ　オゾガマイシン投与と直接関連している可能性も否定できない。軸索変性および糸球体腎炎のヒトへの外挿性は不明である。カリケアマイシン誘導体のラットおよびイヌを用いた単回または反復投与毒性試験において，新たな標的臓器毒性は認められなかった。イノツズマブ　オゾガマイシンの単回および反復投与によって，用量依存的な体重または摂餌量の減少が認められた。不耐容の徴候を示す一般状態変化に続く瀕死状態/死亡は，ラット単回投与試験およびサル 26 週間反復投与試験で観察された。ラットで観察された精巣および精巣上体の変化ならびに軸索変性を除き，イノツズマブ　オゾガマイシン投与に関連したすべての標的臓器毒性は，休薬期

間後に回復または回復傾向を示すことが確認された。雌の受胎能に対する影響は認められなかったが，ラットおよびウサギの胚・胎児発生試験において，イノツズマブ　オゾガマイシンは胎児毒性を示した。イノツズマブ　オゾガマイシンは染色体異常誘発性を示した。前腫瘍性病変がラットの単回投与試験ならびに 4 および 26 週間反復投与試験で，肝細胞腺腫がラット 26 週間反復投与試験で，また変異細胞巣がサル 26 週間反復投与試験の 1 例で観察された。ラット 4 週間反復投与試験で認められた前腫瘍性病変は 4 週間の休薬期間後にも持続していた。以上のイノツズマブ　オゾガマイシンの毒性プロファイルは対象とする患者集団（再発または難治性 ALL 患者）においてモニタリング可能であり，臨床的に管理可能または許容可能なリスクであると考えられる。

10. 図表

毒性試験および TK 試験の結果に関する表を 2.6.7 毒性試験の概要表に示す。

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 Toxicology: Overview 2
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 8
2.6.7.3A Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data 10
2.6.7.3B Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data 13
2.6.7.3C Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data 15
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 17
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity 19
2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity 23
2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity 37
2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity 44
2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity 52
2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro 58
2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro 61
2.6.7.8C Genotoxicity: In Vitro 64
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo 66
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies 68
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation 70
2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development 73
2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development 76
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 79

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-05208773

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Studies with Inotuzumab Ozogamacin									
Single-Dose Toxicity									
Acute	Rat/ Sprague-Dawley	IV	1 Day with 2-week observation	0 0.9 3.06 4.38 8.76	0 0.15 0.51 0.73 1.46	0 10 35 50 100	No	Wyeth	RPT-43870
	Rat/ Sprague-Dawley	IV	1 Day with 2-week observation	0 8.22 16.4	0 1.37 2.74	0 100 200	Yes	Wyeth	RPT-46645
	Monkey/ Cynomolgus	IV	1 Day with 2-week observation	0 4.11 8.22 16.4	0 0.34 0.68 1.37	0 25 50 100	Yes	Wyeth	RPT-46644
Repeat-Dose Toxicity[d]									
Pivotal	Rat/ Sprague-Dawley	IV	4 Weeks[e] with 4-week recovery	0 (Saline) 4.01 (Antibody) 0.41[f] 1.24 4.07	0 (Saline) 0.68 (Antibody) 0.07 0.21 0.69	0 (Saline) 0 (Antibody) 5 15 50	Yes	Wyeth	RPT-46910
	Rat/ Sprague-Dawley	IV	26 Weeks[e]	0 0.073[f] 0.218 0.727	0 0.012 0.036 0.121	0 1 3 10	Yes	Wyeth	RPT-65042

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-05208773

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
	Monkey/ Cynomolgus	IV	4 Weeks[e] with 4-week recovery	0 (Saline) 4.08 (Antibody) 0.36 1.32 4.20	0 (Saline) 0.34 (Antibody) 0.03 0.11 0.35	0 (Saline) 0 (Antibody) 2.5 8 25	Yes	Wyeth	RPT-46909
	Monkey/ Cynomolgus	IV	26 Weeks[e]	0 0.072[f] 0.216 0.732	0 0.006 0.018 0.061	0 0.5 1.5 5	Yes	[redacted]	6617-260 (RPT-65773)
Genotoxicity									
Bacterial Mutation	*Salmonella typhimurium* (TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100) *Escherichia coli* (WP2 uvrA)	In Vitro	NA	NA	NA	0.073-7.3 µg/ plate	Yes	[redacted][g]	AA63KV.502002.BTL (RPT-48308)

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-05208773
PF-06649266

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
In Vivo Micronucleus	Mouse/ CD-1	IV	1 Day	0 1.14 2.31 5.04 9.24 18.5	0 0.38 0.77 1.68 3.08 6.16	0 28 56 122.5 225 450	Yes	Wyeth	RPT-47573
Bacterial Mutation with N-Ac-γ-Calicheamicin DMH	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia coli* (WP2*uvr*A pKM101)	In Vitro	NA	NA	NA	Up to 395 µg/plate	Yes	[redacted]	[redacted]-655125 ([redacted]GR143)
Micronucleus with N-Ac-γ-Calicheamicin DMH	TK6 cells	In Vitro	NA	NA	NA	0.00418 to 0.618 ng/mL	Yes	[redacted]	[redacted]-655124 ([redacted]GR142)
Reproductive and Developmental Toxicity									
Female Fertility DRF	Rat/ Sprague-Dawley	IV	2 weeks prior to cohabitation with untreated males until GD 7	0 0.011 0.036 0.109	0 0.0018 0.0061 0.018	0 0.15 0.5 1.5	Yes	Wyeth	RPT-68341

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-05208773

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Female Fertility	Rat/ Sprague-Dawley	IV	2 weeks prior to cohabitation with untreated males until GD 7	0 0.011 0.036 0.109	0 0.0018 0.0061 0.018	0 0.15 0.5 1.5	Yes	Wyeth	RPT-69733
Embryo-Fetal Development DRF	Rat/ Sprague-Dawley	IV	GD 6-GD 17	0 0.036 0.109 0.364	0 0.0061 0.018 0.061	0 0.5 1.5 5	Yes	Wyeth	RPT-67396
Embryo-Fetal Development	Rat/ Sprague-Dawley	IV	GD 6-GD 17	0 0.011 0.036 0.109	0 0.0018 0.0061 0.018	0 0.15 0.5 1.5	Yes	Wyeth	RPT-68342
Embryo-Fetal Development DRF	Rabbit/ New Zealand White	IV	GD 6-GD 19	0 0.015 0.044 0.145 0.436	0 0.0012 0.0036 0.012 0.036	0 0.1 0.3 1 3	Yes	Wyeth	RPT-70227
Embryo-Fetal Development	Rabbit/ New Zealand White	IV	GD 6-GD 19	0 0.015 0.044 0.145	0 0.0012 0.0036 0.012	0 0.1 0.3 1	Yes	Wyeth	RPT-72134

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-05208773

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Other Toxicity Studies									
Blood Compatibility	Rat/ Sprague-Dawley, Monkey/ Cynomolgus, and Human, Whole Blood and Plasma	In Vitro	NA	NA	NA	66.7 µg/mL	No	Wyeth	RPT-46353
Combination study with Neumega[i]	Monkey/ Cynomolgus	IV	1 Day	3.6	0.30	25	No	Wyeth	RPT-63930
Studies with G544 Antibody									
Cross-Reactivity	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Monkey /Cynomolgus, and Human Tissue	In Vitro	NA	5 µg/mL G544 antibody[j]			No	[redacted]	IM795 (RPT-46814)
Cross-Reactivity	Monkey/ Rhesus Tissue	In Vitro	NA	5 µg/mL G544 antibody[j]			No	[redacted]	IM810 (RPT-46813)
Cross-Reactivity	Human Tissue	In Vitro	NA	0.5, 10 µg/mL G544 antibody[j]			Yes	[redacted]	IM1237 (RPT-63271)
Studies with N-Ac-γ-Calicheamicin DMH									
Phototoxicity	BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In Vitro	NA	NA	NA	0.17 to 9.5 µg/mL	Yes	[redacted]	20090641 ([redacted]GR009)

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: PF-06647259

Type of Study	Species/ Strain[c]	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a,b] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a,b] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	GLP Study	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Other Toxicity Studies with an ADC Containing Calicheamicin									
Repeat-Dose with N-Ac-γ-Calicheamicin DMH[m]	Monkey/ Cynomolgus	IV	9 Weeks[n]	0 6	0 0.5	0 20	No	Pfizer WRD	[redacted]GR346

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid, a bifunctional linker; ADC = Antibody-drug conjugate; DMH = Dimethyl hydrazide; DRF = Dose range finding; Equiv. = Equivalent; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; LOAEL = Lowest observed adverse effect level; NA = Not applicable; N-Ac = N-Acetyl; NOAEL = No observed adverse effect level; SC = Subcutaneous; WRD = Worldwide Research & Development.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody protein on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody protein on the basis of mg/m^2 of body surface area. Unless otherwise stated in the study report, doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 3 for mouse, 6 for rat, and 12 for rabbit and monkey.
b. The control group received the vehicle unless indicated otherwise.
c. For studies with rats, some study reports indicate the strain as CD VAF whereas other reports indicate Sprague-Dawley. For consistency within the toxicology tabulated summaries, rats are referred to as Sprague-Dawley.
d. For repeat-dose toxicity studies and pivotal reproductive and developmental toxicity studies with PF-05208773, the NOAEL (if identified) is underlined.
e. 1 dose/week.
f. LOAEL dose; an NOAEL dose was not identified in this study.
g. [redacted]
h. [redacted]
i. Neumega was administered SC at a dose of 125 µg/kg/day for 5 consecutive days beginning approximately 6 hours after a single 25 µg/kg IV dose of PF-05208773.
j. Unconjugated anti-CD22 IgG4 antibody component of PF-05208773.
k. [redacted]
l. [redacted]
m. An ADC (PF-06647259) consisting of a humanized nonbinding IgG1 monoclonal antibody conjugated to N-Ac-γ-Calicheamicin DMH via the AcBut linker.
n. 1 dose/3 weeks

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: PF-05208773

Type of Study	Species	Method of Administration	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent (µg/kg)	GLP Study	Study Number (Sponsor Reference Number)
Single-dose TK	Rat	IV	2.9	0.49	35	No	RPT-46233
			7.68	1.28	100		
Single-dose TK	Monkey	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-46644
			4.11	0.34	25		
			8.22	0.68	50		
			16.4	1.37	100		
4 Weeks[b] with 4-week recovery	Rat	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-46910
			4.01 (Antibody)	0.68	0		
			0.41	0.07	5		
			1.24	0.21	15		
			4.07	0.69	50		
26 Weeks[b]	Rat	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-65042
			0.073	0.012	1		
			0.218	0.036	3		
			0.727	0.121	10		
4 Weeks[b] with 4-week recovery	Monkey	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-46909
			4.08 (Antibody)	0.34	0		
			0.36	0.03	2.5		
			1.32	0.11	8		
			4.20	0.35	25		
26 Weeks[b]	Monkey	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	6617-260 (RPT-65773)
			0.072	0.006	0.5		
			0.216	0.018	1.5		
			0.732	0.061	5		

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: PF-05208773 (continued)

Type of Study	Species	Method of Administration	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent (μg/kg)	GLP Study	Study Number (Sponsor Reference Number)
Fertility	Rat	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-69733
			0.011	0.0018	0.15		
			0.036	0.0061	0.5		
			0.109	0.018	1.5		
Developmental	Rat	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-68342
			0.011	0.0018	0.15		
			0.036	0.0061	0.5		
			0.109	0.018	1.5		
Developmental	Rabbit	IV	0 (Vehicle)	0	0	Yes	RPT-72134
			0.015	0.0012	0.1		
			0.044	0.0036	0.3		
			0.145	0.012	1		

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid; DMH = Dimethyl hydrazide; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; NA = Not applicable; N-Ac = N-Acetyl; TK = Toxicokinetics.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Unless otherwise stated in the study report, doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat and 12 for rabbit and monkey.

b. 1 dose/week.

2.6.7.3A Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Inotuzumab Ozogamicin Steady State AUC[b] (ng•h/mL)				
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent			Rat[d]		Rabbit[d]	Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(µg/kg)	Study Type[c] (Duration)	Study Number	M	F	F	M	F
0.011	0.0018	0.15	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	441	-	-	-
0.011	0.0018	0.15	Development (GD6 to 17)	RPT-68342	-	364	-	-	-
0.015	0.0012	0.1	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	1350	-	-
0.036	0.0061	0.5	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	1720	-	-	-
0.036	0.0061	0.5	Development (GD6 to 17)	RPT-68342	-	1680	-	-	-
0.044	0.0036	0.3	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	4190	-	-
0.072	0.006	0.5	Repeat-Dose (26 Weeks[f])	6617-260[g]	-	-	-	4430	3230
0.073	0.012	1	Repeat-Dose (26 Weeks [f])	RPT-65042	ND[h]	-	-	-	-
0.109	0.018	1.5	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	9670	-	-	-
0.109	0.018	1.5	Development (GD6 to 17)	RPT-68342	-	6900	-	-	-

2.6.7.3A Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Inotuzumab Ozogamicin Steady State AUC[b] (ng•h/mL)				
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent			Rat[d]		Rabbit[d]	Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(µg/kg)	Study Type[c] (Duration)	Study Number	M	F	F	M	F
0.145	0.012	1	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	13300	-	-
0.216	0.018	1.5	Repeat-Dose (26 Weeks[f])	6617-260[g]	-	-	-	23200	20200
0.218	0.036	3	Repeat-Dose (26 Weeks[f])	RPT-65042	20200	-	-	-	-
0.36	0.03	2.5	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46909	-	-	-	33000	20000
0.41	0.07	5	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46910	50700	-	-	-	-
0.727	0.121	10	Repeat-Dose (26 Weeks[f])	RPT-65042	64000	-	-	-	-
0.732	0.061	5	Repeat-Dose (26 Weeks[f])	6617-260[g]	-	-	-	86100	95200
1.24	0.21	15	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46910	182000	160000	-	-	-
1.32	0.11	8	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46909	-	-	-	145000	92800
4.07	0.69	50	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46910	619000	-	-	-	-

2.6.7.3A Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Inotuzumab Ozogamicin Steady State AUC[b] (ng•h/mL)				
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent			Rat[d]		Rabbit[d]	Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(µg/kg)	Study Type[c] (Duration)	Study Number	M	F	F	M	F
4.20	0.35	25	Repeat-Dose (4 Weeks[f])	RPT-46909	-	-	-	628000	576000

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid; AUC = Area under the concentration-time curve; AUC_{24} = AUC from time 0 to 24 hours postdose; AUC_{168} = AUC from time 0 to 168 hours postdose; DMH = Dimethyl hydrazide; F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; N-Ac = N-Acetyl; ND = Not determined.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Unless otherwise stated in the study report, doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat and 12 for rabbit and monkey.
b. AUC_{168} values are presented for the repeat-dose toxicity studies (1 dose/week); AUC_{24} values are presented for the fertility and embryo-fetal development toxicity studies (1 dose/day).
c. Only toxicokinetic data from GLP repeat-dose toxicity studies and GLP fertility and embryo-fetal development toxicity studies are included in this overview table.
d. Data in rats and monkeys from week 4 (Day 22) or week 25 (Day 169) of the 4- or 26-week repeat-dose toxicity studies, respectively. Data in rats from Day 14 of the fertility study. Data in rats and rabbits from GD15 of the embryo-fetal development toxicity studies.
e. Inotuzumab ozogamicin was administered once daily to females 2 weeks prior to cohabitation with males until GD7, or until 1 day prior to scheduled euthanasia for females with no record of copulation.
f. 1 dose/week.
g. Pfizer reference number RPT-65773.
h. Samples below assay limit of quantitation (3.91 ng/mL).

