目次

略号一覧 4
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験 7
2.6.6.1.2 遺伝毒性試験 7
2.6.6.1.3 がん原性試験 7
2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験 7
2.6.6.1.5 幼若動物毒性試験 8
2.6.6.1.6 局所忍容性試験 8
2.6.6.1.7 その他の毒性試験 8
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験 9
2.6.6.2.2 MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 11
2.6.6.3.1 MLN0002（製造法 B 製剤）のウサギにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 13
2.6.6.3.2 MLN0002（製造法 A 製剤）のカニクイザルにおける 14 日間静脈内投与毒性試験 14
2.6.6.3.3 MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 2 週間静脈内投与毒性試験 15
2.6.6.3.4 MLN0002（製造法 A 製剤）のカニクイザルにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験及び 10 週間回復性試験 15
2.6.6.3.5 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 16
2.6.6.3.6 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 26 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 23
2.6.6.5 がん原性試験 23
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 23
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 24
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 25
2.6.6.6.3 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 26
2.6.6.7 幼若動物毒性試験 27
2.6.6.8 局所忍容性試験 28
2.6.6.9 その他の毒性試験 29
2.6.6.9.1 免疫原性試験 29
2.6.6.9.2 免疫毒性試験 29

2.6.6.9.3 MLN0002 投与に伴う変化の機序に関する試験 33
2.6.6.9.4 依存性試験 33
2.6.6.9.5 代謝物の毒性試験 34
2.6.6.9.6 不純物の毒性試験 34
2.6.6.9.7 その他の毒性試験 34
2.6.6.10 考察及び結論 34
2.6.6.10.1 単回及び反復投与毒性試験 35
2.6.6.10.2 がん原性試験 35
2.6.6.10.3 生殖発生毒性試験 36
2.6.6.10.4 幼若動物毒性試験 36
2.6.6.10.5 局所忍容性試験 36
2.6.6.10.6 その他の毒性試験 36
2.6.6.10.7 全般的結論 37
2.6.6.11 参考文献 38

表

表 2.6.6.1-1　MLN0002 の非臨床毒性試験 6
表 2.6.6.1-2　ウサギ、サル、ヒトに MLN0002 静脈内投与後の全身曝露量の比較 8
表 2.6.6.2-1　MLN0002 単回投与毒性試験 9
表 2.6.6.2-2　MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験におけるデザイン 10
表 2.6.6.2-3　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）単回投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合） 10
表 2.6.6.3-1　MLN0002 の反復投与毒性試験 12
表 2.6.6.3-2　MLN0002（製造法 A 製剤）のカニクイザルにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験の試験デザイン 16
表 2.6.6.3-3　MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 26 週間静脈内投与毒性試験の試験デザイン 20
表 2.6.6.6-1　MLN0002 の生殖発生毒性試験 24
表 2.6.6.7-1　MLN0002 の幼若動物毒性試験 27
表 2.6.6.8-1　MLN0002 を皮下投与又は筋肉内投与した時の局所忍容性評価 のための試験デザイン 29
表 2.6.6.9-1　アカゲザルにおける $\alpha_4\beta_7$ インテグリン阻害時の DTH 反応における T 細胞及びマクロファージ数への影響 33

図

図 2.6.6.3-1　カニクイザルを用いた 13 週間静脈内投与毒性試験期間中における MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリン飽和度 18
図 2.6.6.3-2　MLN0002 のナチュラルキラー細胞の細胞障害活性への影響 19
図 2.6.6.3-3　GLP 適用でのカニクイザルを用いた 13 週間静脈内投与毒性試験における MLN0002 の全身性 T 細胞依存性抗体産生（TDAR）への影響 20
図 2.6.6.3-4　カニクイザルを用いた 26 週間静脈内投与毒性試験期間中における MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリン飽和度 22
図 2.6.6.3-5　26 週間静脈内投与毒性試験でみられた MLN0002 投与カニクイザルの結腸陰窩での β_7 インテグリン発現細胞頻度の低下 22
図 2.6.6.9-1　MLN0002 による末梢血中白血球数への限定的な影響 32

略号一覧

略号	略していない表現	説明
A:G	albumin-to-globulin	アルブミン／グロブリン比
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration-versus-time curve	血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}168hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 168 hours	0時間から168時間の血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}2016hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 2016 hours	0時間から2016時間の血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 24 hours	0時間から24時間の血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}333hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 333 hours	0時間から333時間の血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}336hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 336 hours	0時間から336時間の血中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}337hr}$	area under the concentration-versus-time curve from 0 to 337 hours	0時間から337時間の血中濃度－時間曲線下面積
AUC_{all}	area under the concentration-versus-time curve for all time points	すべてのタイムポイントの血中濃度－時間曲線下面積
BQL	below the quantitation limit	定量限界未満
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
CSF	cerebral spinal fluid	脳脊髄液
DTH	delayed type hyper-sensitivity	遅延型過敏反応
E:T	effector-to-target	エフェクター細胞／標的細胞比
GALT	gut-associated lymphoid 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
ICH	International Conference on Harmonisation	日米EU医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IM	intramuscular(ly)	筋肉内
IV	intravenous(ly)	静脈内
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
mAb	monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MAdCAM-1	Mucosal addressin cell adhesion molecule 1	粘膜アドレシン細胞接着分子-1
MCH	mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容量
NK	natural killer	ナチュラルキラー（細胞）
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PAHA	primate antihuman antibodies	霊長類（サル）抗ヒト抗体
PALS	periarteriolar lymphoid sheaths	動脈周囲リンパ鞘
PD	pharmacodynamics(s)	薬力学
RAHA	rabbit antihuman antibodies	ウサギ抗ヒト抗体
SC	subcutaneous(ly)	皮下
TDAR	T cell-dependent antigen response	T細胞依存性抗体産生
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TT	tetanus toxoid	破傷風トキソイド
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1	血管細胞接着分子-1

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインM3（R2）[1]、S6（R1）[2] [3]及びS8 [4]に従った一連の非臨床試験において、MLN0002の毒性が包括的に評価された結果、腸管ホーミングの白血球サブセットに選択的に作用する本薬の作用機序に関連した成績が得られている。

非臨床毒性試験には、MLN0002に適切な薬理学的応答を示す動物種であるNew Zealand whiteウサギ及びカニクイザルを用いた。すなわち、MLN0002は、ウサギ、サル及びヒト$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対して同程度の結合親和性を示し、また、サルではヒトと同様の組織交差反応性を示し（2.6.2）、その結合パターンは、既知の霊長類における$\alpha_4\beta_7$インテグリン発現パターンと一致していた。

非臨床毒性試験及び臨床試験では、製造工程及び／又は原薬・製剤の剤形等の製造法が異なる3つの製剤が使用され、以降、それぞれ製造法A製剤、製造法B製剤及び製造法C製剤として示した（表2.6.6.1-1）。これらはいずれも物質としてはMLN0002として記載する。製造工程及び剤形の変更に関する情報は、2.3.S.2及び2.3.P.2に記載した。また、GLP適用試験で使用した製剤は、国内外第III相臨床試験で使用した製剤と生化学的、生物物理学的及び免疫化学的特性の点で同等であった（概要表2.6.7.4）。

実施した各試験一覧は概要表2.6.7.1に収載し、実施した毒性試験の主な成績については、以下で述べる。

表 2.6.6.1-1　MLN0002 の非臨床毒性試験

試験の種類	動物種	投与期間	被験物質	投与経路	GLP
単回投与毒性試験	カニクイザル	単回投与	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	非適用
	カニクイザル	単回投与	MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）	IV	適用
反復投与毒性試験	New Zealand white ウサギ	3 ヵ月	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
	カニクイザル	2 週	MLN0002（製造法 A 製剤）	IV	適用
	カニクイザル	2 週	MLN0002（製造法 A 製剤及び B 製剤）	IV	非適用
	カニクイザル	3 ヵ月	MLN0002（製造法 A 製剤）	IV	適用
	カニクイザル	13 週	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
	カニクイザル	26 週	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
がん原性試験	ヒト腫瘍組織	N/A	Act-1	*in vitro*	非適用
	ヒト腫瘍細胞株	N/A	Act-1	*in vitro*	非適用
胚・胎児発生に関する試験	New Zealand white ウサギ	単回投与	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	非適用
	New Zealand white ウサギ	単回投与	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	カニクイザル	4 ヵ月	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
幼若動物毒性試験	カニクイザル	13 週	MLN0002（製造法 C 製剤）	IV	適用
局所忍容性試験	New Zealand white ウサギ	単回投与	MLN0002（製造法 C 製剤）	SC 及び IM	適用
免疫原性試験 [a]	カニクイザル及び New Zealand white ウサギ	最長 6 ヵ月	MLN0002（製造法 A 製剤、B 製剤及び C 製剤）	IV	適用及び非適用
免疫毒性試験	カニクイザル	13 週 [b]	MLN0002（製造法 B 製剤）	IV	適用
	カニクイザル	3 週	MLN0002（製造法 C 製剤）	IV	適用
	アカゲザル	10 日間	Act-1	IV 及び IM	非適用
組織交差反応性試験	マウス、ラット、モルモット、ウサギ、サル及びヒトの細胞	N/A	MLN0002（製造法 A 製剤）	*in vitro*	非適用
	サル及びヒトの組織	N/A	MLN0002（Act-1、製造法 A 製剤及び B 製剤）	*in vitro*	適用

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IM = 筋肉内；IV = 静脈内；SC = 皮下；N/A = 該当せず；Act-1 = MLN0002 のマウスホモログ前駆体

a　免疫原性試験は一般毒性試験の一環として評価した。

b　13 週間反復投与毒性試験の一環として評価した。

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験

単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験では、最大 100 mg/kg の投与量まで良好な忍容性を示し、毒性は認められなかった。

GLP 適用でのウサギの 3 ヵ月間反復投与毒性試験並びにカニクイザルの 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験における機能及び病理評価、並びに GLP 適用でのカニクイザルを用いた単回投与による心血管系への影響を検討する安全性薬理試験の成績から、MLN0002 は、心血管系、消化管系、泌尿器系、呼吸器系及び中枢神経系に対して毒性を示さなかった（2.6.2.4）。ウサギを用いた3ヵ月間反復投与毒性試験及びカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験において、パイエル板（腸管関連リンパ組織 [GALT]）の軽微から軽度の萎縮が認められ、MLN0002 投与との関連も考えられた。同変化は β_7 鎖をノックアウトしたマウスでも認められており[5]、MLN0002 の $\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1（粘膜アドレシン細胞接着分子-1）結合拮抗作用の結果、リンパ球の GALT への遊走が抑制されたことに起因する可能性が示唆される。一方で、GLP 適用での単回及び反復投与毒性試験において、パイエル板以外のリンパ系器官に同様の変化はみられず、全身性の免疫抑制を示唆する変化も認められなかった。以上のように、MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1 結合の選択的拮抗作用により、腸管選択的に薬理学的作用に起因した変化が認められることが示された。

2.6.6.1.2 遺伝毒性試験

本薬は生物学的製剤であるため、ICH ガイドライン S6（R1）[2] [3]に従って、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.1.3 がん原性試験