2.6.7.3B Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Total Calicheamicin Steady State AUC[b] (ng•h/mL)				
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent			Rat[d]		Rabbit[d]	Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(μg/kg)	Study Type[c] (Duration)	Study Number	M	F	F	M	F
0.011	0.0018	0.15	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	NA[f]	-	-	-
0.015	0.0012	0.1	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	106	-	-
0.036	0.0061	0.5	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	157	-	-	-
0.044	0.0036	0.3	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	452	-	-
0.072	0.006	0.5	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	6617-260[h]	-	-	-	737	667
0.073	0.012	1	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	RPT-65042	NA[i]	-	-	-	-
0.109	0.018	1.5	Fertility (Pre- to GD7[e])	RPT-69733	-	941	-	-	-
0.145	0.012	1	Development (GD6 to 19)	RPT-72134	-	-	1050	-	-
0.216	0.018	1.5	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	6617-260[h]	-	-	-	3680	3430
0.218	0.036	3	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	RPT-65042	2370	-	-	-	-

2.6.7.3B Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Total Calicheamicin Steady State AUC[b] (ng•h/mL)				
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent	Study Type[c]	Study	Rat[d]		Rabbit[d]	Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(μg/kg)	(Duration)	Number	M	F	F	M	F
0.727	0.121	10	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	RPT-65042	8270	-	-	-	-
0.732	0.061	5	Repeat-Dose (26 Weeks[g])	6617-260[h]	-	-	-	15600	15600

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid; AUC = Area under the concentration-time curve; AUC_{24} = AUC from time 0 to 24 hours postdose; AUC_{168} = AUC from time 0 to 168 hours postdose; DMH = Dimethyl hydrazide; F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; N-Ac = N-Acetyl.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Unless otherwise stated in the study report, doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat and 12 for rabbit and monkey.
b. AUC_{168} values are presented for the repeat-dose toxicity studies (1 dose/week); AUC_{24} values are presented for the fertility and embryo-fetal development toxicity studies (1 dose/day).
c. Only toxicokinetic data from GLP repeat-dose toxicity studies and GLP fertility and embryo-fetal development toxicity studies are included in this overview table.
d. Data in rats and monkeys from week 25 (Day 169) of the 26-week repeat-dose toxicity studies. Data in rats from Day 14 of the fertility study. Data in rabbits from GD15 of the embryo-fetal development toxicity study.
e. Inotuzumab ozogamicin was administered once daily to females 2 weeks prior to cohabitation with males until GD7, or until 1 day prior to scheduled euthanasia for females with no record of copulation.
f. AUC_{24} was calculated using only 1 quantifiable timepoint.
g. 1 dose/week.
h. Pfizer reference number RPT-65773.
i. AUC_{168} was calculated using only 1 quantifiable timepoint.

2.6.7.3C Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Total G544 Antibody Steady State AUC[b] (ng•h/mL)			
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent	Study Type[c] (Duration)	Study Number	Rat[d]		Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(µg/kg)			M	F	M	F
0.072	0.006	0.5	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	6617-260[f]	-	-	6470	6270
0.073	0.012	1	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	RPT-65042	ND[g]	-	-	-
0.216	0.018	1.5	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	6617-260[f]	-	-	24400	32200
0.218	0.036	3	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	RPT-65042	31000	-	-	-
0.36	0.03	2.5	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46909	-	-	25000	19900
0.41	0.07	5	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46910	74400	-	-	-
0.727	0.121	10	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	RPT-65042	109000	-	-	-
0.732	0.061	5	Repeat-Dose (26 Weeks[e])	6617-260[f]	-	-	100000	126000
1.24	0.21	15	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46910	200000	195000	-	-

2.6.7.3C Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data **Test Article: PF-05208773**

Dose[a]					Total G544 Antibody Steady State AUC[b] (ng•h/mL)			
Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent		N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent			Rat[d]		Monkey[d]	
(mg/m^2)	(mg/kg)	(μg/kg)	Study Type[c] (Duration)	Study Number	M	F	M	F
1.32	0.11	8	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46909	-	-	114000	97400
4.07	0.69	50	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46910	654000	-	-	-
4.20	0.35	25	Repeat-Dose (4 Weeks[e])	RPT-46909	-	-	416000	385000

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid; AUC = Area under the concentration-time curve; AUC_{168} = AUC from time 0 to 168 hours postdose; DMH = Dimethyl hydrazide; F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; N-Ac = N-Acetyl; ND = Not determined; TK = Toxicokinetic.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Unless otherwise stated in the study report, doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat and 12 for monkey.
b. AUC_{168} values are presented for the repeat-dose toxicity studies (1 dose/week).
c. Only toxicokinetic data from GLP repeat-dose toxicity studies are included in this overview table.
d. Data in rats and monkeys from week 4 (Day 22) or week 25 (Day 169) of the 4- or 26-week repeat-dose toxicity studies, respectively.
e. 1 dose/week.
f. Pfizer reference number RPT-65773.
g. Samples below assay limit of quantitation (1.56 ng/mL).

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Test Article: PF-05208773

Lot/Batch Number[a]	-------Characteristics------- Protein (mg/vial)	Total Calicheamicin (μg/mg)	--Product-Related Impurities-- Aggregate (%)	Unconjugated Calicheamicin (%)	Drug to Antibody Ratio	Study Number	Type of Study
Proposed Drug Product Specification:	0.85-1.15 mg/vial	65-80 μg/mg of protein	NMT 4%	NMT 4%	5.8-7.2		
L21227-178[b]	3.2 mg/mL	69	<1.0	-	-	RPT-43870	Single-Dose Tolerability in Rat
L21227-188[b]	3.1 mg/mL	65	1.0	-	-		
L21227-191[b]	3.4 mg/mL	72	-	-	-		
PSG2024-062[c]	1.0	73	1.7	0.7	6.5	RPT-46645	Single-Dose Toxicity in Rat
						RPT-46644	Single-Dose Toxicity in Monkey
						RPT-46910	4-Week[d] Toxicity in Rat
						RPT-46909	4-Week[d] Toxicity in Monkey
						RPT-46353	In Vitro Blood Compatibility in Rat, Monkey, and Human Blood
						AA63KV. 502002.BTL[e]	In Vitro Bacterial Mutagenicity
						RPT-47573	In Vivo Micronucleus Mouse
L26718-8[f]	0.98	82.5	0.6	0.6	7.3	RPT-65042	26-Week[d] Toxicity in Rat
						6617-260[g]	26-Week[d] Toxicity in Monkey
						RPT-67396	Dose-Range Finding Developmental Toxicity in Rat
						RPT-68342	Developmental Toxicity in Rat
						RPT-68341	Dose-Range Finding Fertility in Rat
						RPT-69733	Fertility in Rat
						RPT-70227	Dose-Range Finding Developmental Toxicity in Rabbit
						RPT-72134	Developmental Toxicity in Rabbit
						RPT-63930	Single-Dose Toxicity in Combination with Neumega in Monkey

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Test Article: PF-05208773

- = Test not performed; NMT = Not more than.

a. Chronological by batch manufacture date.
b. These batches were manufactured with a high calicheamicin loading for use in nonclinical studies. The specification for protein concentration is not applicable for these lots.
c. Manufactured [redacted] 20[redacted] at Pfizer, Gosport, UK, from Drug Substance batch number 981CMC-002.
d. 1 dose/week.
e. Pfizer reference number RPT-48308.
f. Manufactured [redacted] 20[redacted] at Pfizer, Gosport, UK, from Drug Substance batch number 981CMC-004.
g. Pfizer reference number RPT-65773.

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: PF-05208773

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Doses[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	Number/ Sex/ Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/m^2)	Approx. Lethal Dose (mg/m^2)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous, 1 mL/kg (1% Rat Serum Albumin, PBS) Lots: L21227-178, L21227-188, L21227-191	0[b] 0.9 3.06 4.62 8.34	0[b] 0.15 0.51 0.77 1.39	0[b] 10 35 50 100	3	8.34	>8.34	**≥0.9 mg/m^2:** ↓ Body weight, ↓ body-weight gain, ↓ food consumption, ↓ WBC, ↓ neutrophil, ↓ lymphocyte, ↓ monocyte, ↓ reticulocyte, ↓ glucose, ↓ MCH **3.06 mg/m^2:** ↓ Thyroxine **≥4.62 mg/m^2:** ↑ RBC, ↑ hemoglobin, ↑ hematocrit, ↓ triglyceride ↓ MCV, ↑ total protein, ↑ globulin **8.34 mg/m^2:** ↓ Cholesterol, ↓ inorganic phosphorous, ↓ thyroxine, ↑ AST	RPT-43870/ No

Toxicokinetic Parameters (M/F) (RPT-46233[c]; non-GLP):

Dose (mg/m^2)	2.9		7.68	
Inotuzumab Ozogamicin	M	F	M	F
C_{5min} (ng/mL)	7980	8790	37500	40300
AUC_{inf} (ng•h/mL)	209000	232000	903000	655000
Total Antibody				
C_{5min} (ng/mL)	10000	10600	22500	22000
AUC_{inf} (ng•h/mL)	420000	429000	1190000	643000
Unconjugated Calicheamicin				
C_{5min} (ng/mL)	3.10[d]	3.76[d]	15.5[d]	16.2[d]
AUC_{inf} (ng•h/mL)	10.6[d,e]	9.23[d,e]	257[d,e]	144[d,e]

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: PF-05208773

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Doses[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	Number/ Sex/ Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/m^2)	Approx. Lethal Dose (mg/m^2)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous, 3 mL/kg (2.78% sucrose, 1.67% dextran-40, 0.018% polysorbate 80, 0.54% sodium chloride, 0.449% Tris, sterile water for injection, pH 8) Lot: PSG 2024-062	0[b] 8.22 16.4	0[b] 1.37 2.74	0[b] 100 200	6	8.22	16.4	**≥0 mg/m^2:** Vehicle-related anaphylactoid response (swelling of nose, ears, and/or feet) **≥8.22 mg/m^2:** ↓ Body weight and/or body-weight gain, ↓ food consumption, ↓ RBC, ↓ hemoglobin, ↓ hematocrit, ↓ reticulocyte, ↓ platelet, ↓ WBC, ↓ lymphocyte, ↓ neutrophil, ↓ eosinophil, ↑ ALT, ↓ thyroxine, ↓ inorganic phosphorus, ↓ glucose, ↓ cholesterol, ↓ triglycerides, ↓ potassium, lung (↑ alveolar macrophages), spleen (↓ weight, lymphoid atrophy), liver (↓ absolute weight, ↑ relative weight, hepatic oval cell hyperplasia, ↑ hepatic brown pigment), kidney (↓ absolute weight, ↑ relative weight, focal interstitial fibrosis), adrenal gland (↓ absolute weight, ↑ (M)/↓ (F) relative weight), pituitary gland (↓ absolute weight, ↑ (M)/↓ (F) relative weight), heart (↓ absolute weight, ↑ relative weight), bone marrow (hypocellularity), GALT (lymphoid atrophy), mesenteric lymph node	RPT-46645/ Yes

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: PF-05208773

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Doses[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	Number/ Sex/ Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/m^2)	Approx. Lethal Dose (mg/m^2)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
								(lymphoid atrophy), thymus (↓ weight, lymphoid atrophy), testes (↓ weight, small, testicular tubular degeneration), epididymis (↓ weight, small, hypospermia), prostate (↓ weight, atrophy), male mammary gland (atrophy) **16.4 mg/m^2:** One (1) animal found dead and 3 animals electively euthanized postdose on Day 5 due to test-article related multiple organ toxicity, ↓ MCV, ↑ AST, ↓ total protein, ↓ albumin, ↓ globulin, liver (hepatocellular hypertrophy), kidney (tubular casts), mandibular lymph node (lymphoid atrophy), ovary (↓ weight, atrophy), uterus (↓ weight, atrophy), vagina (atrophy epithelia)	
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous, 2 mL/kg (2.78% sucrose, 1.67% dextran-40, 0.018% polysorbate 80, 0.54% sodium chloride, 0.449% Tris, sterile water for injection, pH 8)	0[b] 4.11 8.22 16.4	0[b] 0.34 0.68 1.37	0[b] 25 50 100	2 (1 for control group)	16.4	>16.4	**≥4.11 mg/m^2:** Emesis, fecal alterations (liquid, mucoid, soft, red pigment, ↓ feces), ↓ food consumption, ↓ platelet, ↓ WBC, ↓ lymphocyte, ↓ monocyte, ↓ neutrophil, ↓ eosinophil, ↓ reticulocyte, ↑ fibrinogen, ↑ PT (except at 8.22 mg/m^2), ↑ APTT, ↓ cholesterol, ↑ ALT, ↑ AST, ↓ total protein, ↓ albumin, ↓ globulin	RPT-46644/ Yes

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: PF-05208773

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m²)	Doses[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Doses[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equiv. (µg/kg)	Number/ Sex/ Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/m²)	Approx. Lethal Dose (mg/m²)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
	Lot: PSG 2024-062							**≥8.22 mg/m²:** ↓ RBC, ↓ hemoglobin, ↓ hematocrit, ↑ total bilirubin, ↓ glucose	

Toxicokinetic Parameters (M/F) (RPT-46644; GLP):

Dose (mg/m²)	4.11		8.22		16.4	
Inotuzumab Ozogamicin	M	F	M	F	M	F
C_{5min} (ng/mL)	18800	16700	35200	37400	66000	64200
AUC_{inf} (ng•h/mL)	260000[f]	246000[f]	449000[f]	718000[f]	1125000	1311000
Total Antibody						
C_{5min} (ng/mL)	61600	61200	11800	14500	22400	22500
AUC_{inf} (ng•h/mL)	310000	290000	649000	800000	1318000	1118000
Unconjugated Calicheamicin	NA[g]	NA[g]	NA[g]	NA[g]	NA[g]	NA[g]

ALT = Alanine aminotransferase; APTT = Activated partial thromboplastin time; AST = Aspartate aminotransferase; AUC_{336} = Area under the concentration-versus-time curve from time zero to 336 hours (14 days); AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinite time; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; DMH = Dimethyl hydrazide; F = Female; GALT = Gut associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; M = Male; MCH = Mean cell hemoglobin, MCV = Mean cell volume; NA = Not applicable; N-Ac = N-Acetyl; PBS = Phosphate-buffered saline; PT = Prothrombin time; RBC = Red blood cell; RDW = Red cell distribution width; Tris = Tromethamine; WBC = White blood cell.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m² of body surface area. Doses in mg/kg were converted to mg/m² using a conversion factor of 6 for rats and 12 for monkeys.

b. Controls received the vehicle.

c. Separate toxicokinetic study conducted in support of the single-dose toxicity study in rats (RPT-43870).

d. Determined from mean concentration-time profiles.

e. AUC_t.

f. AUC_{336}

g. Samples below assay limit of quantitation (70.4 ng/mL).

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity

Report Title: CMC-544: Four Cycle (1 Dose/Week) Intravenous Toxicity Study in Rats With 4-Week Recovery

Test Article: PF-05208773

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: 9 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 4 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks[a]
Method of Administration: Bolus Intravenous injection, once weekly, 2 mL/kg

Study Number: RPT-46910
Lot Number: PSG 2024-062
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 2.78% sucrose, 1.67% dextran-40, 0.018% polysorbate 80, 0.54% sodium chloride, 0.449% Tris, and sterile water for injection/Solution
Special Features: Anti-drug antibody analysis
No Observed Adverse Effect Level: A NOAEL was not achieved in this study.