適切な薬理学的応答を示すげっ歯類が存在しなかったため（概要表 2.6.3.2 ; 4.2.1.1-16 報告書番号 RPT-00709）、ICH ガイドライン S6（R1）[2] [3]に従い、MLN0002 の発がん性を評価する長期動物試験は実施しなかったが、以下に示す種々の検討結果から MLN0002 の発がん性は低いと判断された。

a.) $\alpha_4\beta_7$ インテグリンは成熟白血球及び悪性リンパ腫細胞株の細胞表面のみで発現し、固形腫瘍上には発現していない。

b.) *in vitro* において、MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト悪性リンパ腫細胞株の細胞増殖又は細胞死に影響を及ぼさなかった。

c.) 薬理学的応答を示す動物種であるカニクイザルを用いた 13 週間及び 26 週間反復毒性試験において、ヒトにおける臨床用量を投与した際の曝露量をはるかに上回る曝露量においても、細胞増殖及び細胞死並びに全身性免疫調節への影響が認められなかった。

2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験

MLN0002 は、New Zealand white ウサギにおける胚・胎児発生、並びにカニクイザルにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に影響を及ぼさなかった。

2.6.6.1.5 幼若動物毒性試験

MLN0002 は、幼若カニクイザル（試験開始時に 11～15 ヵ月齢）を用いた 13 週間反復投与毒性試験において、最大 100 mg/kg の投与量まで良好な忍容性を示し、毒性は認められなかった。

2.6.6.1.6 局所忍容性試験

MLN0002 の持続静注による局所刺激性は認められなかった。また、New Zealand white ウサギへの MLN0002 の皮下（SC）投与及び筋肉内（IM）投与においても刺激性はみられなかった。

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

MLN0002 のトキシコキネティクス（TK）及び薬力学（PD）プロファイルは毒性試験の一環として評価された（2.6.4.8）。また、MLN0002 に対する中和抗体の影響を評価するために、ウサギ抗ヒト抗体（RAHA）又はサル抗ヒト抗体（PAHA）が測定された。また、中和作用の有無は、TK 及び PD パラメータに対する影響により判断した。総じて RAHA／PAHA の発現は用量に反比例し、低用量及び中用量（10 及び 30 mg/kg）の一部の動物において、RAHA／PAHA は MLN0002 の TK 及び PD パラメータに対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA の中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの持続的な結合飽和が認められた。高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の TK 又は PD パラメータにほとんど影響を及ぼさなかった。また、反復投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）である同用量において、ほぼすべての動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンへの持続的な結合が維持された。

動物種別の MLN0002 の曝露量の概要、すなわち、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルの NOAEL における曝露量、ヒトに 300 mg を静脈内点滴投与した際の曝露量を、それぞれ表 2.6.6.1-2 に示す。

表 2.6.6.1-2　ウサギ、サル、ヒトに MLN0002 静脈内投与後の全身曝露量の比較

動物種	投与量	投与量との関連	MLN0002 全身（血清）曝露量[a]		
			C_{max} (μg/mL)	AUC (day*μg/mL)	曝露マージン (AUC)
ウサギ	100 mg/kg	NOAEL	9890	51250[b]	43.6
サル	100 mg/kg	NOAEL	5260	36500[c]	31.0
ヒト	300 mg[d]	臨床使用量	126.5	1176[c]	N/A

AUC = 血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；N/A = 該当せず；NOAEL = 無毒性量

a　ウサギを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（n = 9、4.2.3.2-1 報告書番号[redacted]の 84 日目、及びサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験（n = 12、4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]の 169 日目に 30 分間単回持続静注後、あるいはヒト（患者）に 43 日目に静脈内点滴投与後（n = 6、5.3.5.3-3 MLN0002/NDA001）の C_{max} 及び AUC データ。

b　0 時間から 337 時間までの血中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}337hr}$）。

c　0 時間から 336 時間までの血中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}336hr}$）。

d　約 4 mg/kg に相当。

サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び免疫毒性試験で実施した血液及び脳脊髄液（CSF）のリンパ球イムノフェノタイピング、並びに T 細胞依存性抗体産生（TDAR）及び

ナチュラルキラー（NK）細胞活性などの免疫毒性学的評価において、MLN0002 は全身性の適応免疫又は自然免疫応答に影響を及ぼさなかった。

本薬は生物学的製剤であるため、ICH ガイドライン S10 [6]に従って、光毒性試験は実施しなかった。

組織交差反応性試験において、MLN0002 は、ウサギ、サル及びヒトの $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対して同程度の結合親和性を示した。また、サルにおいて、ヒト組織と同等の組織交差反応性を示し、その結合パターンは既知の $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現パターンと一致していた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

カニクイザルを用いた GLP 非適用あるいは適用の単回投与毒性試験において、MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）の毒性が評価され、いずれの試験においても被験物質に関連した変化がみられなかったため、NOAEL は、最高用量である 100 mg/kg と判断した。

実施した単回投与毒性試験の概要を表 2.6.6.2-1 に示す。

表 2.6.6.2-1　MLN0002 単回投与毒性試験

被験物質	投与経路	動物数／群	投与量 (mg/kg)	観察期間	GLP	添付資料番号 報告書番号
カニクイザル						
MLN0002（製造法 B 製剤）	30 分間持続静注	3 F	10 及び 100	85 日間	非適用	4.2.3.1-1 [redacted]
MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）	30 分間持続静注	3 F 3 M	0、10 及び 30	8 日間	適用	4.2.3.1-2 [redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M = 雄；F = 雌

2.6.6.2.1 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験：添付資料番号 4.2.3.1-1（参考）

GLP 非適用でカニクイザルを用いた単回投与試験を実施し、MLN0002 の毒性を評価した（概要表 2.6.7.5；4.2.3.1-1 報告書番号[redacted]）。

各群雌 3 匹のカニクイザルに、MLN0002 の 10 mg/kg 又は 100 mg/kg を 30 分間単回持続静注し、85 日目にかけて、一般状態観察及び体重に加えて、TK、PD 及び PAHA を評価した。

MLN0002 の 100 mg/kg 単回持続静注は良好な忍容性を示し、MLN0002 に関連すると考えられる一般状態及び体重変化はみられなかった。概略の致死量は 100 mg/kg 以上と判断された。

MLN0002 は両用量共に免疫原性を示し、投与後に採取した試料はいずれも PAHA に陽性であった。PAHA 抗体価が高い場合は中和作用を示し、MLN0002 の血中濃度及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリン結合 MLN0002 に対する染色陽性率が低下した（4.2.3.1-1 報告書番号[redacted]）。両用量共に MLN0002 投与後、MLN0002 血中濃度は速やかに増加し、10 及び 100 mg/kg 群の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する結合飽和は、それぞれ、少なくとも 29 日及び約 85 日間持続した。100 mg/kg 群の C_{max} 及び 0 時間から 2016 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}2016hr}$）値は、それぞれ 2090 μg/mL 及び 542,000 hr*μg/mL であった。

2.6.6.2.2 MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-2（評価）

GLP 適用でカニクイザルを用いた単回投与毒性試験を実施し、MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）の毒性、並びに TK、PD 及び PAHA を比較検討した（概要表 2.6.7.5、4.2.3.1-2 報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに、対照溶媒（ヒスチジン 50 mM、アルギニン 125 mM、スクロース 100 mg/mL、ポリソルベート 80 0.6 mg/mL）、又は MLN0002（製造法 B 製剤）若しくは MLN0002（製造法 C 製剤）の 10 mg/kg 又は 30 mg/kg を 30 分間単回持続静注し（表 2.6.6.2-2）、8 日目にかけて、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査に加えて、TK、PD 及び PAHA を評価した。

表 2.6.6.2-2　MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験におけるデザイン

群番号	動物数 雄／雌	投与量 (mg/kg)	対照溶媒又は被験物質
1	3／3	0	対照溶媒[a]
2	3／3	10	MLN0002（製造法 B 製剤）
3	3／3	30	MLN0002（製造法 B 製剤）
4	3／3	10	MLN0002（製造法 C 製剤）
5	3／3	30	MLN0002（製造法 C 製剤）

出典：4.2.3.1-2 報告書番号[redacted]

a＝ ヒスチジン 50 mM、アルギニン 125 mM、スクロース 100 mg/mL、ポリソルベート 80 0.6 mg/mL

MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）は、良好な忍容性を示し、死亡例はみられなかった。MLN0002（製造法 B 製剤）又は MLN0002（製造法 C 製剤）のいずれも、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査に被験物質に起因した変化は認められなかった。MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）ともに概略の致死量は 30 mg/kg 以上と判断された。

MLN0002（製造法 B 製剤）及び MLN0002（製造法 C 製剤）の C_{max}、0 時間から 168 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}168hr}$）値及び TK プロファイルは同様であった（表 2.6.6.2-3）。

表 2.6.6.2-3　カニクイザルに MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）単回投与後の TK パラメータ平均値（雌雄統合）

投与量 (mg/kg)	製剤	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*μg/mL)	
		平均値	SD	平均値	SD
10	製造法 B 製剤	296	33.2	25,100	1620
	製造法 C 製剤	342	79.7	25,100	4430
30	製造法 B 製剤	794	43.4	64,800	3420
	製造法 C 製剤	828	113	66,500	4520

出典；4.2.3.1-2 報告書番号[redacted]

$AUC_{0\text{-}168hr}$ = 0 時間から 168 時間の血中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高濃度、SD = 標準偏差

注：タイムポイントの計時起点は静注開始時点。カニクイザル各群雌雄各 3 匹に、MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）を 30 分間単回持続静注した。いずれの動物にもサル抗ヒト抗体（PAHA）抗体価の高値は観察されなかった。

MLN0002 投与後、末梢血中のリンパ球表面の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンは速やかに MLN0002 により結合飽和され、その飽和は試験期間を通じて持続した。MLN0002（製造法 B 製剤）と MLN0002（製造法 C 製剤）との間で、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンへの結合の程度に著明な差は認められなかった。また、PAHA の高値は観察されなかった（抗体価はすべて ≤100）。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

GLP 適用でのカニクイザルを用いた 2 週間及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験により、MLN0002（製造法 A 製剤）の毒性が検討された。評価した毒性パラメータのいずれにも被験物質に関連した変化は認められなかった。なお、2 週間反復投与毒性試験においてリンパ組織過形成がみられた。但し、その程度はカニクイザルにおける正常範囲内であったこと、また、MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現ヒト白血球の増殖に影響しないことから（2.6.2.2.2）、ヒト化 mAb に対する非特異的な反応性変化として発現した可能性は考えられたものの、MLN0002 による直接的な影響を示す変化ではないと考えられた。

MLN0002（製造法 B 製剤）への製造工程変更後、GLP 非適用でのカニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験において、MLN0002（製造法 A 製剤）と MLN0002（製造法 B 製剤）の毒性が比較検討され、その同等性が示された。MLN0002 投与との関連も考えられる一般状態変化として MLN0002（製造法 A 製剤）を投与した 1 匹で 1 日目に嘔吐（投与約 4 分後）及び片側性の眼の腫脹が、MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹で 4 日目に嘔吐（投与終了から約 2 分後）がそれぞれ一過性にみられ、また、MLN0002（製造法 A 製剤）又は MLN0002（製造法 B 製剤）共に、血液生化学的検査でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）値及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）値の一時的かつ軽度の上昇がみられた。しかし、これら変化の MLN0002 投与との関連性は明確でなく、その後の試験では再現しなかった。