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m²/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals										
Toxicity	20	20	24	20	19	15	19	19	24	20
Toxicokinetics	0	0	18	0	18	0	18	18	18	0
Toxicokinetics:										
PF-05208773										
C_{5min} (ng/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[c]	1780	NA[c]	3370	5080	19700	NA[c]
Day 22	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[c]	1980	NA[c]	4560	5610	17600	NA[c]
AUC_{168} (ng•h/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[c]	42600	NA[c]	116000	113000	461000	NA[c]
Day 22	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[c]	50700	NA[c]	182000	160000	619000	NA[c]
Total Antibody (G544)										
C_{5min} (ng/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	11900	NA[c]	1140	NA[c]	1910	3010	10600	NA[c]
Day 22	NA[c]	NA[c]	12700	NA[c]	1510	NA[c]	3010	4010	12000	NA[c]
AUC_{168} (ng•h/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	595000	NA[c]	50000	NA[c]	117000	142000	483000	NA[c]
Day 22	NA[c]	NA[c]	815000	NA[c]	74400	NA[c]	200000	195000	654000	NA[c]
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence)[e]										
Toxicokinetics	NA[c]	NA[c]	1/4	NA[c]	0/4	NA[c]	0/4	0/4	1/4	NA[c]

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund										
Toxicity	0	0	1[f]	1[g]	0	0	0	0	1[h]	0
Toxicokinetics	0	0	1[i]	0	0	0	0	0	1[i]	0
Body Weight (g)[j]										
Day 7	336	227	-1	0	-3	-3	-6†	-7†	-12†	-10†
Day 28	407	255	-1	+1	-7†	-5†	-13†	-8†	-26†	-18†
Food Consumption (g/day)[j]										
Day 8	25.59	17.19	-3	+2	-11	-8	-18	-20	-32	-32
Day 28	25.39	18.43	+1	+2	-10	+10	-7	-10	-24	-22
Clinical Observations										
Discolored feces	0	0	0	0	0	7	0	14	8	18
Decreased feces	0	0	0	1	0	1	0	2	0	0
Dehydration	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Dextran-related swelling of nose, paws, and/or ears	0	0	23	17	0	0	3	0	23	14
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology/Coagulation										
Red Blood Cells (10^6/µL)										
Day 6	7.17	7.21	7.05	7.08	7.05	7.25	6.94	7.14	7.17	7.38
Day 14	7.54	7.12	7.34†	7.00	7.34*	7.11	6.95†	6.70†	6.56†	5.97†
Day 21	7.71	7.35	7.74	7.27	7.60	7.14*	7.08†	6.64†	6.14†	5.33†
Day 28	7.87	7.30	7.85	7.27	7.63*	7.11*	6.97†	6.51†	5.68†	4.76†
Hemoglobin (g/dL)										
Day 6	14.5	14.5	14.5	14.4	14.4	14.5	14.2	14.2	14.5	15.0
Day 14	15.2	14.4	15.0	14.2	14.9	14.3	14.4†	13.5†	13.2†	12.0†
Day 21	15.6	14.8	15.7	14.9	15.4	14.5*	14.7†	13.7†	12.5†	11.1†
Day 28	15.4	14.6	15.5	14.7	15.3	14.3	14.4†	13.5†	11.7†	10.4†

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematocrit (%)										
Day 6	44.1	44.2	43.7	44.4	43.6	44.6	43.1	43.9	43.5	45.8
Day 14	45.9	44.0	45.2	44.0	45.3	44.2	43.3†	41.7†	39.9†	36.9†
Day 21	46.5	45.6	47.2	46.1	47.0	44.6	44.7†	42.0†	38.1†	34.0†
Day 28	46.2	44.1	46.8	44.6	46.1	43.5	43.2†	40.9†	35.0†	31.0†
Reticulocytes (10^6/µL)										
Day 6	0.40	0.29	0.39	0.29	0.40	0.29	0.26†	0.12†	0.04†	0.05†
Day 14	0.43	0.36	0.40	0.37	0.40	0.41†	0.41	0.44†	0.21†	0.18†
Day 21	0.38	0.37	0.40	0.38	0.42	0.42*	0.49†	0.54†	0.39	0.38
Day 28	0.35	0.36	0.39	0.32*	0.42†	0.45†	0.55†	0.64†	0.43*	0.47†
White Blood Cells (10^3/µL)										
Day 6	11.4	11.0	13.3*	12.4	12.0	12.0	13.4*	11.8	8.2†	9.1*
Day 14	12.3	9.9	13.6	10.9	13.6	11.9	13.1	12.2	7.3†	7.8*
Day 21	11.8	9.5	13.1	10.9	14.0*	11.1	13.8*	11.8	7.0†	8.1
Day 28	11.9	8.2	12.8	9.6	12.3	10.1*	12.8	10.4*	6.5†	6.6
Neutrophils (10^3/µL)										
Day 6	1.28	1.25	1.43	1.36	1.21	1.18	1.34	1.29	0.60†	0.68†
Day 14	1.35	1.04	1.46	1.23	2.22	1.22	1.82	1.47	1.25*	1.16
Day 21	1.25	1.10	1.36	1.12	1.60	1.13	1.85	1.39	1.39	1.67†
Day 28	1.32	0.88	1.37	0.87	1.23	0.97	2.10	1.24*	1.71	1.90†
Lymphocytes (10^3/µL)										
Day 6	9.43	9.07	11.03*	10.20	9.88	9.97	10.88	9.53	6.60†	7.38*
Day 14	10.10	8.32	11.39	9.08	10.28	9.88	9.98	9.64	5.37†	5.80†
Day 21	9.60	7.88	10.94	9.14	11.27	9.12	10.45	9.20	4.91†	5.44†
Day 28	9.66	6.80	10.65	8.16	10.03	8.34	9.31	8.03	4.22†	3.94†
Eosinophils (10^3/µL)										
Day 6	0.12	0.14	0.14	0.16	0.12	0.16	0.14	0.19	0.11	0.14
Day 14	0.13	0.12	0.13	0.14	0.22†	0.16	0.16*	0.17	0.07†	0.11
Day 21	0.17	0.12	0.15	0.13	0.18	0.15	0.18	0.19*	0.06†	0.11
Day 28	0.15	0.12	0.16	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.06†	0.08

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Platelets (10^3/μL)										
Day 6	1029.9	1128.9	1079.1	1115.0	1178.7†	1219.5	1412.6†	1403.9†	960.0	897.1†
Day 14	1026.6	1137.6	1088.2	1171.1	1205.0†	1254.2*	1401.1†	1420.2†	1513.3†	1632.5†
Day 21	1031.0	1123.6	1076.3	1148.2	1157.6†	1252.9†	1368.8†	1449.8†	1582.7†	1475.0†
Day 28	1009.8	1086.5	1052.6	1036.9	1130.5†	1202.7*	1269.0†	1270.0†	1658.3†	1289.6†
Fibrinogen (mg/dL)										
Day 29	217.9	194.1	219.9	193.1	223.7	199.6	235.9*	206.8	270.2†	207.4
Immunophenotyping (Day 28)										
Lymphocyte Subtype (10^3/μL)										
$CD8^+$ T-lymphocytes	1.71	1.60	NA	NA	1.97	1.83	2.08	1.84	1.26*	1.10*
$CD4^+$ T-lymphocytes	2.96	2.97	NA	NA	3.41	3.38	3.31	3.64	1.83†	1.97*
$CD4^+/CD8^+$ ratio	1.8	1.9	NA	NA	1.8	1.8	1.6	2.0	1.5	1.8
CD45RA+ B-lymphocytes	3.79	2.31	NA	NA	4.64	3.13	3.52	2.41	0.80†	0.79†
Clinical Chemistry										
Alanine Aminotransferase (IU/L)										
Day 6	51.5	44.9	52.6	42.6	59.3*	51.7*	64.3†	57.1†	75.1†	62.5†
Day 14	51.3	48.5	52.9	45.1	64.5†	56.7†	75.1†	69.9†	99.9†	85.1†
Day 21	48.1	45.9	48.7	46.5	60.9†	57.1†	76.9†	72.7†	103.4†	87.4†
Day 28	45.5	41.4	45.1	45.3	56.7†	50.8†	70.0†	67.6†	106.7†	96.9†
Aspartate Aminotransferase (IU/L)										
Day 6	138.3	114.2	145.1	120.7	151.3	131.9	154.4	138.0†	146.8	145.3†
Day 14	143.9	125.0	140.9	132.9	157.7	133.4	161.3	146.8*	166.7*	162.4†
Day 21	140.0	130.6	141.0	140.9	148.6	139.4	158.8	154.3†	185.3†	197.2†
Day 28	133.2	110.4	135.7	119.6	136.1	113.3	158.5†	139.5†	189.7†	187.3†
Alkaline Phosphatase (IU/L)										
Day 6	290.1	193.1	299.6	184.4	325.9	193.3	330.8	213.6	426.9†	281.1*
Day 14	244.8	168.7	248.5	161.7	276.1	160.1	286.9*	188.1	299.6*	196.7
Day 21	215.0	149.7	226.7	147.3	260.4*	155.3	286.8†	180.7	282.1†	188.3
Day 28	202.6	139.1	214.1	135.9	253.5*	160.3	289.9†	185.1*	277.5†	214.7†

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Cholesterol (mg/dL)										
Day 6	64.9	58.2	65.5	63.9	73.1	68.0†	63.1	58.8	63.5	60.3
Day 14	63.9	60.5	64.7	66.0	72.9	74.9†	66.5	68.4*	82.1†	86.5†
Day 21	66.5	65.1	66.6	71.1	78.6*	80.7†	71.7	76.2†	88.0†	93.7†
Day 28	67.1	65.0	66.8	68.7	77.9*	80.4†	73.7*	80.8†	93.0†	89.1†
Glucose (mg/dL)										
Day 6	152.8	153.2	149.1	158.3	143.5*	151.8	138.0†	144.6	135.1†	141.0*
Day 14	147.4	162.4	149.9	154.5	138.8	145.7*	130.6†	137.3†	119.5†	133.2†
Day 21	148.1	148.3	143.0	143.1	136.7	134.3†	135.7*	123.7†	119.7†	121.3†
Day 28	161.9	159.4	146.9	151.9	139.3†	155.9	134.3†	138.1†	120.2†	125.5†
Triglycerides (mg/dL)										
Day 6	215.3	180.5	235.7	144.3	193.3	183.9	184.1	95.3†	82.5†	90.8†
Day 14	229.6	168.5	235.9	136.9	193.4*	149.9	158.4†	110.7*	107.8†	77.2†
Day 21	265.5	189.5	270.1	175.1	212.4*	171.0	209.2†	124.5*	125.1†	100.5†
Day 28	261.7	171.3	289.0	141.7	217.1	136.1	198.7*	115.3*	97.0†	96.2†
Inorganic Phosphorus (mg/dL)										
Day 6	7.7	7.2	7.7	7.3	8.1*	7.5	8.1*	7.4	7.8	7.2
Day 14	8.1	6.6	8.0	6.7	8.2	7.1*	8.3	7.3*	8.4	7.3*
Day 21	7.7	6.3	7.9	6.9*	8.0	7.2†	7.9	7.5†	8.0	7.4†
Day 28	7.5	5.7	7.4	6.1	7.7	6.6†	7.7	7.0†	7.9	7.2†
Thyroxine (μg/dL)										
Day 6	5.6	3.3	5.5	3.7	5.2	3.8	5.2	3.9*	5.1	3.9*
Day 14	5.4	3.6	5.0	3.8	4.6*	4.0	4.7*	4.2	4.2†	3.9
Day 21	5.4	3.5	5.5	3.4	5.1	4.1*	4.9	4.3†	4.6*	3.6
Day 28	5.7	3.8	5.7	3.4	5.4	4.4	5.2*	4.7†	4.5†	4.2
Organ Weights[j]										
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Testes										
Absolute (g)	3.153	NA	+5	NA	-15†	NA	-34†	NA	-69†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.825	NA	+4	NA	-10†	NA	-25†	NA	-59†	NA

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/g brain weight)	1.53	NA	+2	NA	-13†	NA	-33†	NA	-68†	NA
Epididymides										
Absolute (g)	1.142	NA	+5	NA	-2	NA	-22†	NA	-49†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.298	NA	+4	NA	+5	NA	-11†	NA	-33†	NA
Relative (g/g brain weight)	0.56	NA	+2	NA	0	NA	-21†	NA	-48†	NA
Prostate										
Absolute (g)	0.965	NA	+3	NA	-7	NA	-13†	NA	-45†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.252	NA	+3	NA	-1	NA	-1	NA	-27†	NA
Relative (g/g brain weight)	0.47	NA	+1	NA	-5	NA	-12†	NA	-43†	NA
Ovaries										
Absolute (g)	NA	0.090	NA	+1	NA	-3	NA	-10*	NA	-36†
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.037	NA	0	NA	+3	NA	-1	NA	-21†
Relative (g/g brain weight)	NA	0.046	NA	+4	NA	-1	NA	-9	NA	-33†
Uterus										
Absolute (g)	NA	0.435	NA	+10	NA	+11	NA	+19*	NA	-21*
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.179	NA	+8	NA	+19	NA	+31†	NA	-3
Relative (g/g brain weight)	NA	0.22	NA	+13	NA	+14	NA	+21*	NA	-18
Thymus										
Absolute (g)	0.376	0.373	+16	-14	+8	-10	-7	-17	-51†	-57†
Relative (g/100 g body weight)	0.099	0.152	+14	-14*	+14	-5	+5	-8	-35†	-47†
Relative (g/g brain weight)	0.18	0.19	+13	-11	+10	-8	-6	-15	-50†	-55†
Gross Pathology										
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Testes										
Small	0	NA	0	NA	1	NA	7	NA	15	NA
Epididymides										
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	10	NA
Seminal vesicles										
Small	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	2	NA
Prostate										
Small	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Uterus										
Small	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Thymus										
Small	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5
Histopathology										
Number Examined[k]	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Liver										
Extramedullary hematopoiesis										
Slight	0	0	1	0	4	1	3	4	11	14
Hepatocellular hypertrophy										
Mild	0	0	0	0	0	0	8	0	15	15
Oval cell hyperplasia										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	6	11
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hepatocellular degeneration										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1
Karyomegaly										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Bone Marrow										
Atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	NE	1	0	0	2
Mild	0	0	0	0	0	NE	1	0	6	4
Moderate	0	0	0	0	0	NE	0	0	7	0
Necrosis										
Slight	0	0	0	0	0	NE	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	NE	0	0	0	0
GALT										
Atrophy										
Slight	0	0	0	0 (13)	0 (14)	NE	2	0 (14)	3	7
Mild	0	0	0	0 (13)	0 (14)	NE	0	0 (14)	3	3

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Single-cell necrosis										
Slight	0	0	0	0 (13)	0 (14)	NE	0	0 (14)	6	5
Mandibular Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0 (14)	0	0	0 (1)	1	0	0	4
Mild	0	0	0 (14)	0	0	0 (1)	2	0	4	1
Moderate	0	0	0 (14)	0	0	0 (1)	0	0	3	0
Marked	0	0	0 (14)	0	0	0 (1)	0	0	1	0
Mesenteric Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Mild	0	0	0	0	NE	NE	0	0	8	7
Spleen										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	2	3
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0	10	11
Extramedullary hematopoiesis										
Slight	0	3	2	1	1	1	2	4	2	9
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Thymus										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	NE	NE	0	0	2	7
Mild	0	0	0	0	NE	NE	0	0	6	1
Moderate	0	0	0	0	NE	NE	0	0	0	1
Kidney										
Tubular proteinaceous cast										
Slight	0	0	1	0	NE	0/1	1	0	6	1
Mild	0	0	0	0	NE	0/1	0	0	5	0
Testes										
Tubular degeneration										
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	5	NA	0	NA