MLN0002（製造法 B 製剤）の GLP 適用での New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験において、30 及び 100 mg/kg 群の雌各 1 匹がそれぞれ第 2 回あるいは第 4 回の投与中に死亡した。しかし、これら個体に特異的な一般状態及び病理組織学的異常はみられなかったこと、100 mg/kg までを投与したウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びにサルを用いた 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験において死亡例がみられなかったことから、MLN0002 投与に起因した死亡ではないと判断した。なお、対照群を含めた各群で、投与時の拘束ストレスに起因すると思われる間代性痙攣及び呼吸数増加等がみられており、投与時の過度のストレスが死亡に関与した可能性も考えられた。MLN0002 投与に関連した所見として、30 及び 100 mg/kg 群の数匹にリンパ球及び総白血球数の増加が認められた。また、30 及び 100 mg/kg 群では、正円小嚢（*sacculus rotundus*）の粘膜下リンパ組織（パイエル板）のリンパ濾胞の縮小が認められた。その他、30 及び 100 mg/kg 群では、脾臓に重量増加、リンパ組織過形成、及び動脈周囲リンパ鞘のアミロイドーシスの増加も観察されたが、MLN0002 の薬理学的作用に起因した変化ではなく、異種蛋白質、すなわちヒト化 mAb による慢性的な抗原刺激に対する反応性変化である可能性が高いと考えられた。

MLN0002（製造法 B 製剤）の毒性は、カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 26 週間反復投与毒性試験においても検討されたが、両試験共に被験物質に関連した変化は認められなかった。13 週間反復投与毒性試験では、30 mg/kg 群の雌 1 匹、100 mg/kg 群の雌

2匹に盲腸及び結腸のバランチジウム属原虫（*Balantidium* protozoa）数の増加がみられたが、関連する異常は認められなかった。なお、投与前の盲腸及び結腸のバランチジウム属原虫数は不明であり、本所見のMLN0002投与との関連性は明確でなかった。また、同用量を用いて実施したサルの26週間反復投与毒性試験ではバランチジウム属原虫数に変化はみられなかった。26週間反復投与毒性試験では、MLN0002投与との関連性は明確でないものの、雄において消化管パイエル板に軽微から軽度のリンパ球減少、及び雌雄において対照群を含めて自然発生性にみられるリンパ球性形質細胞性胃炎部位における粘膜再生の程度の増加傾向が認められた。両所見ともすべての用量で観察され、MLN0002による腸管指向性の$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する薬理学的拮抗作用との関連も示唆された。

以上の成績から、New Zealand whiteウサギ及びカニクイザルへの反復投与時のNOAELは、試験した最高用量である100 mg/kgと判断した。

実施した反復投与毒性試験の概要を表2.6.6.3-1に示す。

表2.6.6.3-1　MLN0002の反復投与毒性試験

被験物質	投与経路	投与レジメン	動物数／群	投与量(mg/kg)	観察期間	GLP	添付資料番号 報告書番号
New Zealand whiteウサギ							
MLN0002（製造法B製剤）	60分間持続静注	q2wkで12週間	5 M 5 F	0、30及び100	14週間及び18週間	適用	4.2.3.2-1 [redacted]
カニクイザル							
MLN0002（製造法A製剤）	60分間持続静注（1日目）、30分間持続静注（2日目）及び15分間持続静注（3～14日目）	QDで14日間	3 M 3 F	2.5	14日間、18日間及び29日間	適用	4.2.3.2-2 [redacted]
MLN0002（製造法A製剤及びB製剤）	30分間持続静注（1日目）及び1分間静注	1、4、8、11及び15日目	4 M	10	22日間	非適用	4.2.3.2-3 [redacted]
MLN0002（製造法A製剤）	30分間持続静注（1日目）及び1分間静注	脚注参照[a]	3-5 M 3-5 F	0、2.5及び10	86日間及び156日間	適用	4.2.3.2-4 [redacted]
MLN0002（製造法B製剤）	10分間静注	q2wkで13週間	6 M 6 F	0、10、30及び100	92日間及び176日間	適用	4.2.3.2-5 [redacted]
MLN0002（製造法B製剤）	20分間持続静注	q2wkで26週間	4-6 M 4-6 F	0、10、30及び100	27週間及び38週間	適用	4.2.3.2-6 [redacted]

GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M＝雄；F＝雌；q2wk＝2週間に1回の間隔；QD＝1日1回

a　対照溶媒群及び10 mg/kg群の投与日は、1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85日目。2.5 mg/kg群の投与日は、1～8、11、15、18、22、25、29、36、43、50、57、64、71、78、85日目。

2.6.6.3.1 MLN0002（製造法 B 製剤）のウサギにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-1（評価）

GLP 適用で反復投与毒性試験を実施し、New Zealand white ウサギに 2 週間に 1 回の間隔で 12 週間持続静注し、その後 4 週間の休薬期間を設けた場合の MLN0002 の毒性及びその回復性を評価した（概要表 2.6.7.7A ; 4.2.3.2-1 報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各 5 匹の New Zealand white ウサギに、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002（製造法 B 製剤）の 30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を 0、14、28、42、56、70 及び 84 日目にそれぞれ 60 分間持続静注した。30 mg/kg 群の全例、並びに対照群及び 100 mg/kg 群の各群雌雄各 3 匹を 14 週目に安楽殺し、対照群及び 100 mg/kg 群の残り各群雄雌各 2 匹は 4 週間の休薬期間終了後の 18 週目に安楽殺した。

一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、TK、PD 及び RAHA を評価した。

30 及び 100 mg/kg 群の雌各 1 匹が試験期間中に死亡した。30 mg/kg 群の雌では 2 回目（14 日目）の投与中に死亡したが、死亡前に特記すべき一般状態変化は認められなかった。100 mg/kg 群の雌については 4 回目（42 日目）の投与中に死亡し、死亡前に流涙及び保定器内での異常行動が観察された。これら 2 匹の死因は、病理組織学的に明らかではなかった。100 mg/kg 群の雌では、30 日目（死亡の 12 日前）に、結膜炎及び体温の上昇（105.3～106.9°F）が認められたため、臨床病理評価を実施したところ、同個体の投与前値あるいは計画剖検時（98 日目）の対照群と比較して、血中尿素窒素（BUN）及び AST の高値、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の低値、並びに、平均赤血球容量（MCV）及び平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）の高値が認められた。同様の変化は、計画剖検時、MLN0002 を投与したいずれの個体においても認められなかった。一方、同個体ではリンパ球数の高値も認められたが、同変化については、計画剖検時にその他の生存例においても認められたため、MLN0002 投与に起因した変化と考えられた。以上のように 2 匹の死因は不明であったが、GLP 適用でのウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、及びカニクイザルを用いた 13 及び 26 週間反復投与毒性試験において死亡例がみられなかったことから、MLN0002 投与に起因した死亡ではないと判断した。なお、対照群を含めた各群で、以下に示すような持続投与時の拘束ストレスに起因すると思われる変化がみられており、これら投与時の過度のストレスが死亡に関与した可能性も考えられた。

30 及び 100 mg/kg 群の雌雄で観察された主な一般状態変化として、間代性痙攣、呼吸回数の増加及び流涙が認められたが、これら変化は対照群においても認められ、保定及び持続静注によるストレスに起因する可能性が高いと考えられた。また、糞量の減少、軟便、及び下痢など排便に関する諸所見についても、対照群を含むすべての群で散見され、保定及び持続静注によるストレスに起因する変化と考えられた。

30 及び 100 mg/kg 群では、計画剖検時、グロブリン及び総タンパクの高値、アルブミン／グロブリン比（A:G）の低値、並びにリンパ球及び白血球数の高値がみられた。また、病理組織学的検査では、正円小嚢の粘膜下リンパ組織（パイエル板）のリンパ濾胞の縮小が認め

られた。同変化とMLN0002投与との関連は明確でないものの、腸管指向性の$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する薬理学的拮抗作用と一致するものである。

脾臓において、リンパ組織過形成及び動脈周囲リンパ鞘（PALS）のアミロイドーシス増加を伴う重量増加が認められた。血清アミロイドタンパクAの上昇を伴う同様の変化はマウスなど他の動物種においても認められており[7]、ヒト以外の動物種にヒト化mAbを投与したことに起因した反応性変化であると考えられ、MLN0002投与による毒性変化とは判断しなかった。

リンパ濾胞の縮小は4週間の休薬期間終了後において、100 mg/kg群の雄1匹を除いて認められなかった。一方で、同群の雌雄でみられたグロブリンの高値、A:G比の低値、脾重量の高値及び脾臓リンパ組織過形成、並びに雄にみられたアミロイドーシスの増加については、休薬期間終了時においても持続して認められた。しかし、休薬期間終了時点においても血中にMLN0002が引き続き検出されたことから、休薬期間が不十分であった可能性も考えられる。いずれの群の雄においても体重又は摂餌量にMLN0002投与の影響はみられなかった。雌では14、28、42及び70日目の投与後、30及び100 mg/kg群で体重が低値を示したが、その値は対照群の雄と同等であり、主に対照群の雌の体重が異常な高値を示したことに起因すると考えられた。

以上の成績から、本試験におけるNOAELは100 mg/kgと判断した。同用量でのC_{max}及び0時間から337時間までのAUC（$AUC_{0\text{-}337hr}$）値は、それぞれ9890 μg/mL及び1,230,000 hr*μg/mLであった。MLN0002は多くの動物で免疫原性を示し、総じてRAHAはMLN0002のTK及びPDに影響を及ぼした。その程度は30 mg/kg群で顕著であり、同群の約60%でTK値の減少及びPD反応の低下が認められた。100 mg/kg群では、試験期間を通じて9匹中8匹にMLN0002が検出され、最終投与後、30 mg/kg群と比較してその濃度は用量比以上の高値を示した。100 mg/kg群では、多くの個体で$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する結合飽和が投与期間を通じて維持された。

2.6.6.3.2 MLN0002（製造法A製剤）のカニクイザルにおける14日間静脈内投与毒性試験：添付資料番号4.2.3.2-2（評価）

GLP適用で反復投与毒性試験を実施し、カニクイザルに14日間持続静注した場合のMLN0002の毒性を評価した（概要表2.6.7.7B；4.2.3.2-2報告書番号[redacted]）。

雌雄各3匹のカニクイザルに、MLN0002（製造法A製剤）の2.5 mg/kgを1日目は60分間持続静注、2日目は30分間持続静注、3～14日目は15分間持続静注し、14、18及び29日目に雌雄各1匹ずつを安楽殺した。

一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、血圧及び心拍数、体温、呼吸数、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、TK及びPDを測定した。

いずれの検査においてもMLN0002投与に関連した変化はみられなかった。病理組織学的検査においてリンパ組織過形成がみられた。本試験において対照群は設定されなかったが、その程度はカニクイザルの正常範囲内であり、そのMLN0002投与との関連性は明確でなかった。MLN0002は$\alpha_4\beta_7$インテグリン発現ヒト白血球の増殖に影響しないことから（2.6.2.2.2）、

異種蛋白質であるヒト化 mAb に対する反応性変化として発現した可能性は考えられたが、MLN0002 による直接的な影響に起因するものではないと考えられた。

2.6.6.3.3 MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-3（参考）

GLP 非適用で反復投与試験を実施し、MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）を 2 週間持続静注した場合の MLN0002 の毒性を評価した（概要表 2.6.7.6；4.2.3.2-3 報告書番号[redacted]）。

各群雄 4 匹のカニクイザルに、MLN0002（製造法 A 製剤）又は MLN0002（製造法 B 製剤）の 10 mg/kg を 30 分間持続静注（1 日目）あるいは静脈内投与（約 1 分間、4、8、11 及び 15 日目）した。

22 日目にかけて、一般状態観察、体重、血液学的検査、血液凝固系検査及び血液生化学的検査に加えて、TK、PD 及び PAHA を評価した。

一般状態変化として、各群 1 匹に一過性に嘔吐あるいは眼の腫脹がみられたが、MLN0002 投与との関連性は明確でなかった。その他、MLN0002（製造法 A 製剤）を投与した 1 匹の首周囲にほぼ試験全期間にわたり紅斑が認められたが、これは保定のために使用した首輪に関連したものと考えられた。