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA	8	NA
Severe	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	7	NA
Epididymides										
Hypospermia										
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA	0	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	14	NA
Severe	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Prostate										
Atrophy										
Slight	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	1	NA
Mild	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	5	NA
Seminal Vesicles										
Atrophy										
Slight	0	NA	0	NA	0 (1)	NA	0	NA	2	NA
Mild	0	NA	0	NA	0 (1)	NA	0	NA	3	NA
Ovaries										
Atrophy										
Slight	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	7
Mild	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	1
Necrosis										
Mild	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	1
Uterus										
Atrophy										
Slight	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	4
Mild	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	2

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	1
Vagina										
Atrophy										
Mild	NA	0	NA	0	NA	NE	NA	0	NA	2
Mammary Gland										
Atrophy										
Slight	0 (14)	0	0 (13)	0	3 (12)	NE	0	0	0	0
Mild	0 (14)	0	0 (13)	0	5 (12)	NE	1	0	0	0
Moderate	0 (14)	0	0 (13)	0	4 (12)	NE	12	0	1	1
Marked	0 (14)	0	0 (13)	0	0 (12)	NE	1	0	11	0
Severe	0 (14)	0	0 (13)	0	0 (12)	NE	0	0	2	0
Lung										
Alveolar macrophages										
Slight	5	1	3	2	9	13	11 (14)	9	12	15
Mild	0	2	4	1	0	1	2 (14)	3	3	0
Spinal Cord (Cervical)										
Axonal degeneration										
Slight	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3
Sciatic Nerve										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	1	1	0	0	3	4	8	9 (14)
Trigeminal Nerve										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	0	0	NE	NE	0	0	1	1
Postdose Evaluation										
Number Examined	5	5	5	4	0	0	0	0	5	5
Body Weight (g)[j] (Recovery Day 28)	510	284	+1	-1	NA	NA	NA	NA	-23†	-12†
Food Consumption (g/day)[j] (Recovery Day 29)	26.74	19.60	+6	-9	NA	NA	NA	NA	-9	-9

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematology/Coagulation (Recovery Day 29)										
Lymphocytes (10^3/μL)	10.13	7.89	10.91	7.82	NA	NA	NA	NA	9.89	6.83
Reticulocytes (10^6/μL)	0.30	0.22	0.29	0.21	NA	NA	NA	NA	0.33	0.22
RBC (10^6/μL)	8.32	7.81	8.50	7.66	NA	NA	NA	NA	7.34†	7.31*
Hemoglobin (g/dL)	15.2	14.9	15.6	14.6	NA	NA	NA	NA	15.0	15.1
Hematocrit (%)	45.7	44.7	46.5	44.0	NA	NA	NA	NA	45.6	45.8
WBC (10^3/μL)	12.1	9.7	12.9	9.1	NA	NA	NA	NA	13.8	8.3
Neutrophils (10^3/μL)	1.19	0.99	1.15	0.62	NA	NA	NA	NA	2.89†	0.87
Eosinophils (10^3/μL)	0.19	0.15	0.17	0.10	NA	NA	NA	NA	0.25	0.18
Platelets (10^3/μL)	1119.5	891.8	945.0	976.3	NA	NA	NA	NA	1051.3	857.3
Fibrinogen (mg/dL)	207.0	189.0	217.8	191.0	NA	NA	NA	NA	239.4	183.0
Clinical Chemistry (Recovery Day 29)										
ALT (IU/L)	40.8	51.6	44.0	42.3	NA	NA	NA	NA	77.2†	76.2
AST (IU/L)	107.8	113.2	131.6	105.5	NA	NA	NA	NA	145.8*	148.2
Alkaline Phosphatase (IU/L)	150.8	105.0	170.6	98.3	NA	NA	NA	NA	191.6	154.6
Cholesterol (mg/dL)	72.6	70.6	71.8	68.8	NA	NA	NA	NA	81.0	75.2
Glucose (mg/dL)	172.0	184.8	171.4	181.8	NA	NA	NA	NA	152.0	162.8
Triglycerides (mg/dL)	267.4	188.8	362.4	211.8	NA	NA	NA	NA	153.6*	70.8*
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	6.3	5.1	6.6	5.0	NA	NA	NA	NA	6.5	4.8
Thyroxine (μg/dL)	7.7	4.7	7.4	5.0	NA	NA	NA	NA	6.0*	6.6
Organ Weights[j] (Recovery Day 29)										
Number Examined	5	5	5	4	0	0	0	0	5	5
Testes										
Absolute (g)	3.393	NA	-2	NA	NA	NA	NA	NA	-72†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.705	NA	-3	NA	NA	NA	NA	NA	-63†	NA
Relative (g/g brain weight)	1.61	NA	-4	NA	NA	NA	NA	NA	-71†	NA
Epididymides										
Absolute (g)	1.218	NA	+3	NA	NA	NA	NA	NA	-49†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.253	NA	+3	NA	NA	NA	NA	NA	-34†	NA
Relative (g/g brain weight)	0.58	NA	+1	NA	NA	NA	NA	NA	-48†	NA

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ovaries										
Absolute (g)	NA	0.092	NA	+11	NA	NA	NA	NA	NA	-32†
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.0344	NA	+13	NA	NA	NA	NA	NA	-20
Relative (g/g brain weight)	NA	0.047	NA	+9	NA	NA	NA	NA	NA	-32*
Spleen										
Absolute (g)	0.840	0.559	-13	+1	NA	NA	NA	NA	+1	+1
Relative (g/100 g body weight)	0.173	0.21	-15	+2	NA	NA	NA	NA	+31†	+17
Relative (g/g brain weight)	0.40	0.28	-15	-1	NA	NA	NA	NA	+4	+1
Gross Pathology (Recovery Day 29)										
Number Examined	5	5	5	4	0	0	0	0	5	5
Testes: Small	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	5	NA
Histopathology (Recovery Day 29)										
Number Examined	5	5	5	4	0	0	0	0	5	5
Liver										
Hepatocellular hypertrophy										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	5	1
Oval cell hyperplasia										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	3	0
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	4
Moderate	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Single cell necrosis										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	4	5
Karyomegaly										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	5	5
Clear cell focus										
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Mandibular Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen										
Extramedullary hematopoiesis										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Kidney										
Tubular proteinaceous cast										
Slight	1	0	1	0	NA	NA	NA	NA	5	0
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Testes										
Tubular degeneration										
Marked	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Severe	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	4	NA
Epididymides										
Hypospermia										
Marked	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	4	NA
Severe	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Ovaries										
Single-cell necrosis										
Mild	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1
Mammary Gland										
Atrophy										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0
Moderate	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Lung										
Alveolar macrophages										
Slight	1	0	1	0	NA	NA	NA	NA	2	1
Mild	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	1	0
Spinal Cord (Cervical)										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	3	2
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	2	3

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46910 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**5**		**15**		**50**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.68**		**0.07**		**0.21**		**0.69**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.01**		**0.41**		**1.24**		**4.07**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spinal Cord (Lumbar)										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
Sciatic Nerve										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	2	1	NA	NA	NA	NA	1	4
Mild	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	4	1
Trigeminal Nerve										
Axonal degeneration										
Slight	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	5	3

* p ≤0.05, † p ≤0.01; significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{168} = Area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; F = Female; G544 = Anti-CD22 antibody, total antibody; GALT = Gut-associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; NE = Not examined; TK = Toxicokinetics; Tris = Tromethamine.
a. Animals (15/sex/group) were sacrificed after the last dose; 5 animals/sex/group in the saline control, antibody, and 4.07 mg/m^2 groups were maintained for a recovery period of approximately 4 weeks. Additional animals (4/sex at 1.24 mg/m^2, 4 males in the antibody group, and 4 males each at 0.41 and 4.07 mg/m^2) were maintained for a recovery period of 4 weeks for determinations of antibodies to PF-05208773.
b. The dose of the G544 antibody alone is expressed on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. The doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, and as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg of body weight were converted to mg/m^2 of body surface area using a conversion factor of 5.9 for rat.
c. No TK animals were assigned to this group.
d. Samples below assay limit of quantitation (3.91 ng/mL for PF-05208773).
e. For anti-PF-05208773 antibody analysis, blood samples were collected from 4 males in the antibody group and each PF-05208773 group and 4 females from the 1.24 mg/m^2 PF-05208773 group (total of 20 animals) at pretest (Day -2) and on Days 15, 29, 43, and 51.
f. Death was considered accidental and unrelated to PF-05298773.
g. Electively euthanized due to pregnancy; all data from this animal have been disregarded with respect to data interpretation.
h. Death was attributed to an anaphylactoid response from a vehicle constituent (dextran-40) known to induce such reactions in rats; this animal also had PF-05208773-related histologic and hematologic alterations similar to other animals at this dose.
i. Animal died following blood collection on Day 1 of the dosing phase. This was an accidental death.
j. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
k. Fifteen (15)/sex/group examined unless otherwise indicated in parenthesis.

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity

Report Title: CMC-544: Twenty-Six Cycle (1 Dose/Week) Intravenous Toxicity Study in Rats

Test Article: PF-05208773

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: ~7 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 26 Weeks
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Bolus Intravenous injection, once weekly, 1 mL/kg

Study Number: RPT-65042
Lot Number: L26718-8
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 5% sucrose, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection/Solution
Special Features: Anti-drug antibody analysis
No Observed Adverse Effect Level: A NOAEL was not achieved in this study.

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	20
Toxicokinetics	5	0	9	0	9	0	9	0
Toxicokinetics:								
PF-05208773								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[c]	252	NA[c]	806	NA[c]	2760	NA[c]
Day 169	NA[b]	NA[c]	NA[b]	NA[c]	325	NA[c]	2790	NA[c]
AUC_{168} (ng•h/mL)	NA[b]							
Day 1	NA[b]	NA[c]	7630	NA[c]	23700	NA[c]	83900	NA[c]
Day 169	NA	NA[c]	NA[b]	NA[c]	20200	NA[c]	64000	NA[c]
Total Antibody (G544)								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[c]	262	NA[c]	838	NA[c]	4710	NA[c]
Day 169	NA[b]	NA[c]	NA[b]	NA[c]	862	NA[c]	5370	NA[c]
AUC168 (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[c]	9550	NA[c]	31900	NA[c]	142000	NA[c]
Day 169	NA[b]	NA[c]	NA[b]	NA[c]	31000	NA[c]	109000	NA[c]

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Total Calicheamicin								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[c]	21.3	NA[c]	68.1	NA[c]	266	NA[c]
Day 169	NA[b]	NA[c]	3.90	NA[c]	42.4	NA[c]	258	NA[c]
AUC_{168} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[c]	657	NA[c]	2530	NA[c]	9840	NA[c]
Day 169	NA[b]	NA[c]	11.9	NA[c]	2370	NA[c]	8270	NA[c]
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence)[d]	NA	NA	2/5	NA	0/5	NA	0/5	NA
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	1[e]	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	1[f]	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[g]								
Pretest Day 10	262	176	0	+1	+1	+3	0	0
Day 84	533	299	-4*	-2	-5*	-5	-14†	-18†
Day 175	603	334	-4	-3	-6*	-6	-18†	-23†
Food Consumption (g/day)[g]								
Day 84 to 90	25.7	17.9	-3	-1	-4	+1	-13	-10
Day 175 to 181	24.2	17.8	-2	-2	-5	-2	-11	-12
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cells (10^6/µL)								
Day 88	8.77	8.44	8.85	8.19*	8.49	8.05†	7.79†	7.36†
Day 179	8.91	8.25	8.91	8.00	8.41†	7.83†	7.79†	7.39†
Hemoglobin (g/dL)								
Day 88	16.4	16.6	16.6	16.2*	16.3	16.0†	15.6†	15.0†
Day 179	16.2	15.8	15.8*	15.2	15.2†	15.2*	14.6†	14.5†

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematocrit (%)								
Day 88	47.6	47.3	48.3	45.9*	47.6	45.7†	45.2†	42.9†
Day 179	48.7	46.2	47.5	44.9	45.8†	44.7*	43.5†	42.4†
Red Cell Distribution Width (%)								
Day 88	13.8	12.1	13.7	12.0	13.5	12.2	13.9	13.0†
Day 179	14.1	11.9	14.2	12.0	13.9	12.1	15.1†	12.8†
Mean Cell Volume (%)								
Day 88	54.3	56.1	54.8	56.2	56.1†	56.8	58.2†	58.5†
Day 179	54.9	56.2	53.4	56.2	54.6	57.3*	56.0	57.5*
Mean Cell Hemoglobin (%)								
Day 88	18.7	19.6	18.8	19.7	19.3†	19.9	20.1†	20.5†
Day 179	18.3	19.1	17.7	19.0	18.1	19.4	18.8*	19.7†
Reticulocytes (10^6/µL)								
Day 88	225.7	227.8	252.1	224.0	237.9	206.9	153.2†	102.2†
Day 179	236.4	191.7	241.4	190.9	226.1	177.8	204.3†	89.3†
Neutrophils (K/µL)								
Day 88	1.65	1.21	1.71	1.10	1.65	1.15	1.73	1.45†
Day 179	1.43	1.14	1.61	1.71	1.84*	1.17	2.55†	1.77†
Monocytes (10^3/µL)								
Day 88	0.31	0.24	0.28	0.22	0.33	0.24	0.41†	0.30*
Day 179	0.25	0.21	0.26	0.29	0.30	0.22	0.46†	0.29†
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 88	295.0	210.2	304.2*	215.4	285.9	214.5	329.3†	213.8
Day 179	307.4	226.3	338.3†	247.6	372.8†	222.7	495.7†	282.1*
Clinical Chemistry								
Albumin (g/dL)								
Day 88	4.4	5.2	4.6*	5.4	4.6†	5.4	4.4	5.3
Day 179	4.4	5.1	4.3	5.3	4.2	5.1	3.6†	4.6*
Total globulin (g/dL)								
Day 88	2.7	2.5	2.8	2.5	2.9	2.6	2.8	2.6
Day 179	2.7	2.6	3.0†	2.6	3.1†	2.8	3.3†	2.9

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Albumin/Globulin Ratio								
Day 88	1.6	2.1	1.6	2.1	1.6	2.1	1.6	2.1
Day 179	1.6	2.0	1.4†	2.1	1.4†	1.9	1.1†	1.7*
Total Protein (g/dL)								
Day 88	7.1	7.7	7.4†	7.9	7.4†	8.0	7.2	7.9
Day 179	7.1	7.7	7.2	7.9	7.2	7.9	6.9	7.5
Organ Weights[g] (Day 179)								
Number Examined	19	20	20	20	20	20	20	20
Liver								
Absolute (g)	13.54	7.86	+8*	+5	+15†	+8	+3	-2
Relative (g/100 g body weight)	0.0237	0.0248	+12†	+9†	+22†	+14†	+25†	+30†
Testes								
Absolute (g)	3.928	NA	-31†	NA	-38†	NA	-65†	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.00690	NA	-28†	NA	-35†	NA	-58†	NA
Relative (g/g brain weight)	17.4	NA	-30†	NA	-38†	NA	-64†	NA
Gross Pathology (Day 179)								
Number Examined	19	20	20	20	20	20	20	20
Testes								
Small	0	NA	9	NA	12	NA	20	NA
Kidneys								
Cortex Discolored	0	0	0	0	0	0	2	1
Granular Surface	0	0	0	0	0	0	3	1
Liver								
Enlarged	0	0	5	0	8	0	7	0
Discoloration	0	0	1	0	0	2	5	1
Depression	0	0	3	0	6	1	4	7