MLN0002（製造法 A 製剤）又は MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した多くの動物において、一時的かつ軽度の ALT 及び AST 値の高値がみられ、その程度は両群間で同様であった。これら変化の MLN0002 投与との関連性は明確でなく、その後の試験では再現しなかった。血液学的検査及び血液凝固系検査において、被験物質に関連する異常はみられなかった。

MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）投与動物における免疫原性は概ね同様であり、MLN0002（製造法 B 製剤）を投与した 1 匹のみで中和作用による TK 及び PD パラメータへの影響が認められた。15 日目の MLN0002（製造法 A 製剤）及び MLN0002（製造法 B 製剤）の C_{max} の平均値は、それぞれ 749 μg/mL 及び 497 μg/mL であり、AUC（AUC_{all}）値は、MLN0002（製造法 A 製剤）で 73,800 hr*μg/mL、MLN0002（製造法 B 製剤）で 39,900 hr*μg/mL であった。

2.6.6.3.4 MLN0002（製造法 A 製剤）のカニクイザルにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験及び 10 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-4（評価）

GLP 適用で反復投与毒性試験を実施し、カニクイザルに 3 ヵ月間持続静注し、その後 10 週間の休薬期間を設けた場合の MLN0002 の毒性及びその回復性を評価した（概要表 2.6.7.7C；4.2.3.2-4 報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各 3 ないし 5 匹のカニクイザルに、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002（製造法 A 製剤）の 2.5 mg/kg 若しくは 10 mg/kg を、30 分間持続静注（1 日目）あるいは静脈内投与（1 分間、その後の投与日）した（表 2.6.6.3-2）。86 日目に、対照群及び 10 mg/kg 群の各群雌雄各 2 匹、並びに 2.5 mg/kg 群の全例（雌雄各 3 匹）を安楽殺し、残りの動物（対照群及び 10 mg/kg 群の各群雌雄各 3 匹）は、70 日間の休薬期間終了後の 156 日目に安楽殺した。

表 2.6.6.3-2　MLN0002（製造法 A 製剤）のカニクイザルにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験の試験デザイン

群番号	動物数 雄／雌	投与量 (mg/kg)	対照溶媒又は被験物質	投与日
1	5／5	0	対照溶媒 [a]	1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 日目
2	3／3	2.5	MLN0002（製造法 A 製剤）	1～8、11、15、18、22、25、29、36、43、50、57、64、71、78、85 日目
3	5／5	10	MLN0002（製造法 A 製剤）	1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 日目

出典：4.2.3.2-4 報告書番号[redacted]
a　生理食塩液。

一般状態観察、体重、心拍数、体温、呼吸数、心電図検査、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、糞便検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、免疫毒性学的評価（リンパ球イムノフェノタイピング）及び結腸粘膜における MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現細胞に関する免疫組織学的検討を実施すると共に、TK、PD 及び PAHA を評価した。

PAHA に起因すると考えられる間欠的及び一過性の一般状態変化を除き、いずれの測定パラメータにも MLN0002 投与に関連した変化は認められず、NOAEL は、最高用量である 10 mg/kg と判断された。10 mg/kg で PAHA による中和作用を示さなかった動物における 85 日目の C_{max} の平均値は 770 μg/mL であり、AUC（$AUC_{0\text{-}24hr}$）値は 13,300 hr*μg/mL であった。

PAHA は、15 日目までに MLN0002 を投与したすべての動物で発現し、2.5 及び 10 mg/kg 群のそれぞれ 6 匹中 2 匹及び 10 匹中 5 匹では中和作用を示し、これら個体では血中からの MLN0002 の速やかな消失、及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリンと MLN0002 の脱飽和が認められた。末梢血 T リンパ球表面上の $\alpha_4\beta_7$ インテグリン結合飽和と結腸組織における MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現細胞の減少との間には強い相関が認められ、末梢血 T リンパ球における $\alpha_4\beta_7$ インテグリン結合飽和が結腸組織におけるリンパ球の $\alpha_4\beta_7$ インテグリン結合飽和の指標となることが示された。従って、10 mg/kg 群の PAHA に中和作用がみられなかった個体では末梢血 T リンパ球における $\alpha_4\beta_7$ インテグリン結合飽和が 5 ヵ月間以上持続したことから、結腸においても同様の飽和が維持されたものと考えられた。

2.6.6.3.5 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）

GLP 適用で反復投与毒性試験を実施し、2 週間に 1 回の間隔で 13 週間持続静注し、その後 12 週間の休薬期間を設けた場合の MLN0002 の毒性及びその回復性を評価した（概要表 2.6.7.7D 及び 2.6.7.17；4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各 6 匹のカニクイザルに、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002（製造法 B 製剤）の 10 mg/kg、30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を、1、15、29、43、57、71 及び 85 日目にそれぞれ 10 分間持続静注し、各群雌雄各 4 匹を 92 日目に、残りの各群雌雄各 2 匹を 176 日目に、それぞれ安楽殺した。

一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、免疫毒性学的評価(血液及びCSFのリンパ球イムノフェノタイピング、NK細胞活性及びTDAR試験)を実施すると共に、TK、PD及びPAHAを評価した。

評価したパラメータのいずれにも被験物質に関連した変化は認められなかった。30 mg/kg群の雌1匹及び100 mg/kg群の雌2匹の盲腸及び結腸にバランチジウム属原虫（サルにおいて一般的な原虫）数の増加が認められたが、関連する異常は認められなかった。休薬群の動物では同様の変化は認められなかった。MLN0002投与が腸管細菌叢等に影響を及ぼす可能性は否定できないものの、本薬投与前の盲腸及び結腸におけるバランチジウム属原虫数が不明であり、本所見のMLN0002投与との関連性は明確でなかった。なお、同用量を用いて実施したサルの26週間反復投与毒性試験ではバランチジウム属原虫数に変化はみられなかった。

以上の成績から、本試験におけるNOAELは100 mg/kgと判断した。同用量での85日目のC_{max}値及び0時間から336時間までのAUC（$AUC_{0\text{-}336hr}$）値は、それぞれ5070 μg/mL及び834,000 hr*μg/mLであった。

MLN0002は多くの動物で免疫原性を示した。総じてPAHAはMLN0002のTK及びPDに影響を及ぼし、その影響は10 mg/kg群で顕著であった。MLN0002投与後、MLN0002血中濃度は速やかに増加し、初回投与後、概ね用量比に相関して増加した。最終投与後、MLN0002血中濃度は用量比を上回って増加したが、これは低用量群で顕著であったPAHAの中和作用によるものと考えられた。

MLN0002による$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する結合飽和度を、末梢血の白血球、特にメモリー（$CD45RA^-$）ヘルパー（$CD4^+$）Tリンパ球上のMLN0002未結合$\alpha_4\beta_7$インテグリンをフローサイトメトリーにより定量した。投与前、メモリーヘルパーTリンパ球の27%～29%にMLN0002未結合$\alpha_4\beta_7$インテグリンが検出された（図2.6.6.3-1）が、MLN0002の初回投与30分時点以降、次回投与前にかけて、対照溶媒群とは対照的に、MLN0002未結合$\alpha_4\beta_7$インテグリンは検出されなかった（図2.6.6.3-1）。他の$\alpha_4\beta_7$インテグリンを発現する白血球サブセットにおいても同様のデータが得られ、末梢リンパ球上の$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対するMLN0002の結合飽和は試験期間を通じて持続したことが示された。

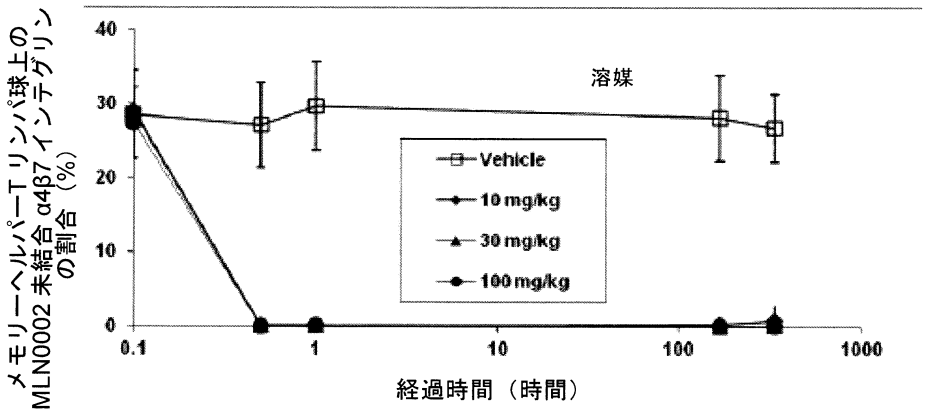


図 2.6.6.3-1　カニクイザルを用いた 13 週間静脈内投与毒性試験期間中における MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリン飽和度

出典：4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.3-1　対照溶媒（□）又は MLN0002 の 10 mg/kg（◆）、30 mg/kg（▲）、若しくは 100 mg/kg（●）を単回持続静注したカニクイザル（各群雌雄各 6 匹）の末梢血におけるメモリーヘルパー（$CD4^+CD45RA^-$）T リンパ球上に発現した MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの割合。エラーバーは各群の標準偏差（SD）を表す。

$\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する NK 細胞は、自然免疫の構成要素である。そこで、MLN0002 投与の NK 細胞活性への影響を ex vivo で評価したところ、MLN0002 は NK 細胞活性に影響を及ぼさなかった（図 2.6.6.3-2）。すなわち、投与期間終了時点（92 日目）で、NK 細胞活性の群平均値を対照群と比較すると、全てのエフェクター細胞／標的細胞（E/T）比において、いずれの群の雌雄においても MLN0002 投与に関連した変化はみられなかった。なお、92 日目の 100 mg/kg 群の雄の平均値は、E/T 比、100:1 及び 75:1 において対照群と比較して高値傾向を示し、また、休薬期間終了時（176 日目）には、すべての E/T 比で 10 及び 100 mg/kg 群の平均値は対照群あるいは同群の投与前の平均値と比べて低値を示したが、標準偏差及び群内の動物個体差を考慮すると、これら変動に MLN0002 投与との関連はないと判断された。

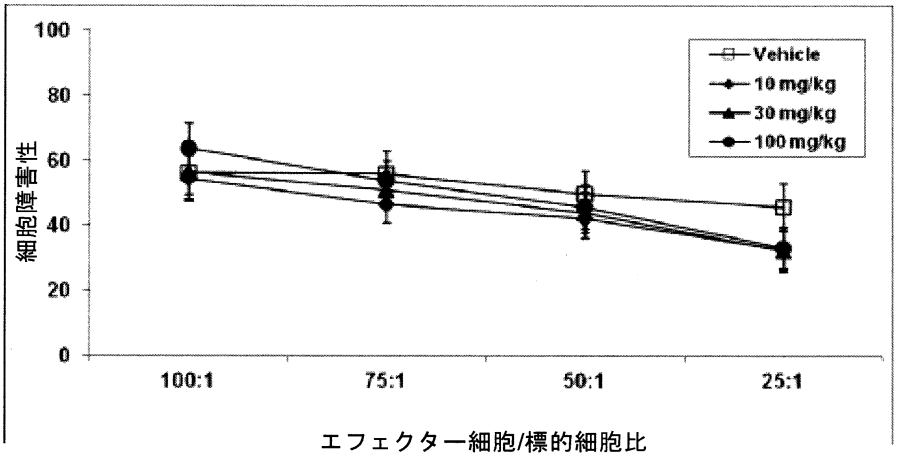


図 2.6.6.3-2　MLN0002 のナチュラルキラー細胞の細胞障害活性への影響

出典：4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.3-2　カニクイザル（各群雌雄各 6 匹）に対照溶媒（□）又は MLN0002 の 10 mg/kg（◆）、30 mg/kg（▲）、若しくは 100 mg/kg（●）を 2 週間に 1 回の間隔で 13 週間投与しても、MLN0002 はナチュラルキラー（NK）細胞の細胞障害活性を阻害しなかった。すべてのデータは群平均値 ± 標準偏差（SD）。

2.6.6.3.5.1 TDAR 試験

$\alpha_4\beta_7$ インテグリンは、適応免疫の主要な構成要素である B リンパ球及び T リンパ球サブセットに発現がみられる。ICH ガイドライン S8 [4]において、非臨床試験の TDAR 試験成績は臨床への外挿性があるとされることから、MLN0002 投与の TDAR への影響を評価した。

MLN0002 投与 3 ヵ月目に、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）を皮下投与し、TDAR の一次応答を誘導した。MLN0002 の 10 mg/kg、30 mg/kg 又は 100 mg/kg を投与した動物では、そのいずれにおいても対照溶媒群と同等の KLH に対する IgM 及び IgG の一次応答亢進がみられ、抗 KLH IgM（図 2.6.6.3-3）又は抗 KLH IgG（図 2.6.6.3-3）の群平均値は対照溶媒群との間に有意な差を示さなかった。本成績は、13 週間の MLN0002 への曝露がサルにおける全身性 TDAR に影響しないことを示すものである。

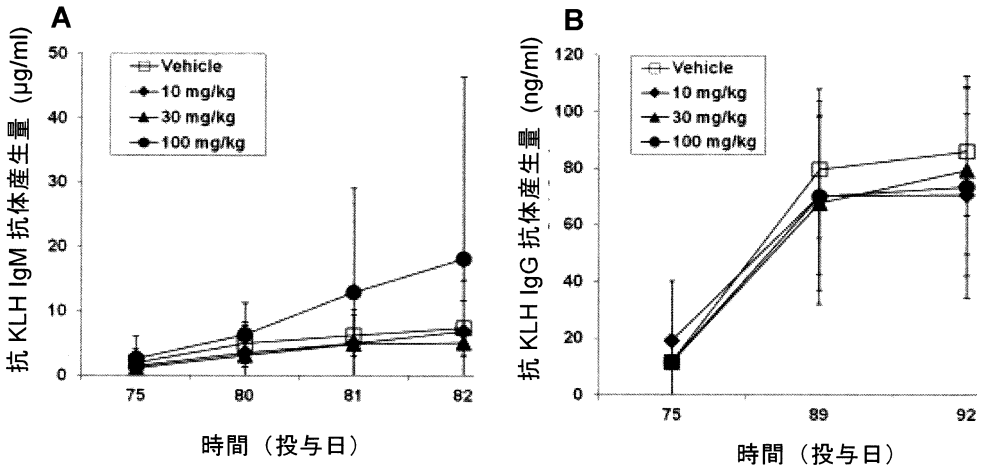


図 2.6.6.3-3　GLP 適用でのカニクイザルを用いた 13 週間静脈内投与毒性試験における MLN0002 の全身性 T 細胞依存性抗体産生（TDAR）への影響

出典：4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.3-3　カニクイザル（各群雌雄各 6 匹）に、対照溶媒又は MLN0002 の 10 mg/kg、30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を 2 週間に 1 回の間隔で 13 週間投与した。A）75、80、81 及び 82 日目の血清中抗キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）免疫グロブリン（Ig）M 抗体の群平均値及び標準偏差（SD）；B）75、89 及び 92 日目の血清中抗 KLH IgG 抗体の群平均値及び SD。

2.6.6.3.6 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 26 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-6（評価）

GLP 適用で反復投与毒性試験を実施し、2 週間に 1 回の間隔で 26 週間持続静注し、その後 12 週間の休薬期間を設けた場合の MLN0002 の毒性及びその回復性を評価した（概要表 2.6.7.7E；4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各 4 ないし 6 匹のカニクイザルに、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002（製造法 B 製剤）の 10 mg/kg、30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を、1、15、29、43、57、71、85、99、113、127、141、155 及び 169 日目にそれぞれ 20 分間持続静注し（表 2.6.6.3-3）、各群雌雄各 4 匹を 27 週目に、残り対照群及び 100 mg/kg 群の雌雄各 2 匹を 38 週目に、それぞれ安楽殺した。

表 2.6.6.3-3　MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける 26 週間静脈内投与毒性試験の試験デザイン

群番号	動物数 雄／雌	投与量 (mg/kg)	対照溶媒又は被験物質
1	6／6	0	対照溶媒[a]
2	4／4	10	MLN0002（製造法 B 製剤）
3	4／4	30	MLN0002（製造法 B 製剤）
4	6／6	100	MLN0002（製造法 B 製剤）

出典：4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]

a　生理食塩液。

一般状態観察、体重、摂餌量、心電図検査、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、免疫毒性

学的評価（CSF のリンパ球イムノフェノタイピング）及び結腸粘膜における β_7 インテグリン発現細胞に関する免疫組織学的検討を実施すると共に、TK、PD 及び PAHA を評価した。

定期的に実施されるツベルクリン皮膚試験において 10 mg/kg 群の雌 1 匹が陽性反応を示したため、同例を 64 日目に人道的見地から安楽殺した。当該動物の剖検及び病理組織学的検査に抗酸菌感染症を示唆する変化は認められず、関連組織の抗酸染色においても陽性所見はみられなかった。

一般状態観察、体重、摂餌量、心電図検査、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び脳脊髄液評価において、被験物質に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査においても MLN0002 投与に明確に関連する所見はみられなかったが、その関連性も考えられる所見として、10、30 及び 100 mg/kg 群の雄で消化管パイエル板に軽微から軽度のリンパ球減少が、また、10、30 及び 100 mg/kg 群の雌雄でリンパ球形質細胞性胃炎部位における粘膜再生の程度の増加傾向がそれぞれ認められた。いずれの所見も毒性事象とは考えられなかったが、パイエル板への影響は、二次リンパ器官へのリンパ球遊走を仲介する $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の作用と一致するものである。なお、約 12 週間の休薬期間終了後、消化管のパイエル板のリンパ球減少が認められたのは、100 mg/kg を投与した雌雄各 2 匹中雌 1 匹のみであり、胃粘膜変化については対照動物との間で差は認められなかった。

以上の成績から、本試験における NOAEL は 100 mg/kg と判断した。同用量での 169 日目の C_{max} 及び 0 時間から 333 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}333hr}$）値は、それぞれ 5260 μg/mL、876,000 hr*μg/mL であった。

MLN0002 は多くの動物で免疫原性を示した。総じて PAHA は MLN0002 の TK 及び PD に影響を及ぼし、その影響は 10 mg/kg 群で最も顕著であった。100 mg/kg 群では PAHA に中和作用はみられず TK 及び PD への影響は認められなかった。

末梢血の白血球に発現した MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対するフローサイトメトリー分析により、MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの結合飽和度を定量した。投与前、MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンはメモリーヘルパーT リンパ球の 32%～36%に検出された（図 2.6.6.3-4）が、MLN0002 の初回投与 30 分時点以降、対照溶媒群とは対照的に、MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンは検出されなかった。以上の成績は、本試験を通じて、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンが MLN0002 によって結合飽和されたことを示すものである。

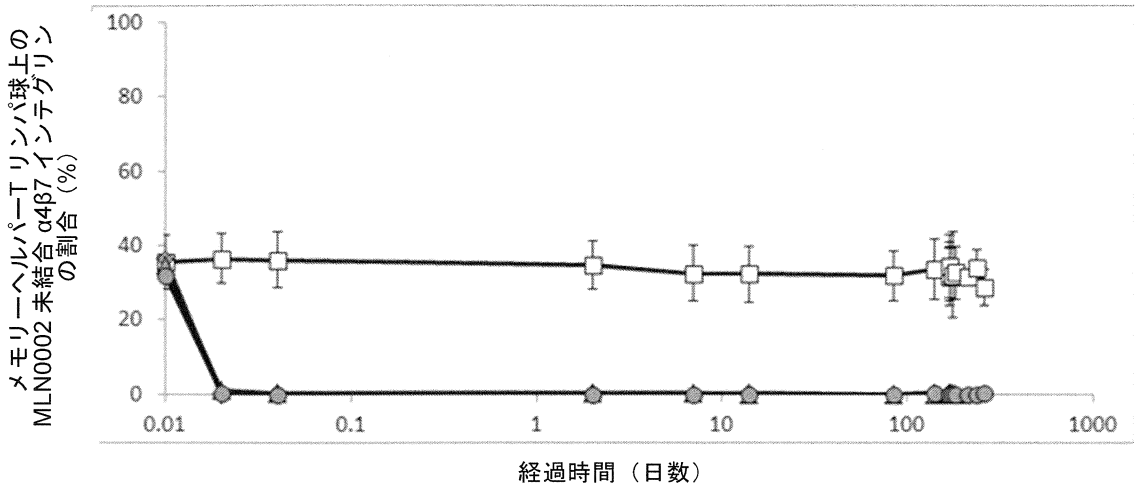


図 2.6.6.3-4　カニクイザルを用いた 26 週間静脈内投与毒性試験期間中における MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリン飽和度

出典：4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.3-4　雌雄のカニクイザルに、対照溶媒（□）又は MLN0002 の 10 mg/kg（◆）、30 mg/kg（▲）、若しくは 100 mg/kg（●）を 2 週間に 1 回の間隔で 26 週間投与した場合に、末梢血のメモリーヘルパー（$CD4^+/CD45RA^-$）T リンパ球上に発現した MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの割合。エラーバーは各群（8～12 匹）の標準偏差（SD）を示す。

なお、結腸粘膜における β_7 インテグリン発現細胞について免疫組織学的に検討したところ、MLN0002 は、結腸陰窩における β_7 インテグリン発現細胞の頻度を低下させた（図 2.6.6.3-5）。これは、$\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1 結合に対する MLN0002 の選択的拮抗作用と一致し、腸管ホーミングメモリーヘルパーT リンパ球の血管から消化管組織内への遊走が MLN0002 によって抑制された結果と考えられる。

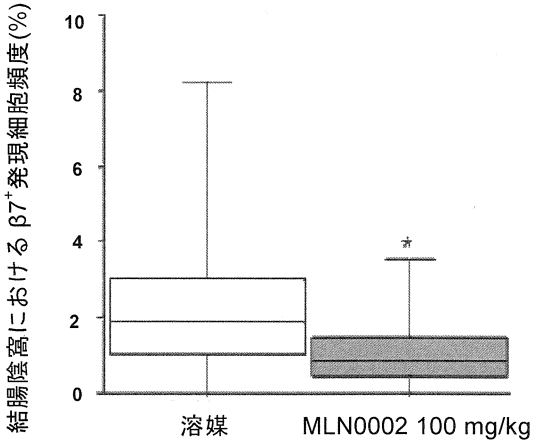


図 2.6.6.3-5　26 週間静脈内投与毒性試験でみられた MLN0002 投与カニクイザルの結腸陰窩での β_7 インテグリン発現細胞頻度の低下

出典：4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.3-5　MLN0002 の 100 mg/kg を 2 週間に 1 回の間隔で 26 週間投与したカニクイザルの結腸陰窩における β_7 インテグリン発現細胞を免疫組織化学的及び画像解析的に定量評価。データは、対照群 8 匹又は MLN0002 の 100 mg/kg 群 8 匹の各 3 ヵ所の標本を用いた 10 視野の平均値 ± 標準偏差（SD）である。*印は、対照群と比較し有意差があったことを示す（$p < 0.05$）。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