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology (Day 179)								
Number Examined[h]	19	20	20	20	20	20	20	20
Liver								
Extramedullary hematopoiesis								
Slight	0	9	5	8	8	10	16	18
Mild	0	0	0	0	0	0	1	2
Fibrosis								
Slight	0	0	0	0	3	0	2	0
Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Karyomegaly								
Slight	0	0	0	0	6	1	8	4
Mild	0	0	0	0	0	1	8	8
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	1
Oval cell hyperplasia								
Slight	0	0	0	3	0	1	11	0
Mild	0	0	0	0	0	0	9	12
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	8
Hepatocellular hypertrophy								
Slight	0	0	0	0	10	1	5	4
Mild	0	0	0	0	0	0	8	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	7	4
Angiectasis								
Slight	0	0	1	0	2	0	0	4
Mild	0	0	2	0	4	2	4	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Basophilic Cell Focus								
Slight	0	0	0	0	8	0	5	1
Mild	0	0	0	0	3	0	7	1

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:		**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)		**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)		**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)		**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
	Eosinophilic Cell Focus								
	Slight	0	0	5	0	2	1	6	0
	Mild	0	0	0	0	11	0	10	2
	Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
	Vacuolation								
	Slight	0	0	2	0	9	0	0	0
	Mild	0	0	1	0	2	0	3	0
	Hepatocellular Adenoma	0	0	0	0	0	0	2	1
	Cholangiofibrosis								
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
	Sinusoidal Dilatation								
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	13
Kidney									
	Chronic Progressive Neuropathy								
	Slight	6	3	4	3	9	10	5	11
	Mild	0	0	0	0	0	0	2	3
	Moderate	0	0	0	0	1	0	4	4
	Marked	0	0	0	0	0	0	6	0
Lung									
	Alveolar Macrophages								
	Slight	2	3	NA	NA	NA	5	4	16
Mammary gland									
	Atrophy								
	Slight	0 (18)	0 (18)	5 (18)	NA (0)	1 (17)	NA	1 (16)	0
	Mild	0 (18)	0 (18)	0 (18)	NA (0)	10 (17)	NA	9 (16)	0
	Moderate	0 (18)	0 (18)	0 (18)	NA (0)	0 (17)	NA	2 (16)	0

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-65042 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**1**		**3**		**10**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.012**		**0.036**		**0.121**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.073**		**0.218**		**0.727**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Testes								
Tubular degeneration								
Slight	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	0	NA	2	NA	0	NA	0	NA
Marked	0	NA	6	NA	13	NA	19	NA
Epididymides								
Hypospermia								
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Mild	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Marked	0	NA	8	NA	13	NA	19	NA
Seminal Vesicles								
Decreased Content								
Slight	0	NA	NA (0)	NA	0	NA	5	NA

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$; significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; + = Noteworthy finding present; AUC_{168} = Area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; F = Female; G544 = Anti-CD22 antibody, total antibody; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; NOAEL = No-observed-adverse-effect level; TK = Toxicokinetics; Tris = Tromethamine.
a. The doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, and as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg of body weight were converted to mg/m^2 of body surface area using a conversion factor of 6 for rat.
b. Samples below assay limit of quantitation (3.91 ng/mL for PF-05208773, 1.56 ng/mL for total antibody, and 2.00 ng/mL for total calciheamicin).
c. No TK animals were assigned to this group.
d. For ADA analysis, blood samples were collected from separate satellite groups of males (5/group) given each PF-05208773 dose (total of 15 animals) at pretest (Day -2) and on Days 22, 85, 176, and 197.
e. Death was due to lower urinary tract disease and subsequent septicemia, and considered unrelated to PF-05208773.
f. Animal was electively euthanized due to favoring hind limbs.
g. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
h. Unless otherwise indicated in ( ).

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Report Title: CMC-544: Four Cycle (1 Dose/Week) Intravenous Toxicity Study in Monkeys With 4-Week Recovery

Test Article: PF-05208773

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 2.1 to 4.3 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 4 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks[a]
Method of Administration: Bolus Intravenous injection, once weekly, 1 mL/kg

Study Number: RPT-46909
Lot Number: PSG 2024-062
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 2.78% sucrose, 1.67% dextran-40, 0.018% polysorbate 80, 0.54% sodium chloride, 0.45% Tris, and sterile water for injection/Solution
Special Features: Anti-drug antibody analysis

No Observed Adverse Effect Level: 1.32 mg/m^2/week

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	5	5	3	3	3	3	3	3	5	5
Toxicokinetics:										
PF-05208773										
C_{5min} (ng/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	1350	1310	5440	3590	15600	14100
Day 22	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	1550	1320	4820	4340	13600	13900
AUC_{168} (ng•h/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	6240	7970	51500	38800	314000	282000
Day 22	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	33000	20000	145000	92800	628000	576000
Total Antibody (G544)										
C_{5min} (ng/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	4040	7530	508	426	2020	2100	6830	6090
Day 22	NA[c]	NA[c]	4280	8810	576	497	2160	2290	7110	6820
AUC_{168} (ng•h/mL)										
Day 1	NA[c]	NA[c]	115000	352000	14100	11600	57700	54200	230000	213000
Day 22	NA[c]	NA[c]	225000	509000	25000	19900	114000	97400	416000	385000
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence; Day 29)[d]	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/5	0/5
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption[e]	-	↓ 1(13)	↓ 1(3)	↓ 1(1)	↓ 3(6)	-	↓ 2(4)	↓ 1(2)	↓ 2(12)	↓ 4(10)
Clinical Observations										
Emesis	0	0	1	2	1	1	0	0	3	2
Fecal alterations	3	3	2	1	3	3	1	1	5	3
Decreased feces	0	2	1	2	1	1	1	2	3	5
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation										
Red blood cells (10^6/µL)										
Day -5[f]	6.35	5.99	6.10	6.23	6.28	6.12	6.01	6.20	6.38	6.14
Day 14	6.30	5.81	6.00	6.03	6.05	5.87	5.90	5.89	5.92	5.20*
Day 28	5.94	5.49	5.69	5.82	5.88	5.74	5.40	5.59	5.42†	4.50*
Hemoglobin (g/dL)										
Day -5[f]	11.8	11.5	12.1	11.8	12.0	11.8	11.2	11.8	11.7	11.8
Day 14	11.7	11.2	11.9	11.4	11.6	11.4	11.1	11.3	11.1	10.4
Day 28	11.2	10.7	11.4	11.3	11.4	11.4	10.4	10.9	10.5*	9.4
Hematocrit (%)										
Day -5[f]	39.8	39.6	40.3	40.5	40.8	40.2	37.9	39.5	40.0	40.2
Day 14	39.6	38.5	40.1	39.2	39.0	38.5	38.1	37.7	38.0	34.6†
Day 28	37.8	36.6	37.8	38.1	38.2	38.4	35.0	36.5	35.3*	30.9*
Reticulocytes (10^6/µL)										
Day -5[f]	0.10	0.08	0.08	0.07	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08
Day 14	0.13	0.12	0.11	0.12	0.12	0.13	0.11	0.10	0.09*	0.08*
Day 28	0.11	0.10	0.08	0.10	0.10	0.10	0.07	0.09	0.06†	0.06†
White blood cells (10^3/µL)										
Day -5[f]	12.1	12.6	10.1	8.4	9.5	13.0	10.3	9.4	15.5	10.7
Day 14	11.2	11.8	14.1	10.5	11.0	13.9	11.2	10.0	9.6	7.1*
Day 28	9.7	9.4	8.2	6.7	7.8	10.7	7.6	8.3	7.9	6.2

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lymphocytes (10^3/µL)										
Day -5[f]	8.33	6.72	6.27	4.60	6.13	6.14	6.05	4.98	8.39	6.41
Day 14	6.52	5.12	5.14	4.12	3.60*	5.30	3.95*	3.08	4.38*	2.29†
Day 28	5.64	4.97	3.65	3.26	3.99*	4.83	2.97*	3.22	2.66†	1.80†
Platelets (10^3/µL)										
Day -5[f]	441.4	515.8	532.7	418.7	559.7	524.7	513.0	552.0	508.6	427.6*
Day 14	396.0	508.0	445.0	405.0	509.7	476.0	503.7	582.0	459.2	433.8
Fibrinogen (mg/dL)										
Day -5[f]	223.8	188.8	233.0	206.7	215.7	229.0	280.0	241.7	260.0	215.4
Day 14	210.2	207.8	238.0	212.7	236.0	265.0*	367.7*	267.3†	330.8†	340.4†
Hematology Monitoring										
Platelets										
Day 4 (10^3/µL)	441.8	415.8	477.7	372.7	356.7	263.0	100.7	134.3	119.6	76.8
Day 10 (10^3/µL)	500.2	558.6	581.3	482.3	569.3	484.7	441.7	493.7	385.2	333.8
Clinical Chemistry										
Albumin (g/dL)										
Day -5[f]	4.5	4.6	4.3	4.4	4.5	4.5	4.5	4.3	4.7	4.5
Day 14	4.5	4.6	4.4	4.2	4.3	4.3*	4.2	4.2†	4.1	3.7†
Day 28	4.5	4.6	4.3	4.3	4.4	4.5	4.3	4.2*	4.1*	3.9†
Globulin (g/dL)										
Day -5[f]	3.3	3.3	3.7	3.4	3.3	3.2	3.0	3.1	3.3	3.2
Day 14	3.2	3.4	3.7	3.2	3.5*	3.7	4.2†	3.4	4.2†	4.0*
Day 28	3.2	3.2	3.6	3.1	3.6*	3.7*	4.0†	3.5†	4.5†	4.2†
Inorganic Phosphorus (mg/dL)										
Day -5[f]	6.9	6.2	7.0	6.5	6.2	6.7	7.1	6.3	6.4	6.7
Day 14	7.7	6.9	6.9	7.5	6.9*	7.0	7.0*	6.2	6.5*	5.3†
Day 28	7.5	6.5	6.8	7.0	6.9	6.8	6.8	6.6	6.1	5.7
Blood urea nitrogen (mg/dL)										
Day -5[f]	18.2	19.2	17.7	20.7	18.3	18.3	17.3	19.0	18.4	17.8
Day 14	18.0	17.0	18.0	19.3	17.0	18.7	17.3	16.3	16.0	16.0

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 28	16.8	16.4	17.7	19.0	14.3	15.7	16.7	16.3	15.8	12.4
Thyroxine (µg/dL)										
Day -5[f]	6.4	5.4	5.8	7.5	6.8	7.3	8.0	6.1	7.7	7.0∗
Day 14	5.5	5.0	4.9	6.4	5.5	6.3	5.8	5.8	5.8	5.7
Day 28	5.4	4.7	4.3	6.0	5.4	6.7	6.3	5.3	5.2	4.8
Aspartate aminotransferase (IU/L)										
Day -5[f]	38.4	36.2	49.3	40.0	37.0	40.7	42.0	58.7	39.2	35.4
Day 14	48.2	42.6	39.0	44.3	68.3*	68.7∗	94.3†	92.0†	100.4†	86.8†
Day 28	51.2	41.2	43.0	44.7	71.7	65.3∗	88.7†	90.7†	105.6†	107.2†
Alanine aminotransferase (IU/L)										
Day -5[f]	29.0	38.4	34.3	41.7	42.7	44.0	30.3	40.3	39.8	40.4
Day 14	34.2	39.2	36.0	39.0	57.3	51.3	50.0	76.7	70.0∗	52.4
Day 28	34.8	45.2	41.7	40.3	56.0	57.3	44.7	63.3	63.6∗	48.2
Organ Weights[g]										
Number Examined	NA	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA	3
Ovaries										
Absolute (g)	NA	0.285	NA	-15	NA	-41∗	NA	-21	NA	-49†
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.01126	NA	-17	NA	-43	NA	-21	NA	-46
Relative (g/g brain weight)	NA	0.00462	NA	-21	NA	-39	NA	-25	NA	-50
Uterus										
Absolute (g)	NA	1.6	NA	-17	NA	-35	NA	-50	NA	-37
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.06	NA	-20	NA	-36	NA	-51	NA	-33
Relative (g/g brain weight)	NA	0.026	NA	-23	NA	-33	NA	-53	NA	-39
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology										
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Testes										
Retracted, Sertoli cells										
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Ovaries										
Atrophy										
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Uterus										
Atrophy										
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Mandibular Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Severe	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesenteric Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Thymus										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Mild	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3
Spleen										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Bone Marrow										
Hypocellularity										
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0
Postdose Evaluation										
Number Examined	2	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
Hematology/Coagulation (Recovery Day 25)										
Red blood cells (10^6/μL)	6.20	5.73	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.18	5.53
Hemoglobin (g/dL)	11.8	11.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12.0	11.1
Hematocrit (%)	39.8	37.9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	41.2	37.2
White blood cells (10^3/μL)	14.5	8.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.6	11.5
Lymphocytes (10^3/μL)	8.34	4.89	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.30	3.98
Clinical Chemistry (Recovery Day 25)										
Albumin (g/dL)	4.5	4.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.1	4.0
Globulin (g/dL)	3.2	3.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.7	4.2
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	7.2	6.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.2	5.4
Blood urea nitrogen (mg/dL)	14.5	17.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	18.5	16.0
Thyroxine (μg/dL)	4.6	4.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.7	5.2
Aspartate aminotransferase (IU/L)	57.5	40.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	107.0	89.0
Alanine aminotransferase (IU/L)	36.0	43.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	101.5	78.0

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Organ Weights[g] (Recovery Day 28)										
Number Examined	NA	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2
Ovaries										
Absolute (g)	NA	0.209	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-22
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.00760	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-24
Relative (g/g brain weight)	NA	0.00329	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-28
Uterus										
Absolute (g)	NA	1.55	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-29
Relative (g/100 g body weight)	NA	0.06	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-33
Relative (g/g brain weight)	NA	0.0252	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-36
Histopathology (Recovery Day 28)										
Number Examined	2	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
Ovaries										
Atrophy										
Slight	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Mild	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Mandibular Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Mesenteric Lymph Node										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Thymus										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Spleen										
Lymphoid atrophy										
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	1
Bone Marrow										
Hypocellularity										
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity **Study Number: RPT-46909 (continued)**

Dose[b]:	**Control (Saline)**		**Antibody**		**PF-05208773**					
(μg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0**		**2.5**		**8**		**25**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.34**		**0.03**		**0.11**		**0.35**	
(mg/m^2/week)	**0**		**4.08**		**0.36**		**1.32**		**4.20**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**

* p ≤0.05, † p ≤0.01; significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC = Area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; F = Female; G544 = Anti-CD22 antibody, total antibody; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; NOAEL = No observed adverse effect level; Tris = Tromethamine.

a. Animals (3/sex/group) were sacrificed after the last dose; 2 animals/sex/group in the saline control and 4.20 mg/m^2/week PF-05208773 groups were maintained for a recovery period of approximately 4 weeks.
b. The dose of the G544 antibody protein alone is expressed on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. The doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, and as dose equivalents of the G544 antibody protein on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg of body weight were converted to mg/m^2 of body surface area using a conversion factor of 12 for monkey.
c. Samples below assay limit of quantitation (466 ng/mL for PF-05208773 and 1.56 ng/mL for total antibody).
d. For anti-PF-05208773 antibody analysis, blood samples were collected from all animals at pretest (Days -12 and -5) and on Days 15, 29, 43, and 57.
e. Number of monkeys that had reduced food consumption at least once during the dosing phase; the values in brackets are the average number of days on which reduced food consumption occurred in the affected animals. Food consumption data were not quantitative; reduced food consumption was defined as consumption of ≤1/2 the daily ration. Animals with reduced food consumption received dietary supplements and did not lose weight.
f. In the study report, baseline Day –5 is indicated as baseline Day 11 in computer-generated tables.
g. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity

Report Title: CMC-544: Twenty-Six Cycle (1 Dose/Week) Intravenous Toxicity Study in Monkeys

Test Article: PF-05208773

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: ~2 to 5 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 26 Weeks
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Bolus Intravenous injection, once weekly, 1 mL/kg

Study Number: 6617-260
Lot Number: L26718-8
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 5% sucrose, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, and sterile water for injection/Solution
Special Features: Anti-drug antibody analysis
No Observed Adverse Effect Level: A NOAEL was not achieved in this study.

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics:								
PF-05208773								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	123	156	424	457	2590	1590
Day 169	NA[b]	NA[b]	187	181	614	504	1770	1980
AUC_{168} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	837	1030	4650	6710	24200	22300
Day 169	NA[b]	NA[b]	4430	3230	23200	20200	86100	95200
Total Antibody (G544)								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	149	142	413	429	1530	1450
Day 169	NA[b]	NA[b]	183	183	479	444	1610	1950
AUC_{168} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	1520	1260	5800	11500	27800	32900
Day 169	NA[b]	NA[b]	6470	6270	24400	32200	100000	126000
Total Calicheamicin								
C_{5min} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	12.7	15.2	49.1	40.8	154	129
Day 169	NA[b]	NA[b]	18.5	17.2	57.4	50.7	203	193

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 6617-260 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
AUC_{168} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	87.8	98.3	727	890	2670	2400
Day 169	NA[b]	NA[b]	737	667	3680	3430	15600	15600
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence)	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	1[c]	2[d]
Body Weight (kg)[e]								
Baseline Week 4	2.5	2.5	+4	0	+4	+8	+4	0
Dosing Week 2	2.6	2.6	-	0	-	0	-	-4
Dosing Week 7	2.6	2.6	+4	-	0	-	-8	-
Dosing Week 13	2.7	2.7	-	0	-	0	-	-11
Dosing Week 26	3.1	2.8	+3	0	-3	+4	–13	0
Food Consumption[f]	-	-	-	↓	-	↓	-	↓
Clinical Observations								
Swollen area, (periorbital, muzzle)	0	0	0	0	0	0	3	0
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cells (10^6/µL)								
Day -14	5.87	5.74	5.54	5.78	6.15	5.36	5.57	5.42
Day -22	5.45	5.54	5.44	5.49	5.91	5.29	5.43	5.28
Day 25	5.60	5.45	5.24	5.59	5.72	5.05	5.05*	5.14
Day 88	5.65	5.68	5.48	5.73	5.70	5.04	4.66*	4.59*
Day 179	5.26	5.17	5.12	5.01	5.27	4.60*	4.12*	4.08*
Hemoglobin (g/dL)								
Day -14	13.8	14.1	13.8	14.4	14.6	13.0	13.5	13.0
Day -22	12.8	13.6	13.5	13.6	13.9	13.0	13.2	12.5
Day 25	13.3	13.6	13.2	13.9	13.9	12.6	12.3	12.2*
Day 88	13.1	14.0	13.7	14.5	13.7	12.4	11.5*	11.3*
Day 179	12.5	13.0	12.8	12.6	12.7	11.5*	10.6*	10.4*

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 6617-260 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematocrit (%)								
Day -14	43.9	44.8	43.1	45.4	45.9	41.1	42.4	41.1
Day -22	41.2	42.9	42.6	43.5	45.0	41.2	41.7	40.8
Day 25	42.5	42.4	41.1	43.3	43.4	38.9	38.2*	38.7
Day 88	41.0	42.9	41.6	43.5	42.7	38.5*	35.4*	35.0*
Day 179	38.6	39.5	39.3	38.7	39.6	34.9*	32.6*	31.6*
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Day -14	74.7	78.0	77.8	78.4	74.7	77.2	76.1	75.8
Day -22	75.7	77.5	78.4	79.2	76.2	78.4	76.8	77.2
Day 179	73.4	76.5	76.6	77.1	75.1	76.1	79.2	77.5
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)								
Day -14	23.6	24.7	25.0	24.9	23.7	24.4	24.2	23.9
Day -22	23.5	24.7	24.9	24.8	23.6	24.6	24.3	23.6
Day 179	23.8	25.1	24.9*	25.2	24.0	25.1	25.7*	25.3
Red Cell Distribution Width (%)								
Day -14	13.3	12.9	13.2	12.8	12.9	13.1	12.9	12.7
Day -22	13.8	13.3	13.7	13.3	13.5	13.5	13.1	13.1
Day 25	13.1	13.1	13.2	13.3	14.2	13.7	14.5*	14.5*
Day 88	13.2	12.7	13.3	13.0	13.4	13.5	14.3	14.9
Day 179	13.4	13.0	13.3	13.3	13.6	13.9	14.5	13.6
Platelets (10^3/µL)								
Day -14	477	419	468	430	406	431	467	497
Day -22	502	453	483	452	447	444	454	528
Day 25	468	424	405	469	354	362	261*	416
Day 88	454	408	360*	427	306*	363	282*	354
Day 179	514	483	404	451	312*	347	302*	302
White Blood Cells (10^3/µL)								
Day -14	15.21	14.10	10.65*	16.91	15.79	12.66	10.63*	13.24
Day -22	11.62	13.37	9.63	13.24	14.55	12.05	10.17	13.48
Day 88	12.09	10.40	11.72	15.69	14.18	11.59	7.46	6.62
Day 179	11.25	11.71	11.66	15.30	11.22	9.95	6.46	7.09

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 6617-260 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lymphocytes (10^3/µL)								
Day -14	7.84	7.42	7.40	9.15	9.89	7.24	7.85	7.45
Day -22	6.32	4.24	5.97	6.19	7.89	5.08	6.62	6.41
Day 88	7.82	5.62	7.89	9.21	8.38	6.42	3.92	2.65
Day 179	5.75	5.33	7.34	8.41	6.27	5.45	3.22	2.78
Monocytes (10^6/µL)								
Day -14	0.68	0.42	0.46	0.63*	0.50	0.41	0.38*	0.35
Day -22	0.45	0.29	0.38	0.42	0.47	0.31	0.41	0.32
Day 25	0.51	0.41	0.71	0.77	0.89	1.09*	0.89	0.85
Day 88	0.49	0.32	0.56	0.71*	0.96*	0.94*	0.73*	0.82
Day 179	0.38	0.29	0.50	0.62	0.79*	0.64	0.65*	0.91
Clinical Chemistry								
Albumin (g/dL)								
Day -14	4.5	4.1	4.2	4.1	4.3	4.0	4.3	3.9
Day -22	4.5	4.1	4.2	4.3	4.3	4.1	4.4	4.0
Day 25	4.3	3.9	4.0	4.0	4.1	3.6	3.4	3.7
Day 179	4.5	4.2	4.3	4.4	4.3	4.0	4.0	4.1
Globulin (g/dL)								
Day -14	4.0	3.9	3.6	3.9	3.6	3.9	3.2*	4.0
Day -22	3.8	3.9	3.6	3.9	3.7	3.9	3.3	4.1
Day 25	3.4	3.6	3.6	3.8	3.8	4.1	3.7	4.7
Day 88	3.4	3.6	3.7	4.0	4.0	5.0*	3.8	4.7
Day 179	3.2	3.3	3.5	3.9	3.5	4.4*	3.6*	4.4
Albumin/Globulin Ratio								
Day -14	1.1	1.1	1.2	1.1	1.2	1.1	1.3	1.0
Day -22	1.2	1.1	1.2	1.1	1.2	1.1	1.3	1.0
Day 25	1.3	1.1	1.1	1.1	1.1	0.9	0.9	0.8
Day 88	1.3	1.1	1.1	1.1	1.1	0.8*	1.1	0.8
Day 179	1.4	1.3	1.2	1.1	1.2	0.9*	1.1	0.9
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Day -14	42	42	43	46	43	38	47	44

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 6617-260 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day -22	47	52	46	39	46	43	43	43
Day 25	50	52	65	53	88*	85*	140*	150*
Day 88	59	66	95	75	122*	125*	186*	179*
Day 179	36	43	65	47	86*	94*	143*	173*
Alanine Aminotransferase (U/L)								
Day -14	37	42	35	41	69	35	60	32
Day -22	36	48	36	39	74	39	45	44
Day 25	36	52	33	59	62	50	99*	115
Day 88	37	50	51	45	68*	63	78*	59
Day 179	32	51	48	40	71*	61	66*	60
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	3	2
Histopathology								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	3	2
Liver								
Dilatation, sinusoidal with hepatocellular atrophy								
Minimal	0	0	2	3	0	3	2	1
Slight	0	0	2	0	3	1	1	1
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Hypertrophy, hepatocellular								
Minimal	0	0	0	0	1	2	2	2
Cellular alteration, focal								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Mesenteric Lymph Node								
Decreased cellularity, germinal centers								
Minimal	0	1	0	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 6617-260 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**		**PF-05208773**					
(µg calicheamicin/kg/week)	**0**		**0.5**		**1.5**		**5**	
(mg/kg/week)	**0**		**0.006**		**0.018**		**0.061**	
(mg/m^2/week)	**0**		**0.072**		**0.216**		**0.732**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ovary								
Atrophy								
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Spleen								
Decreased cellularity, germinal centers/ marginal zone								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	0
Thymus								
Decreased cellularity								
Minimal	1	1	1	0	1	3	2	1
Slight	0	0	1	0	0	0	1	0

∗ p ≤0.05; significantly different from control based on pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{168} = Area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours; C_{5min} = Observed concentration at 5 minutes; F = Female; G544 = Anti-CD22 antibody, total antibody; M = Male; NA = Not applicable.
a. The doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, and as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight and on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg of body weight were converted to mg/m^2 of body surface area using a conversion factor of 12 for monkey.
b. Samples below assay limit of quantitation (20.4 ng/mL for PF-05208773, 8.76 ng/mL for total antibody, and 2.00 ng/mL for total calciheamicin) with the exception of 1 female in which values were 189, 129, and 15.3 ng/mL, respectively, on Day 169 at 1 hour postdose.
c. One moribund male electively euthanized on Day 37 after receiving a total of 6 doses. Animal exhibited fluid accumulation in the lower limbs and abdomen, decreased food consumption, pallor, hypoactivity, decreased total protein and albumin, protein in the urine and glomerulonephritis with protein casts in the kidney, and multisystemic subacute vascular inflammation
d. Two moribund females electively euthanized due to decreased food consumption, gradual body weight loss, thin appearance and/or emaciation with muscle wasting on Days 87 or 142 after receiving 13 or 20 doses, respectively.
e. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
f. Food consumption data were not quantitative; decreased food consumption was considered PF-05208773-related and adverse when associated with thin appearance and decreased body weight in females.

2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro

Report Title: CMC-544: Bacterial Reverse Mutation Test with *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia Coli*

Test Article: PF-05208773

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 and *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A pKM101
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: AA63KV.502002.BTL
Lot Number: PSG2024-062
GLP Compliance: Yes
Date of Trea ment: [redacted] 20[redacted] (Initial Assay); [redacted] 20[redacted] (Confirmatory Assay)
S9 Batch Number: Not reported

Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9 mixture (10% S9)
Vehicles: **For Test Article:** Sterile water
For Positive Controls: DMSO, except for sodium azide (diluted with water)
Treatment: Plate incorporation method for the initial assay; preincubation method for the confirmatory assay
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose[a] (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
Without Metabolic Activation						
Sterile water	0.10 mL/plate	12 ± 1	129 ± 10	10 ± 4	6 ± 2	12 ± 1
PF-05208773	0.073	15 ± 5	134 ± 13	10 ± 2	4 ± 1	14 ± 2
	0.22	13 ± 2	123 ± 17	10 ± 4	7 ± 4	10 ± 2
	0.73	12 ± 4	133 ± 16	11 ± 3	4 ± 2	12 ± 2
	2.2	12 ± 2	158 ± 21	13 ± 2	4 ± 2	17 ± 5
	7.3	11 ± 2	166 ± 24	13 ± 3	6 ± 3	18 ± 3
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	1.0	97 ± 6	NT	NT	NT	NT
Sodium Azide	1.0	NT	674 ± 16	231 ± 49	NT	NT
9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	749 ± 213	NT
Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	88 ± 13

2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro

Report Title: CMC-544: Bacterial Reverse Mutation Test with *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia Coli*

Test Article: PF-05208773

Test Article	Dose[a] (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
With Metabolic Activation						
Sterile water	0.10 mL/plate	20 ± 4	183 ± 15	14 ± 4	8 ± 2	14 ± 6
PF-05208773	0.073	16 ± 1	181 ± 7	11 ± 3	5 ± 1	13 ± 1
	0.22	19 ± 4	181 ± 22	14 ± 1	6 ± 1	14 ± 4
	0.73	17 ± 3	152 ± 31	12 ± 1	5 ± 3	19 ± 3
	2.2	19 ± 4	195 ± 8	15 ± 4	4 ± 1	21 ± 8
	7.3	16 ± 2	167 ± 15	11 ± 3	6 ± 2	18 ± 4
Positive Controls						
2-Aminoanthracine	1.0	549 ± 143	815 ± 85	136 ± 15	90 ± 8	NT
	10	NT	NT	NT	NT	611 ± 96
		Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
Without Metabolic Activation						
Sterile water	0.10 mL/plate	15 ± 3	141 ± 17	19 ± 8	8 ± 2	14 ± 2
PF-05208773	0.073	14 ± 3	127 ± 25	18 ± 6	8 ± 2	13 ± 3
	0.22	12 ± 2	123 ± 16	13 ± 2	4 ± 1	15 ± 2
	0.73	15 ± 4	153 ± 27	14 ± 3	7 ± 0	15 ± 6
	2.2	15 ± 3	142 ± 10	13 ± 3	7 ± 2	20 ± 3
	7.3	14 ± 4	141 ± 17	13 ± 2	11 ± 2	17 ± 2
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	1.0	335 ± 13	NT	NT	NT	NT
Sodium Azide	1.0	NT	800 ± 141	410 ± 36	NT	NT
9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	410 ± 103	NT
Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	434 ± 115

2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro

Report Title: CMC-544: Bacterial Reverse Mutation Test with *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia Coli*

Test Article: PF-05208773

Test Article	Dose[a] (µg/plate)	Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
With Metabolic Activation						
Sterile water	0.10 mL/plate	21 ± 6	138 ± 4	16 ± 4	9 ± 1	17 ± 4
PF-05208773	0.073	20 ± 1	162 ± 4	14 ± 3	9 ± 2	21 ± 2
	0.22	20 ± 4	176 ± 18	16 ± 6	7 ± 4	19 ± 9
	0.73	21 ± 3	163 ± 12	16 ± 4	10 ± 1	17 ± 5
	2.2	21 ± 2	183 ± 7	11 ± 3	11 ± 1	18 ± 1
	7.3	21 ± 2	153 ± 16	20 ± 4	11 ± 3	23 ± 7
Positive Controls						
2-Aminoanthracine	1.0	629 ± 98	661 ± 69	189 ± 22	175 ± 33	NT
	10	NT	NT	NT	NT	258 ± 55

DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Doses of PF-05208773 expressed as µg calicheamicin equivalents/plate.