MLN0002 はヒト化モノクローナル抗体であるため、ICH ガイドライン S6（R1）[2] [3]に従い、遺伝毒性試験は不要と判断し、実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.3-1（参考）、-2（参考）

げっ歯類は MLN0002 に対して薬理学的に応答しないため（概要表 2.6.3.2；4.2.1.1-16 報告書番号 RPT-00709）、発がん性を評価する通常の長期動物試験（げっ歯類を用いたバイオアッセイなど）は MLN0002 に適用できない。そこで MLN0002 のがん原性評価は、以下のように、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト腫瘍細胞を確認し、同腫瘍に対する Act-1（MLN0002 のマウスホモログ前駆体）の影響を評価することで実施した。

既報によると、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンは、造血細胞及び同細胞由来の腫瘍細胞に限定して発現することが示されている[8] [9] [10] [11]が、GLP 非適用で実施した組織交差反応性試験において、ヒト固形腫瘍（結腸粘膜由来の悪性腫瘍）上の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの発現を確認したところ、浸潤白血球に染色性が認められたものの、腫瘍細胞上に発現は認められなかった（概要表 2.6.7.17；4.2.3.4.3-1 報告書番号[redacted]。また、Act-1 は *in vitro* において $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する造血細胞由来のヒト腫瘍細胞株に対して、その細胞増殖及び細胞死に影響を及ぼさなかった（概要表 2.6.7.17；4.2.3.4.3-2 報告書番号[redacted]。

さらに、MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト白血球に対して、その活性化、サイトカイン産生又は細胞増殖など、腫瘍形成に影響を及ぼす因子に影響を及ぼさない（2.6.2.2.2.2；4.2.1.1-4 報告書番号 RPT-01140 及び 4.2.1.1-5 報告書番号 RPT-01954）こと、また、New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験において、ヒト化抗体を投与したことによる反応性変化と考えられるリンパ組織過形成がみられたが、その他、カニクイザルを用いた 13 週間及び 26 週間毒性試験を含めて、細胞増殖及び細胞死、並びに全身性免疫調節への影響を示す変化は認められなかったことなどから、MLN0002 の発がん性リスクは低いと判断された。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

MLN0002 投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は、以下の理由により実施しなかった。すなわち、MLN0002 はマウス及びラットで薬理活性を示さないこと、GLP 適用での New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において生殖器系組織に病理組織学的所見が認められなかったこと、並びに β_7 インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itgb7*$^{-/-}$）（$\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_E\beta_7$ インテグリン機能が欠損しているマウス）における受胎能が正常であること[5]を根拠としている。

GLP 非適用で New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定毒性試験を実施した。本試験では、30 mg/kg 又は 100 mg/kg を投与したウサギ 16 匹中 3 匹に過敏性反応と考えられる持続注入に伴う即時反応がみられ、当該 3 匹中 1 匹（30 mg/kg 群）が死亡した。生存動物では、検査したすべてのパラメータにおいて毒性は認められなかった。GLP 適用での New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、MLN0002 投与に関連した影響は認められず、NOAEL は最高用量である 100 mg/kg と判断された。

GLP 適用でのカニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、下痢、体重減少及び脱水を伴う状態悪化がみられたため、100 mg/kg 群の母動物 2 匹を安楽殺したが、サルでしばしばみられる細菌感染症が原因であり、MLN0002 投与に関連した変化ではないと判断された。その他母動物又は乳仔に被験物質関連の影響は認められず、NOAEL は最高用量の 100 mg/kg であった。

実施した生殖発生毒性試験の概要を表 2.6.6.6-1 に示す。

表 2.6.6.6-1　MLN0002 の生殖発生毒性試験

被験物質	投与経路及びレジメン	動物数／群	投与量 (mg/kg)	観察期間	GLP	添付資料番号 報告書番号
New Zealand white ウサギ						
MLN0002（製造法 B 製剤）	妊娠 7 日目に 15 分間単回持続静注	8 F	10、30 及び 100	妊娠 29 日目まで	非適用	4.2.3.5.2-1 [redacted]
MLN0002（製造法 B 製剤）	妊娠 7 日目に 60 分間単回持続静注	28 F	10、30 及び 100	妊娠 29 日目まで	適用	4.2.3.5.2-2 [redacted]
カニクイザル						
MLN0002（製造法 B 製剤）	妊娠 20～140 日目に 20～30 分間持続静注を 2 週に 1 回	12 F	10 及び 100	分娩後 181 日目まで	適用	4.2.3.5.3-1 [redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 ; F = 雌

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。受胎能に特化した試験が不要と判断した理由は、以下のとおりである。

a) ヒト生殖器系組織において $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの交差反応性がないこと
b) カニクイザルを用いた 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験並びに New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験において、生殖器系組織に MLN0002 投与による病理組織学的異常がみられなかったこと
c) 薬理学的に適切に応答するげっ歯類がいないこと
d) β_7 インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itgb7*$^{-/-}$）（$\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_E\beta_7$ インテグリン機能が欠損しているマウス）の受胎能が正常であること[5]

なお、α_4 インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itga4*$^{-/-}$）（$\alpha_4\beta_1$ 及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリン機能が欠損しているマウス）では初期胚発生時に致死的異常がみられている[12]が、β_7 インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itgb7*$^{-/-}$）は生殖可能で寿命も正常であることから、α_4 インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itgb4*$^{-/-}$）でみられた致死性の影響は、$\alpha_4\beta_1$ インテグリン機能の欠損に起因すると考えられる。

以上のように、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかったが、MLN0002 投与が受胎能に影響する可能性はないと考えられる。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 MLN0002（製造法 B 製剤）のウサギにおける胚・胎児発生に関する用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-1（参考）

GLP 非適用で New Zealand white ウサギを用いた試験を実施し、MLN0002 の胚・胎児毒性並びに TK、PD 及び RAHA を評価した（概要表 2.6.7.11；4.2.3.5.2-1 報告書番号[redacted]）。

交尾が確認された各群雌 8 匹（主試験用として 5 匹、TK／PD／RAHA 用として 3 匹）の New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に 1 回、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002 の 10 mg/kg、30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を 15 分間持続静注し、妊娠 29 日目に安楽殺した。

死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、子宮、胎盤及び卵巣の肉眼観察、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数、黄体数、子宮重量、胎児体重、外表奇形及び変異を評価した。TK／PD／RAHA 用動物は、妊娠 20 日目に安楽殺し、その妊娠状態を確認した。

妊娠 7 日目の持続静注中に、MLN0002 を投与したウサギ 24 匹中 3 匹（30 mg/kg 群 2 匹及び 100 mg/kg 群 1 匹）が過敏性反応とみられる一般状態変化を示し、当該 3 匹のうち 30 mg/kg 群の 1 匹が死亡した。また 10 mg/kg 群の 1 匹が一般状態変化を示さずに死亡した。認められた一般状態変化等から、ウサギに異種蛋白質を投与した際にしばしば認められる過敏性反応に起因した可能性が高いと判断された。

生存動物では、評価したいずれのパラメータにも毒性は認められなかった。100 mg/kg 群における C_{max} の平均値は 2,590 μg/mL、$AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値は 214,000 hr*μg/mL であった。

すべての投与群で RAHA が検出され、10 mg/kg 群の 1 匹では中和作用が認められた。MLN0002 は、10 mg/kg 群の 1 匹を除き、投与した全動物において投与後 312 時間（妊娠 20 日目）までのすべてのタイムポイントで血中に検出された。MLN0002 による $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する結合は速やかに飽和し、妊娠 20 日目まで持続した。

以上の成績に基づき、GLP 適用での New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量として、10、30 及び 100 mg/kg を選択した。

2.6.6.6.2.2 MLN0002（製造法 B 製剤）のウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（評価）

GLP 適用で New Zealand white ウサギを用いた試験を実施し、MLN0002 の胚・胎児毒性並びに TK、PD 及び RAHA を評価した（概要表 2.6.7.13；4.2.3.5.2-2 報告書番号[redacted]）。

交尾が確認された各群雌 28 匹（主試験用として 25 匹、TK／PD／RAHA 試験用として 3 匹）の New Zealand white ウサギに、妊娠 7 日目に 1 回、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002 の 10 mg/kg、30 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を 60 分間持続静注し、妊娠 29 日目に安楽殺した。

死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、子宮、胎盤及び卵巣の肉眼観察、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数、黄体数、子宮重量、胎児体重、外表、内臓及び骨格の奇形並びに変異を評価した。TK／PD／RAHA 用動物は、妊娠 20 日目に安楽殺し、その妊娠状態を確認した。

死亡動物はみられず、評価したパラメータのいずれにも被験物質に関連した変化は認められなかった。

以上の成績から、本試験において、母動物及び胚・胎児発生毒性に対する NOAEL は試験した最高用量である 100 mg/kg と判断した。同用量での C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}337hr}$ 値は、それぞれ 3020 μg/mL 及び 366,000 hr*μg/mL であった。

MLN0002 の免疫原性は低用量で顕著であり、妊娠 20 日目（投与 2 週間後）に 10 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹に中和作用を有する高抗体価の RAHA（18,750 以上）が発現し、TK 及び PD パラメータへの影響が認められた。対照的に、30 及び 100 mg/kg 群では、免疫原性は軽微であり、中和作用はみられなかった。なお、100 mg/kg 群の PD 成績から、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンは投与直後から試験期間を通じて MLN0002 により結合飽和されたことが示された。

2.6.6.6.3 MLN0002（製造法 B 製剤）のカニクイザルにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

：添付資料番号 4.2.3.5.3-1（評価）

GLP 適用でカニクイザルを用いた試験を実施し、MLN0002（製造法 B 製剤）の出生前及び出生後の発生並びに母体への機能への影響並びに TK、PD 及び RAHA を評価した（概要表 2.6.7.14 ; 4.2.3.5.3-1 報告書番号[redacted]）。

妊娠雌カニクイザル各群 12 匹に、妊娠 20～140 日目まで 2 週間に 1 回の間隔で、対照溶媒（生理食塩液）又は MLN0002 の 10 mg/kg 若しくは 100 mg/kg を 20～30 分間持続静注し、分娩後 181 日目にすべての生存母動物及び乳仔を安楽殺した。

すべての母動物について、一般状態観察、体重、摂餌量及び膣スメアを評価し、乳仔については、出生児数、生存率、一般状態、体重、発育・形態、行動・機能、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を評価した。また、母動物及び乳仔の TK、PD 及び PAHA、並びに、分娩後 28 日目の母動物乳汁中の TK についても評価した。

100 mg/kg 群の母動物 2 匹が下痢、体重減少及び脱水を伴う状態悪化を示したため、分娩後 35 日あるいは 53 日目にそれぞれ安楽殺した。病理組織学的検査の結果、大腸に炎症性変化が認められたため、カニクイザルにしばしばみられる細菌感染症による変化であり、被験物質との関連はないと判断された。妊娠期間のストレス及び出産後の体力低下が、感染に対する感受性を高めた可能性も考えられる。なお、2 匹ともに出生児に異常はみられなかった。