2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro

Report Title: PF-06649266: *Salmonella-E. coli* Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: PF-06649266 (N-Ac γ-Calicheamicin DMH)

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 and *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A pKM101
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture (7.5% S9)
Vehicles: **For Test Article:** DMSO, **For Positive Controls:** DMSO
Treatment: Plate incorporation for 48 hours with and without metabolic activation
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: [redacted]-655125
Lot Number: 00706183-0156
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3420
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: >50% reduction in mean revertant colonies and/or background lawn at ≥6.17 µg/plate in TA100, TA1535 without S9; ≥12.3 µg/plate in TA100, TA1535 with S9 and TA98 without S9; ≥24.7 µg/plate in TA1537 without S9; ≥49.4 µg/plate in TA1537, TA98 with S9; 395 µg/plate in WP2 *uvr*A pKM101 with and without S9

Genotoxic Effects: Increase in mean number of revertant colonies at ≥3.09 µg/plate (≥2.3-fold increase) in WP2 *uvr*A pKM101 -S9 and at ≥12.3 µg/plate (≥2.4-fold increase) in WP2 *uvr*A pKM101 +S9

Test Article	Dose (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	23 ± 7	80 ± 7	12 ± 1	8 ± 2	211 ± 16
PF-06649266	0.0121	24 ± 2	82 ± 17	10 ± 2	11 ± 2	242 ± 5
	0.0241	28 ± 4	81 ± 12	10 ± 0	9 ± 1	232 ± 23
	0.0482	25 ± 6	73 ± 8	14 ± 6	10 ± 2	230 ± 9
	0.0964	31 ± 8	87 ± 14	9 ± 4	8 ± 4	200 ± 7
	0.193	29 ± 7	90 ± 22	14 ± 2	9 ± 4	234 ± 31
	0.386	34 ± 1	83 ± 14	14 ± 3	10 ± 4	268 ± 20
	0.771	29 ± 1	66 ± 10	14 ± 4	7 ± 4	324 ± 24
	1.54	25 ± 9	72 ± 13	12 ± 4	8 ± 0	358 ± 31
	3.09	17 ± 8	56[a] ± 7	12[a] ± 2	7 ± 2	492 ± 48
	6.17	18 ± 9	66[b] ± 9	10[b] ± 2	5 ± 1	608 ± 56
	12.3	10[a,c] ± 6	28[b] ± 10	4[b] ± 2	9[a] ± 4	817 ± 44
	24.7	8[a,c] ± 4	0[b] ± 0	0[b] ± 0	7[b] ± 2	983 ± 55
	49.4	9[b] ± 2	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 1	984 ± 43
	98.8	1[b] ± 1	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	1053 ± 19
	198	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	1093[a] ± 37
	395	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	1034[b] ± 59

2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro **Study Number: [redacted]-655125 (continued)**

Test Article	Dose (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
Without Metabolic Activation						
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	485 ± 50	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	269 ± 48	395 ± 27	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	284 ± 29	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	5608 ± 150
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	24 ± 4	82 ± 9	13 ± 4	10 ± 9	285 ± 27
PF-06649266	0.0121	26 ± 2	82 ± 7	8 ± 5	7 ± 6	236 ± 30
	0.0241	26 ± 3	86 ± 11	11 ± 4	8 ± 2	281 ± 21
	0.0482	26 ± 3	90 ± 9	13 ± 4	10 ± 4	289 ± 14
	0.0964	33 ± 7	90 ± 28	15 ± 2	7 ± 1	256 ± 36
	0.193	28 ± 2	84 ± 20	15 ± 1	8 ± 2	290 ± 51
	0.386	29 ± 4	71 ± 13	11 ± 1	8 ± 4	255 ± 11
	0.771	34 ± 5	74 ± 10	12 ± 5	7 ± 4	317 ± 10
	1.54	27 ± 5	69 ± 20	11 ± 2	7 ± 2	355 ± 56
	3.09	25 ± 1	66 ± 10	13 ± 4	7 ± 3	392 ± 38
	6.17	27 ± 6	58[a] ± 12	11[a] ± 2	9 ± 6	487 ± 46
	12.3	17 ± 1	23[b] ± 4	6[b] ± 2	11 ± 3	676 ± 10
	24.7	16[a] ± 2	0[b] ± 0	1[b] ± 1	8[a] ± 3	786 ± 27
	49.4	15[b] ± 3	0[b] ± 0	0[b] ± 0	2[b] ± 1	832 ± 34
	98.8	9[b] ± 4	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	907 ± 26
	198	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	1063[a] ± 59
	395	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	0[b] ± 0	1032[b] ± 48

2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro **Study Number: [redacted]-655125 (continued)**

Test Article	Dose (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvr*A pKM101
With Metabolic Activation						
Positive controls						
2-Aminoanthracene	2.5	3240 ± 260	677 ± 171	88 ± 13	131 ± 31	NT
2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	2185 ± 215

Criteria for significance: 2-fold (TA 98, TA 100, and WP2 *uvr*A pKM101) and 3-fold (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMH = Dimethyl hydrazide; DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; N-Ac = N-Acetyl; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Slightly reduced background lawn.
b. Cytotoxicity: Reduced background lawn.
c. Cytotoxicity: >50% reduction in mean number of revertant colonies.

2.6.7.8C Genotoxicity: In Vitro

Report Title: PF-06649266: In Vitro Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: PF-06649266 (N-Ac γ-Calicheamicin DMH)

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 Lymphoblastoid Cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: Test Article: DMSO **Positive Controls:** DMSO
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000
Study Number: [redacted]-655124
Lot Number: 00706183-0156
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3420 and 3456
Date(s) of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Treatment: 4-hour treatment without metabolic activation, 4-hour treatment with metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation
Cytotoxic Effects: 37% reduction in RPD at 0.198 ng/mL in the 4-hour treatment without metabolic activation; 49% at 0.0989 ng/mL in the 27-hour treatment without metabolic activation; and 36% at 0.618 ng/mL in the 4-hour treatment with metabolic activation.
Genotoxic Effects: Statistically significant increase in the percent of micronucleated mononucleate cells at 0.198 ng/mL in the 4-hour treatment without metabolic activation; 0.0417 and 0.0989 ng/mL in the 27-hour treatment without metabolic activation; and 0.395 and 0.618 ng/mL in the 4-hour treatment with metabolic activation.

Test Article	Dose (ng/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.90	NA	NA
PF-06649266	0.0556	2000	6.76	0.75	0.3636	<0.01†
	0.0989	2000	18.73	1.15	0.2653	
	0.198	2000	37.22	1.95	<0.01*	
Mitomycin C	0.125 µg/mL	2000	4.66	1.80	<0.01*	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.70	NA	NA
PF-06649266	0.0989	2000	3.85	0.95	0.2425	<0.01†
	0.395	2000	24.29	1.75	<0.01*	
	0.618	2000	36.40	1.90	<0.01*	
Cyclophosphamide	11.9 µg/mL	2000	43.43	2.15	<0.01*	NA
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.80	NA	NA
PF-06649266	0.00418	2000	0.03	1.10	0.2077	<0.01†
	0.0417	2000	20.85	4.10	<0.01*	
	0.0989	2000	49.26	5.15	<0.01*	
Vinblastine Sulfate	0.0030 µg/mL	2000	41.00	3.15	<0.01*	NA

2.6.7.8C Genotoxicity: In Vitro **Study Number: [redacted]-655124 (continued)**

* p ≤0.01, significantly different from control based on Fishers Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
† p ≤0.01, significant for trend based on Cochran-Armitage Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
DMH = Dimethyl hydrazide; DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MN = Micronucleated cells; N-Ac = N-Acetyl; NA = Not applicable;
RPD = Relative population doubling; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Toxicity = (100-RPD), where RPD = (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.
b. % MN = % Micronucleated Mononucleates = (the total number of micronucleated mononucleates/ the total number of mononucleates analyzed).
c. P value based on a Fisher's Exact test. <0.05 = significant. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
d. Trend: A Cochran-Armitage test was performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo

Report Title: CMC-544: Single Dose Intravenous Bone Marrow Micronucleus Study in Male Mice

Test Article: PF-05208773

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei
Species/Strain: Mouse/CD-1
Age: Approximately 8 weeks
Cells Evaluated: PCE

Treatment Schedule: Single dose
Sample Time: 47 ± 1 hours after dosing
Method of Administration: Intravenous, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 2.78% sucrose, 1.67% dextran-40, 0.018% polysorbate 80, 0.54% sodium chloride, 0.449% Tris, sterile water, and 0.9% sterile saline

Study Number: RPT-47573
Lot Number: PSG2024-062
GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (controls dosed [redacted] 20[redacted])

Number of Cells Analyzed/Animal: 1000 mPCE/animal in initial evaluation; 2000 mPCE/animal in coded evaluation.
Special Features: None
Toxic/Cytotoxic Effects: No unscheduled deaths or clinical signs of severe toxicity. Bone marrow toxicity (reduced percentage of PCEs among total erythrocytes compared with controls) at ≥9.24 mg/m^2 (≥225 µg/kg calicheamicin equivalents).
Genotoxic Effects: A significant and dose responsive increase in the frequency of mPCEs in mice at all doses examined. The positive response in the assay was expected and is consistent with the induction of DNA breaks by the calicheamicins and other enediyne antitumor antibiotics.
Evidence of Exposure: Positive finding for mPCEs, and at high doses, a decrease in percentage of PCEs.

Test Article	Dose[a]			Number/ Sex/Group	PCE (%) Mean ± SD	mPCE/Total PCE Scored[b]
	Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	(mg/kg)	N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent (µg/kg)			
Initial Evaluation						
Control (Vehicle)	0	0	0	4M	46.88 ± 5.14	5/4000
PF-05208773	1.14	0.38	28	4M	47.25 ± 2.84	20/4000
	2.31	0.77	56	4M	36.00 ± 11.92	51/4000
	5.04	1.68	122.5	4M	35.63 ± 16.54	100/4000
	9.24	3.08	225	4M	13.25 ± 3.93	NT
	18.5	6.16	450	4M	11.75 ± 5.58	NT

2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo

Report Title: CMC-544: Single Dose Intravenous Bone Marrow Micronucleus Study in Male Mice

Test Article: PF-05208773

Test Article	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/m^2)	Dose[a] Protein (G544 Antibody) Dose Equivalent (mg/kg)	Dose[a] N-Ac-Gamma Calicheamicin DMH AcBut Dose Equivalent (µg/kg)	Number/ Sex/Group	PCE (%) Mean ± SD	mPCE (%) Mean ± SD	mPCE/Total PCE Scored[d]
Coded Evaluation[c]							
Control (Vehicle)	0	0	0	4M	48.30 ± 6.15	0.075 ± 0.065	6/8000
PF-05208773	1.14	0.38	28	4M	48.98 ± 2.11	0.575 ± 0.328*	46/8000
	2.31	0.77	56	4M	46.30 ± 5.26	1.088 ± 0.531*	87/8000
	5.04	1.68	122.5	4M	46.05 ± 4.56	1.938 ± 0.320*	155/8000

* $p \leq 0.050$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

DMH = Dimethyl hydrazide; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; mPCE = Micronucleated PCEs; N-Ac = N-Acetyl; NT = Not Tested; PCE = Polychromatic erythrocytes; SD = Standard deviation; Tris = Tromethamine.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 3 for mouse.

b. 1000 PCEs/animal.

c. Due to the high proportion of mPCEs in the PF-05208773-treated groups, a positive control group was not necessary to show that the test was able to detect an exposure to a clastogenic agent.

d. 2000 PCEs/animal.

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies

Test Article: PF-05208773

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)/ Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses (mg/m^2/day)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous, QD, 2 mL/kg (5% sucrose extrapure, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection/solution) Lot L26718-8	2 weeks prior to cohabitation with untreated males until GD 7	0 (vehicle)[a] 0.011 0.036 0.109	10F	**≥0.036 mg protein/m^2:** ↓ Food consumption (during gestation) **0.109 mg protein/m^2:** ↓ Body weight, ↓ body weight gain, ↓ corpora lutea, ↓ implantations, ↓ viable embryos, ↓ gravid uterine weight	RPT-68341/ Yes
Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous, QD, 2 mL/kg (5% sucrose extrapure, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection/solution) Lot L26718-8	GD 6-17	0 (vehicle)[b] 0.036 0.109 0.364	10F	**≥0.109 mg protein/m^2:** ↓ Body weight gain, ↓ gravid uterine weight, partial litter loss (early resorptions), ↓ viable fetal weight, ↓ embryo viability **0.364 mg protein/m^2:** ↓ Food consumption, complete litter loss (early resorptions)	RPT-67396/ Yes
Rabbit/ New Zealand White	Intravenous, QD, 2 mL/kg (5% sucrose extrapure, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection/solution) Lot L26718-8	GD 6-19	0 (vehicle)[c] 0.015 0.044 0.145 0.436	8F	**≥0.044 mg protein/m^2:** Euthanasia[d], ↓ body weight gain **≥0.145 mg protein/m^2:** ↓ Feces, ↓ food consumption **0.436 mg protein/m^2:** Mortality[e], red pigment on drop pan, ↓ mean final body weight, ↓ fetal viability, ↓ fetal weight, ↓ gravid uterine weight, ↑ resorptions, ↑ post-implantation loss, ↓ mean fetal weight, ↑ incidence of discolored placentae	RPT-70227/ Yes

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies

Test Article: PF-05208773

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)/ Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses (mg/m^2/day)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance

F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; QD = Once daily; Tris = Tromethamine.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. In the study report, doses are also expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight (0, 0.15, 0.5, and 1.5 μg/kg, respectively). Doses were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat.

b. Doses of PF-05208773 are expressed as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. In the study report, doses are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight (0, 0.5, 1.5, and 5 μg/kg, respectively). Doses were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rat.

c. Doses of PF-05208773 are expressed as dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. In the study report, doses are also expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight (0, 0.1, 0.3, 1, and 3 μg/kg, respectively). Doses were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 12 for rabbit.

d. One (1) doe electively euthanized on GD 24 due to apparent trauma on that day that resulted in favoring of both hind limbs.

e. One (1) doe that displayed liquid feces with red pigment and feces adhered to fur was found dead on GD 15. Postmortem examination revealed red discoloration of the external walls of the vagina and colon, liquid feces in the colon, and irregular surface of the spleen. Although a cause of death could not be determined, a relationship to treatment with PF-05208773 could be ruled out.

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Report Title: CMC-544: Intravenous Fertility Study in Female Rats

Test Article: PF-05208773

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: ~12 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Dosing Period: 3 to 6 Weeks (2 weeks prior to cohabitation with untreated males until GD 7)
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 12
Method of Administration: Intravenous, QD, 2 mL/kg
Vehicle/Formulation: 5% Sucrose, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection, and 0.9% sterile saline

Study Number: RPT-69733
Lot Number: L26718-8
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
Female Fertility and Early Embryonic Development: 0.036 mg/m^2/day

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.15**	**0.5**	**1.5**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0018**	**0.0061**	**0.018**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.011**	**0.036**	**0.109**
Sex	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals				
Toxicity	25	25	25	25
Toxicokinetics	3	6	6	6
Toxicokinetics (Day 14)				
PF-05208773				
C_{5min} (ng/mL)	NA[b]	33.6	126	626
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	441	1720	9670
Total Calicheamicin				
C_{5min} (ng/mL)	NA[b]	1.83	11.0	54.4
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	5.58	157	941
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence)[c]				
Toxicokinetics (Day 42)	0/3	2/6	2/5	5/6
Treated F_0 Females				
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation **Study Number: RPT-69733 (continued)**

Dose[a]:	Control (Vehicle)	PF-05208773		
(μg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.15**	**0.5**	**1.5**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0018**	**0.0061**	**0.018**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.011**	**0.036**	**0.109**
Premating Body Weight Gain (g)[d] (PMD 1 to PMD 14)	8.08	+17	-34	-86
Gestation Body Weight Gain (g)[d] (GD 0 to GD 11)	60.09	-4	0	-7
Premating Body Weight (g)[d] (PMD 15)	250.20	+1	-1	-2
Gestation Body Weight (g)[d] (GD 12)	314.82	0	-2	-4
Gestation Food Consumption (g/day)[d] (GD 0 to GD 7)	22.61	0	-5	-9
Number of Females Mated (Confirmed)	24	25	25	25
Number of Pregnant Females	22	23	23	22
Mean Gravid Uterus Weight (g)	6.32	6.57	6.09	5.27
Estrous Cycle Length	-	-	-	-
Mating Index	-	-	-	-
Fertility Index	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations (GD 12)				
Number Evaluated	22	23	23	22
Mean Number Corpora Lutea	16.68	16.52	17.00	15.91
Mean Number Implantations	15.18	15.96	15.70	15.14
Mean % Preimplantation Loss	9	3	7	5
Mean % Postimplantation Loss	3	1	3	8
Total Number of Resorptions	10	4	10	25
Litters from Treated F_0 Females (GD 12)				
Total Number of Litters Evaluated	22	23	23	22
Mean Number Live Embryos	14.73	15.78	15.26	14.00*
Mean Number Resorptions	0.45	0.17	0.43	1.14
Mean Number Dead Embryos	0.00	0.00	0.00	0.00
Mean % Resorbed	3	1	3	8†

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation **Study Number: RPT-69733 (continued)**

Dose[a]:	Control (Vehicle)	PF-05208773		
(μg calicheamicin/kg/day)	0	0.15	0.5	1.5
(mg/kg/day)	0	0.0018	0.0061	0.018
(mg/m^2/day)	0	0.011	0.036	0.109

* p ≤0.05; † p ≤0.01; statistical significance was determined by Jonckheere's or nonparametric one-way analysis of variance tests.
ADA = Anti-drug antibody; AUC = Area under the concentration-versus-time curve; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonization; NA = Not applicable; PMD = Premating day; QD = Once daily; Tris = Tromethamine.
a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of μg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rats.
b. Samples below assay limit of quantitation (3.91 ng/mL for PF-05208773 and 2.00 ng/mL for total calciheamicin).
c. For ADA analysis, blood samples were collected from all TK animals (total of 21 animals) on Days -1 and 42, and from 3 TK animals/group, including controls, (total of 12 animals) at 5 minutes after dosing on Day 14.
d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development

Report Title: CMC-544: Intravenous Developmental Toxicity Study in Rats

Test Article: PF-05208773

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: 9-11 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal Females: 0.036 mg/m^2/day
Fetuses: 0.011 mg/m^2/day

Dosing Period: GD 6 to GD 17
Day of Mating: Day 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Intravenous, QD, 2 mL/kg
Vehicle/Formulation: 5% Sucrose, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection, and 0.9% sterile saline

Study Number: RPT-68342
Lot Number: L26718-8
GLP Compliance: Yes

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.15**	**0.5**	**1.5**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0018**	**0.0061**	**0.018**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.011**	**0.036**	**0.109**
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	25	25	25	25
Toxicokinetics	9	9	9	9
Toxicokinetics (PF-05208773) (GD 15)				
C_{5min} (ng/mL)	NA[b]	28.6	145	533
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	364	1680	6900
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity Animals)	25	24	22	25
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[c]				
GD 6	254.12	0	+1	+1
GD 18	342.20	–1	0	–5
GD 21	371.24	+1	+1	–5
Body Weight Change (g)[c]				
GD 6 to GD 17	88.08	–4	0	–26†
GD 6 to GD 20	117.12	+2	+2	–20†

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: RPT-68342 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.15**	**0.5**	**1.5**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0018**	**0.0061**	**0.018**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.011**	**0.036**	**0.109**
Food Consumption (g/day)[c]				
GD 6 to GD 17	23.80	–1	–1	–11†
Uterine Weight (g)	93.28	90.17	95.18	75.32†
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	25	24	22	25
Mean Number Corpora Lutea	14.80	14.04	15.82	15.56
Mean Number Implantations	13.24	13.00	13.91	14.40
Mean % Preimplantation Loss	1.56	1.04	1.91	1.16
Mean % Postimplantation Loss	0.44	0.79	0.23	1.12
Mean Number Viable Conceptuses	12.80	12.21	13.68	13.28
Mean Number Early Resorptions	0.36	0.79	0.23	1.12
Mean Number Late Resorptions	0.08	0	0	0
Fetuses				
Number Litters Evaluated	25	24	22	25
Mean Number Live Fetuses	12.80	12.21	13.68	13.28
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)				
Males	5.56	5.62	5.19†	4.28†
Females	5.29	5.28	5.00	4.05†
Sex Ratios (% males)	49	52	50	52
Fetal Observations				
Gross External				
Number Fetuses/Litters Evaluated	320/25	293/24	301/22	332/25
Noteworthy findings	-	-	-	-
Visceral				
Number Fetuses/Litters Evaluated	158/25	146/23	152/22	167/25
Noteworthy findings	-	-	-	-

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: RPT-68342 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.15**	**0.5**	**1.5**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0018**	**0.0061**	**0.018**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.011**	**0.036**	**0.109**
Skeletal				
Number Fetuses/Litters Evaluated	162/25	147/24	149/22	165/25
Limb Morphological Anomalies[d]	0	0	0	14†/8†
Reduced Skeletal Ossifications[d]	51/21	49/17	60/21	114†/24*

* p ≤0.05; † p ≤0.01; (statistical significance was determined by Jonckheere's or nonparametric one-way analysis of variance tests).
- = No noteworthy findings; AUC = Area under the concentration-versus-time curve; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; QD = Once daily; Tris = Tromethamine.
a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 6 for rats.
b. Samples below assay limit of quantitation (3.91 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
d. Data presented as the number of litters with the finding/number of fetuses with the finding.

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development

Report Title: CMC-544: Intravenous Developmental Toxicity Study in Rabbits

Test Article: PF-05208773

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Initial Age: 5 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Fetuses: 0.145 mg/m^2/day

Dosing Period: GD 6 to GD 19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Intravenous, QD, 2 mL/kg
Vehicle/Formulation: 5% Sucrose, 0.01% polysorbate 80, 20 mM Tris, 50 mM sodium chloride, sterile water for injection, and 0.9% sterile saline

Study Number: RPT-72134
Lot Number: L26718-8
GLP Compliance: Yes

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.1**	**0.3**	**1**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0012**	**0.0036**	**0.012**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.015**	**0.044**	**0.145**
Maternal Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics (GD 15)				
PF-05208773				
C_{5min} (ng/mL)	NA[b]	81.8	254	977
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	1350	4190	13300
Total Calicheamicin				
C_{5min} (ng/mL)	NA[b]	6.01	25.8	67.5
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	106	452	1050
Anti-PF-05208773 Antibodies (incidence)[c]				
GD 29	0/18	10/20	5/19	9/19
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Number Pregnant	18	20	19	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	1	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[d]				
GD 6	3413.28	–2	0	+1
GD 20	3689.33	–1	+1	0
GD 29	3847.67	–2	+2	0

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: RPT-72134 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.1**	**0.3**	**1**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0012**	**0.0036**	**0.012**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.015**	**0.044**	**0.145**
Body Weight Change (g)[d]				
GD 6 to GD 19	276.06	+10	+15	–9
GD 6 to GD 28	434.39	–1	+11	–6
Food Consumption (g/day)[d]				
GD 6 to GD 19	139.69	+1	–1	–7
Uterine Weight (g)	514.94	471.22	522.21	503.17
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	18	19	19	19
Mean Number Corpora Lutea	10.67	10.79	10.63	10.37
Mean Number Implantations	10.44	9.68	9.95	9.63
Mean % Preimplantation Loss	2	10	6	7
Mean % Postimplantation Loss	15	10	8	16
Mean Number Viable Conceptuses	8.72	8.53	9.05	8.26
Mean Number Early Resorptions	1.00	0.16	0.26	0.53
Mean Number Late Resorptions	0.56	1.00	0.63	0.53
Fetuses				
Number Litters Evaluated	18	19	19	19
Mean Number Live Fetuses	8.72	8.53	9.05	8.26
Mean Number of Dead Fetuses	0.17	0.00	0.00	0.00
Mean Fetal Body Weight (g)				
Males	39.34	38.09	40.64	38.46
Females	38.16	36.33	38.68	37.84
Sex Ratios (% males)	45	47	56	47
Fetal Observations				
Gross External				
Number Fetuses/Litters Examined	160/18	162/18	172/19	157/18
Noteworthy Findings	-	-	-	-

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: RPT-72134 (continued)**

Dose[a]:	**Control (Vehicle)**	**PF-05208773**		
(µg calicheamicin/kg/day)	**0**	**0.1**	**0.3**	**1**
(mg/kg/day)	**0**	**0.0012**	**0.0036**	**0.012**
(mg/m^2/day)	**0**	**0.015**	**0.044**	**0.145**
Visceral				
Number Fetuses/Litters Examined	160/18	162/18	172/19	157/18
Noteworthy Findings	-	-	-	-
Skeletal				
Number Fetuses/Litters Examined	160/18	162/18	172/19	157/18
Noteworthy Findings	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; + Noteworthy finding present; AUC = Area under the concentration-versus-time curve; C_{5min} = Concentration at 5 minutes; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; QD = Once daily; Tris = Tromethamine.

a. Doses of PF-05208773 are expressed as calicheamicin equivalents on the basis of µg/kg of body weight, dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/kg of body weight, and dose equivalents of the G544 antibody on the basis of mg/m^2 of body surface area. Doses in mg/kg were converted to mg/m^2 using a conversion factor of 12 for rabbits.

b. Samples below assay limit of quantitation (4.68 ng/mL for PF-05208773 and 2.00 ng/mL for total calciheamicin).

c. For ADA analysis, blood samples were collected from all animals on GD 5 (predose) and GD 29 and from 4 animals/group predose on GD 15.

d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

Test Article: PF-05208773

In Vitro

Type of Test	Test Cells/ Tissues	Test Article Lot Number	Test Concentrations	Number of Donors/ Tissue	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference No.)/ GLP Compliance
Studies with Inotuzumab Ozogamicin						
In Vitro Blood Compatibility	Rat, Monkey, Human Whole Blood and Plasma	PSG2024-062	66.7 µg/mL	NA	No in vitro potential for inducing erythrocyte lysis in rats, monkeys, or humans. No evidence of methemoglobin formation. No notable precipitate in plasma. Plasma protein levels unaffected.	RPT-46353/ No
Studies with G544 Antibody						
Tissue Cross-Reactivity	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Monkey/ Cynomolgus, Monkey/Rhesus, Human Tissue	01P47H302	5 µg/mL G544 antibody	3	Unconjugated G544 antibody did not show specific staining in any of the selected non-human tissues but did show specific staining for human CD22 positive regions of lymphoid tissues and lymphocytes in the interstitium of non-lymphoid tissues.	IM795 (RPT-46814)/ No; IM810 (RPT-46813)/ No
Tissue Cross-Reactivity	Human Tissue	01H47N003	0.5, 10 µg/mL	3	Unconjugated G544 antibody reacted with potential CD22-expressing cells in the tissues evaluated. G544 also stained stromal fibers in the dermis of the skin and in the breast (mammary gland), and subepithelial stromal fibers of the external os of the uterus (cervix).	IM1237 (RPT-63271)/ Yes
Studies with N-Ac-γ-Calicheamicin DMH						
Phototoxicity	BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	00706190-0223	0.17, 0.3, 0.53, 0.95, 1.69, 3.00, 5.34, 9.5 µg/mL	NA	No phototoxic potential demonstrated.	20090641 ([redacted]GR009)/ Yes

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

Test Article: PF-05208773
PF-06647259

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Test Article Lot Number)	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)[a]	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Studies with Inotuzumab Ozogamicin						
Combination Study with Neumega Monkey/Cynomolgus	PF-05208773: IV, 1 mL/kg (Lot L26718-8) Neumega: SC, 0.025 mL/kg (Lot 144002A/B)	1 Day (PF-05208773 alone) 5 Days (PF-05208773 + Neumega[b])	PF-05208773: 25 Neumega: 125	4F	PF-05208773: ↓ platelets, ↑ AST, ↑ ALT PF-05208773 + Neumega: ↓ platelets, with slightly more rapid resolution of thrombocytopenia compared with PF-05208773 given alone; ↑ AST, ↑ ALT, ↑ fibrinogen, ↓ albumin	RPT-63930/ No
Studies with an ADC Contaning Calicheamicin						
Monkey/Cynomolgus	IV, 1 mL/kg PF-06647259[c] (Lot PF-06647259-00-0005)	9 Weeks[d]	0, 0.5 mg/kg	M (7 or 8)	0.5 mg/kg: ↓ RBC, ↓ HGB, ↓ HCT, ↑ reticulocyte, ↑ RDW, ↓ platelet (complete recovery after first dose, incomplete recovery after subsequent doses), ↑ APTT, ↑ fibrinogen, ↓ WBC, ↓ lymphocyte, ↑ AST, ↑ ALT, ↑ total protein, ↓ albumin, ↑ globulin, ↓ calcium, ↓ thrombopoietin, ↑ hyaluronic acid, skin (Day 63 necropsy: abnormal dark color, wound/scar/crust), spleen (Days 3 and 63 necropsy: ↑ cellularity in sinusoids; Day 63 necropsy: ↓ lymphoid cellularity), femoral bone marrow (Day 63 necropsy: arteriopathy), liver (Day 3 necropsy: loss of sinusoidal endothelial cells with platelet	[redacted]GR346/ No

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

Test Article: PF-05208773
PF-06647259

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Test Article Lot Number)	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)[a]	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
					sequestration; Day 63 necropsy: multifocal sinusoidal dilatation and/or hepatocyte atrophy, recovery of sinusoidal endothelial cells)	

AcBut = 4-(4'-Acetylphenoxy)butanoic acid; ADC = Antibody-drug conjugate; ALT = Alanine aminotransferase; APTT = Activated partial thromboplastin time; AST = Aspartate aminotransferase; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; HCT = Hematocrit; HGB = Hemoglobin; IV = Intravenous; M = Male; NA = Not applicable; RBC = Red blood cell; RDW = Red cell distribution width; SC = Subcutaneous; WBC = White blood cell.

a. All doses are expressed as µg of calicheamicin equivalents/kg of body weight unless otherwise specified.
b. Animals in Group 1 were administered a single IV dose of 25 µg/kg of PF-05208773. Animals in Group 2 were administered a single IV dose of 25 µg/kg of PF-05208773 followed by Neumega administered SC at a dose of 125 µg/kg/day for 5 consecutive days.
c. N-Ac-γ-Calicheamicin DMH conjugated to a humanized nonbinding IgG1 monoclonal antibody via an acid labile AcBut linker.
d. 1 dose/3 weeks. Selected animals from each group were necropsied on Day 3 (48 hours after the first dose) or Day 63 (21 days after the third dose).