その他、母動物及び乳仔共に、評価したパラメータのいずれにも被験物質に関連した変化は認められなかった。

以上の成績から、本試験において、出生前及び出生後の発生並びに母体への機能に対する NOAEL は、試験した最高用量である 100 mg/kg と判断した。同用量での妊娠 132 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}336hr}$ 値は、それぞれ 4140 μg/mL 及び 692,000 hr*μg/mL であり、国内臨床試験において潰瘍性大腸炎患者を対象に 300 mg を静脈内点滴投与した際の C_{max} 及び AUC 値（5.3.5.3-3 MLN0002/NDA001）のそれぞれ 33 倍及び 25 倍の曝露量であった。100 mg/kg を投与した母動物の乳仔における血中濃度の平均値は、分娩後 28 日目が 30.3 μg/mL、120 日目が 0.0184 μg/mL であり、181 日目には定量限界未満（BQL）であった。

MLN0002 投与後、母動物の MLN0002 血中濃度は速やかに増加した。なお、分娩後 28 日目に、100 mg/kg 群の 11 匹中 3 匹の乳汁中に低濃度の MLN0002 が検出されたが、他の投与

群の乳汁中にはMLN0002は検出されなかった。MLN0002を投与した母動物の乳仔では分娩後28日目に、10 mg/kg群の乳仔7匹中4匹、及び100 mg/kg群の乳仔11匹中11匹で血中に低濃度のMLN0002が検出され、分娩後120日目においても、100 mg/kg群の乳仔1匹に低濃度のMLN0002が検出された。なお、羊水は採取しなかったが、乳仔の血中のMLN0002は、主に胎盤通過によるものであり、母乳からの経口摂取によるものではないと考えられた。

MLN0002は一部の母動物で免疫原性を示した。総じてPAHAはMLN0002のTK及びPDに影響し、その影響は10 mg/kg群で顕著であった。PD成績から、妊娠から277日目までの間、MLN0002の$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する結合が確認された。

MLN0002を投与した母動物の乳仔の数匹、すなわち10 mg/kg群の7匹中2匹及び100 mg/kg群の9匹中1匹でPAHAが認められた。PAHAはこれら乳仔それぞれの母動物においても認められたため、その由来が乳仔、母動物のいずれによるものかの判別は不能であった。

MLN0002を投与した母動物の乳仔のPDと、その母動物のPDに相関がみられ、100 mg/kg群の乳仔では、分娩後28日目は全例、分娩後120日目では9匹中3匹に$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する結合飽和が認められたが、分娩後181日目には結合は認められなかった。

2.6.6.7 幼若動物毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-1（評価）

GLP適用で幼若カニクイザル（試験開始時に11～15ヵ月齢）を用いたMLN0002の13週間反復投与毒性試験を実施したところ、最大100 mg/kgの投与量まで良好な忍容性を示し、毒性は認められなかった。

実施した幼若動物毒性試験の概要を表2.6.6.7-1に示す。

表2.6.6.7-1　MLN0002の幼若動物毒性試験

被験物質	投与経路	投与レジメン	動物数／群	投与量 (mg/kg)	観察期間	GLP	添付資料番号 報告書番号
カニクイザル							
MLN0002（製造法C製剤）	30分間静注	q2wkで13週間	4-6 M 4-6 F	0、10、30及び100	93日間及び174日間	適用	4.2.3.5.4-1 [redacted]

GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M＝雄；F＝雌；q2wk＝2週間に1回の間隔。

GLP適用で幼若カニクイザルにMLN0002を、2週間に1回の間隔で13週間持続静注し、その後12週間の休薬期間を設けた場合のMLN0002の毒性及びその回復性を評価した（概要表2.6.7.15；4.2.3.5.4-1報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各4ないし6匹のカニクイザルに、対照溶媒（生理食塩液）又はMLN0002（製造法C製剤）の10 mg/kg、30 mg/kg若しくは100 mg/kgを、1、15、29、43、57、71及び85日目にそれぞれ30分間持続静注し、各群雌雄各4匹を93日目に、残り対照群及び100 mg/kg群の雌雄各2匹を174日目に、それぞれ安楽殺した。

一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に加えて、免疫毒性学的評価（血液及びCSFのリンパ球イムノフェノタイピング及びTDAR試験）を実施すると共に、TK、PD及びPAHAを評価した。

評価したパラメータのいずれにも被験物質に関連した変化は認められず、本試験における NOAEL は 100 mg/kg と判断した。同用量での 85 日目の C_{max} 値及び 0 時間から 168 時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}168hr}$）値は、それぞれ雄で 3030 μg/mL 及び 311,000 hr*μg/mL、雌で 3710 μg/mL 及び 362,000 hr*μg/mL であった。

MLN0002 は 10 及び 30 mg/kg 群の多くの動物で免疫原性を示した。総じて PAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、その影響は 10 mg/kg 群で顕著であった。MLN0002 投与後、MLN0002 血中濃度は速やかに増加し、初回投与後、10 mg/kg から 100 mg/kg にかけて、概ね用量比あるいは用量比を上回って増加した。最終投与後、30 mg/kg から 100 mg/kg にかけて、MLN0002 血中濃度は概ね用量比あるいは用量比を上回って増加した（10 mg/kg 群の AUC（$AUC_{0\text{-}168hr}$）値は同群で顕著であった PAHA の中和作用により算出できなかった）。

MLN0002 による B リンパ球及びメモリー（$CD45RA^-$）ヘルパー（$CD4^+$）T リンパ球上の $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する結合飽和度をフローサイトメトリーにより定量したところ、いずれの用量においても、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の結合飽和が試験期間を通じて持続したことが示された。

2.6.6.8 局所忍容性試験

：添付資料番号 4.2.3.6-1（評価）

GLP 適用でのウサギ及びサルを用いた反復投与毒性試験（4.2.3.2-1 報告書番号[redacted]、4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]及び 4.2.3.2-6 報告書番号[redacted]）における投与部位の病理組織学的検査の結果、MLN0002 投与に関連した影響は観察されず、MLN0002 の静脈内投与に起因した局所刺激性はないと考えられた。

GLP 適用で New Zealand white ウサギに MLN0002（製造法 C 製剤）を単回皮下又は筋肉内投与し、その局所忍容性を評価した（概要表 2.6.7.16；4.2.3.6-1 報告書番号[redacted]）。

各群 4 ないし 6 匹の雄 New Zealand white ウサギに、低濃度対照溶媒（ヒスチジン／ヒスチジン塩酸塩 25 mM、アルギニン塩酸塩 62.5 mM、0.03% ポリソルベート 80、5% スクロース、pH 6.3、315 mOsm/kg）及び高濃度対照溶媒（ヒスチジン／ヒスチジン塩酸塩 50 mM、アルギニン塩酸塩 125 mM、0.06% ポリソルベート 80、10% スクロース、pH 6.3、655 mOsm/kg）、又は MLN0002 の 30 及び 60 mg/mL を背部皮下投与、あるいは大腿部に筋肉内投与し（表 2.6.6.8-1）、投与約 72 時間後に安楽殺した。

表 2.6.6.8-1　MLN0002 を皮下投与又は筋肉内投与した時の局所忍容性評価のための試験デザイン

群番号	被験物質	投与量 (mg/site)	投与濃度 (mg/mL)	投与経路	動物数 雄
1	溶媒 [a]	0 及び 0	0	IM	4
2	溶媒 [b]	0 及び 0	0	SC	4
3	MLN0002[c]	69 及び 138	30 及び 60	SC	6
4	MLN0002[d]	17.4 及び 34.8	30 及び 60	IM	6

出典：4.2.3.6-1 報告書番号[redacted]

IM = 筋肉内；SC = 皮下

a　各動物の左右大腿部外側広筋に低及び高濃度の溶媒をそれぞれ筋肉内投与。

b　各動物の背部 2 ヵ所に低及び高濃度の溶媒を皮下投与。

c　各動物の背部 2 ヵ所に 30 及び 60 mg/mL の MLN0002 を皮下投与。

d　各動物の左右大腿部外側広筋に 30 及び 60 mg/mL の MLN0002 をそれぞれ筋肉内投与。

動物の生死、投与部位を含む一般状態観察、体重、並びに投与部位についての肉眼観察及び病理組織学的検査を実施した。

動物に死亡はみられず、体重及び一般状態にも異常はみられなかった。投与部位の肉眼観察及び病理組織学的検査においても、溶媒対照群及び MLN0002 群共に穿刺時の物理的刺激に伴う変化はみられたが、その頻度及び程度に両群間の相違はみられず、MLN0002 の皮下又は筋肉内投与時の局所忍容性は良好であった。

2.6.6.9 その他の毒性試験

2.6.6.9.1 免疫原性試験

ICH ガイドライン S6[2] [3]に従い、TK 及び PD データの解釈に資することを目的として、各種毒性試験においてウサギの RAHA 又はカニクイザルの PAHA を評価した（2.6.4.8）。総じて、低用量及び中用量（10 及び 30 mg/kg）の一部の動物において、RAHA／PAHA は MLN0002 の TK 及び PD パラメータに対して中和作用を示した。一方で、RAHA／PAHA の中和作用が認められない動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の持続的な結合飽和が認められた。高用量（100 mg/kg）では RAHA／PAHA は MLN0002 の TK 又は PD パラメータにほとんど影響を及ぼさなかった。また、NOAEL である同用量において、ほとんどすべての動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の持続的な結合が維持された。

2.6.6.9.2 免疫毒性試験

適応免疫及び自然免疫の構成要素である多くの白血球サブタイプに、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンの発現が認められることから、ICH ガイドライン S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」[4]に従って、MLN0002 がこれら白血球サブセットの機能に及ぼす影響を評価した。

リンパ球は適応免疫機構の構成要素であり、様々なサブセットが $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する（2.6.2.2.2.6）。また、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する NK 細胞は、自然免疫機構の構成要素である。そこでまず GLP 適用での 13 週間反復投与毒性試験において、MLN0002 が適応免疫応答及び自然免疫応答に及ぼす影響を評価した（2.6.6.3.5.1；4.2.3.7.2-1 報告書番号[redacted]）。

続いてGLP適用でのカニクイザルを用いた3週間静脈内投与免疫毒性試験を実施し、MLN0002とnatalizumab（抗α_4インテグリン抗体）の適応免疫応答及び自然免疫応答への影響を比較検討した（概要表2.6.7.17；4.2.3.7.2-2報告書番号[redacted]）。

上記の2試験の成績により、MLN0002はTDAR及びNK細胞活性に影響を及ぼさないことが示された。これらのデータは、100 mg/kgの用量で、最長9ヵ月間$\alpha_4\beta_7$インテグリンが結合飽和されたカニクイザルにおいて、MLN0002が日和見感染を含む関連の毒性を示さなかったことと一致するものである。（4.2.3.2-5報告書番号[redacted]及び4.2.3.2-6報告書番号[redacted]）。

2.6.6.9.2.1 natalizumab又はMLN0002（製造法C製剤）のカニクイザルにおける3週間静脈内投与による免疫毒性試験

：添付資料番号4.2.3.7.2-2（評価）

GLP適用で反復投与毒性試験を実施し、natalizumab又はMLN0002をカニクイザルに週1回の間隔で3週間持続静注した場合の免疫毒性を比較検討した（概要表2.6.7.17；4.2.3.7.2-2報告書番号[redacted]）。

各群雌雄各5匹のカニクイザルに、被験物質又は対照溶媒（生理食塩液）投与14日前（-14日目）及び初回投与日（1日目、被験物質又は対照溶媒の投与前）に破傷風トキソイド（TT）の0.5 mLを右大腿部に、また、1日目のTT投与前に、KLH（不完全フロイントアジュバントを1:1で混合したエマルジョン1000 μL）を左大腿部にそれぞれ筋肉内投与し、免疫した。1、8及び15日目に対照溶媒、natalizumabの30 mg/kg又はMLN0002の30 mg/kgを30分間持続静注し、22日目にかけて、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査に加えて、免疫学的評価（リンパ球イムノフェノタイピング、並びに抗KLH抗体及び抗TT抗体測定）を実施すると共に、TK、PD及びPAHAを評価した。

natalizumab及びMLN0002はともに良好な忍容性を示し、死亡例はみられず、また、一般状態、体重又は摂餌量に被験物質に関連した異常はみられなかった。

15日目のnatalizumab群のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}168hr}$の平均値は、それぞれ900 μg/mL及び64,200 hr*μg/mL、MLN0002群のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}168hr}$の平均値は、1010 μg/mL及び107,000 hr*μg/mLであった。

natalizumabはすべての動物で免疫原性を示し、PAHAはTK及びPDに対して中程度の影響を及ぼした。一方、MLN0002は一部の動物で免疫原性を示したが、PAHAはTK及びPDに対してほとんど影響を及ぼさなかった。

血液学的検査及びリンパ球イムノフェノタイピングでは、natalizumabに被験物質投与の影響がみられたが、MLN0002群では影響はみられなかった。すなわち、natalizumab群では、8、15及び22日目に、総白血球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、Bリンパ球数、総Tリンパ球数、ヘルパーTリンパ球数、細胞傷害性Tリンパ球数、メモリー細胞傷害性Tリンパ球数及びメモリーヘルパーTリンパ球数の有意な（$p < 0.05$）高値がみられた（図2.6.6.9-1）が、MLN0002群ではこれら変動はみられなかった。

アカゲザルを用いた検討においてもnatalizumabとMLN0002との間で末梢血中の白血球数への影響に同様の相違がみられており（2.6.2.2.3.2）、また、natalizumabがCNSの免疫監視

機構を抑制するのに対して、MLN0002 は CNS の免疫監視機構に影響を及ぼさないといった成績が得られている。

血管内から周囲組織への白血球の遊走は、これら組織における免疫監視機構の重要な要素となる。MLN0002 は、$\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1 接着経路に対する選択的な拮抗作用から腸管ホーミングメモリーT リンパ球の遊走を特異的に阻害する。腸管ホーミングメモリーT リンパ球は白血球全体の約 1%に過ぎないため、その変動による末梢血中の白血球又はリンパ球数への影響は小さいと考えられる。一方、$\alpha_4\beta_1$/血管細胞接着分子-1（VCAM-1）接着経路は、CNS を含めた様々な組織における白血球の多くのサブセットの遊走に関与することから（2.6.2.2.3.2）、$\alpha_4\beta_1$ インテグリン及び $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの両方に拮抗作用を示す natalizumab では、白血球の多くのサブセットに数の変動がみられ（

図 2.6.6.9-1）、免疫監視機構が広範に抑制されることとなる。一方で、MLN0002 は、その作用機序（MOA）の選択性の高さから、CNS の免疫監視機構を抑制することなく、腸管特異的に作用し、末梢血中の白血球数への影響も限定的であったものと考える。

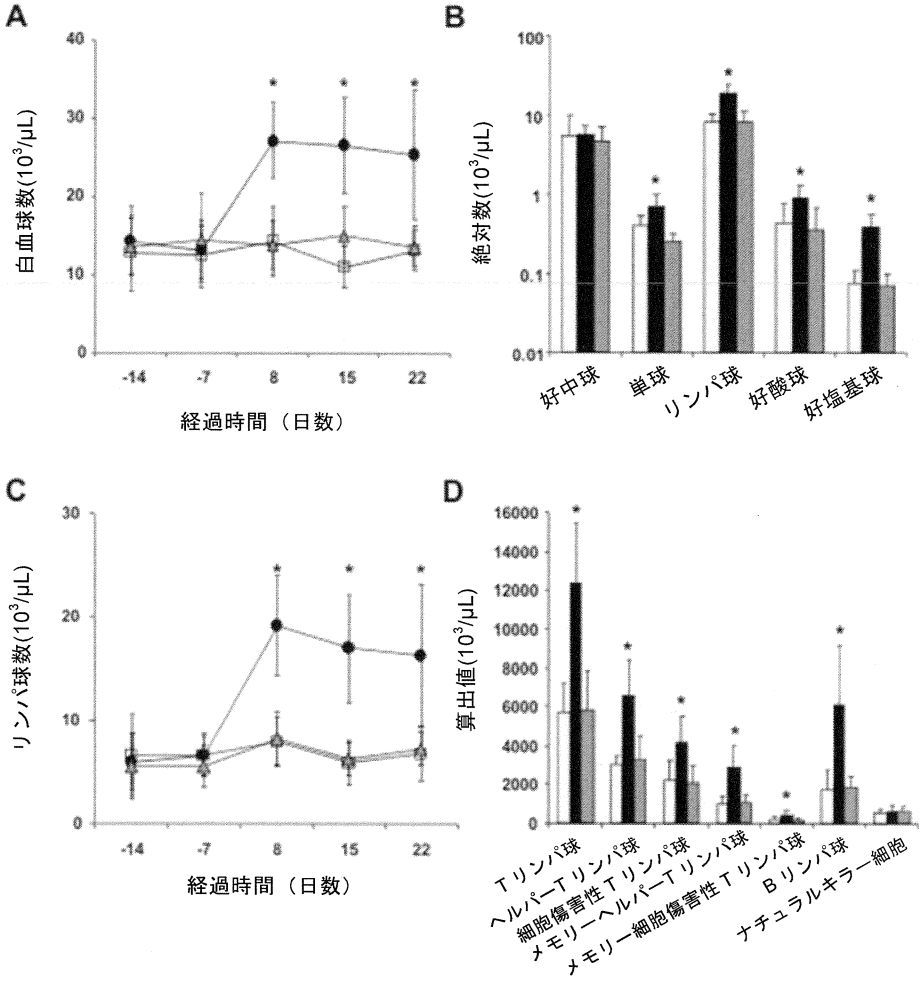


図 2.6.6.9-1　MLN0002 による末梢血中白血球数への限定的な影響

出典；4.2.3.7.2-2 報告書番号[redacted]

図 2.6.6.9-1　対照溶媒（□）、natalizumab の 30 mg/kg（●）、又は MLN0002 の 30 mg/kg（▲）を週 1 回の間隔で 3 週間投与したカニクイザルの末梢血中における白血球数変化。natalizumab は投与前（-14 日目及び-7 日目）値と比較して、投与後に白血球（8、15 及び 22 日目）（A）及びリンパ球（8、15 及び 22 日目）（C）の絶対数を増加させたが、MLN0002 では当該増加はみられなかった。B）natalizumab（黒のバー）は、対照群（白のバー）と比較し、8 日目に末梢血中の単球、リンパ球、好塩基球及び好酸球の絶対数を増加させたが、MLN0002（グレーのバー）では当該増加はみられなかった。D）natalizumab（黒のバー）は 8 日目に対照群（白のバー）と比較し、T リンパ球（$CD3^+$）総数、ヘルパーT リンパ球（$CD3^+$ $CD4^+$）、細胞傷害性 T リンパ球（$CD3^+$ $CD8^+$）、メモリーヘルパーT リンパ球（$CD3^+$ $CD4^+CD45RA^-$）、メモリー細胞傷害性 T リンパ球（$CD3^+$ $CD8^+CD45RA^-$）及び B リンパ球（$CD20^+$）数を増加させたが、MLN0002 では当該増加はみられなかった。natalizumab 及び MLN0002 共にナチュラルキラー（NK）細胞（$CD3^-CD16^+$）に変化はみられなかった。算出値 = リンパ球絶対数 × リンパ球ゲーティング率。データは各群 10 匹の群平均値 ± 標準偏差を示す。*印は、同日の対照群と比較し有意差があったことを示す（$p < 0.05$）。

日和見感染症と関連すると考えられる[13]二次応答型の TDAR に及ぼす MLN0002 の影響を natalizumab と比較検討した。投与 14 日前及び投与日の投与前に TT 抗原を筋肉内投与した後に、対照溶媒、natalizumab（30 mg/kg）又は MLN0002（30 mg/kg）を投与し、10～20 日後に、二次応答型の IgM 及び IgG を評価した。溶媒対照群、natalizumab 群及び MLN0002 群における二次応答型の抗 TT IgM 抗体産生量及び抗 TT IgG 抗体産生量の平均値及び個別値共

に各群間で相違はみられず、natalizumab 及び MLN0002 は TT 抗原に対する二次応答型適応免疫を阻害しなかった。

なお、本試験において natalizumab は一次応答型 TDAR を阻害しなかったが、既報ではカニクイザルの KLH に対する一次応答型 TDAR を有意に阻害すると報告されている（$P < 0.05$）[14]。一方、MLN0002 は、本試験及び前述の反復投与毒性試験（図 2.6.6.3-3）共に、カニクイザルにおいて同じ抗原に対する一次応答型 TDAR を阻害しなかった。

2.6.6.9.2.2 アカゲザルにおける T 細胞介在性の炎症に対する Act-1 投与の影響

：添付資料番号 4.2.3.7.2-3（参考）

GLP 非適用で、$\alpha_4\beta_7$ インテグリン阻害が胃腸管以外の部位において T 細胞応答を妨げるか否かを、皮膚の遅延型過敏反応（DTH）モデルを用いて検討した（概要表 2.6.7.17 ; 4.2.3.7.2-3 報告書番号[redacted]）。3 匹のアカゲザルに TT を 2 回投与して感作し、初回感作の 3 ヵ月後にチャレンジした。チャレンジ前日より Act-1（MLN0002 のマウスホモログ前駆体）の 2 mg/kg あるいは IgG1 対照抗体を 10 日間静脈内（1 日目）あるいは筋肉内投与（2～10 日目）した。2 回の感作時の各 72 時間後に生検した皮膚及びチャレンジ 3 日後に生検した皮膚について、T 細胞（$CD3^+$）又は単球／マクロファージ（$HAM\text{-}56^+$）に対する免疫組織学的染色を実施し、それぞれの標本での真皮中の細胞数を画像解析により測定した。その結果、Act-1 投与動物において、投与前値あるいは対照群との比較で $CD3^+$T 細胞又は $HAM\text{-}56^+$単球／マクロファージ細胞数に有意な相違はみられなかった（表 2.6.6.9-1）。さらに、Act-1 あるいは IgG1 対照抗体投与開始 4 日後に TT を投与し、$\alpha_4\beta_7$ インテグリン阻害が T 細胞依存性の体液性免疫応答に及ぼす影響についても検討したところ、TT 投与 29 日間にわたり、抗 TT 抗体価の値は Act-1 群及び対照群間で同程度であった。以上の成績から、$\alpha_4\beta_7$ インテグリン阻害は皮膚の適応免疫応答に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

表 2.6.6.9-1　アカゲザルにおける $\alpha_4\beta_7$ インテグリン阻害時の DTH 反応における T 細胞及びマクロファージ数への影響

被験物質	投与前値を基準とした真皮内の細胞数の平均値（標準偏差）（%）	
	$CD3^+$ T 細胞	$HAM56^+$ マクロファージ
Act-1	154.1 (44.5)	134.1 (38.7)
対照 IgG1	133.6 (38.6)	126.2 (36.4)

出典 ; 4.2.3.7.2-3 報告書番号[redacted]
DTH = 遅延型過敏性 ; Ig = 免疫グロブリン ; Act-1 = MLN0002 のマウスホモログ前駆体

2.6.6.9.3 MLN0002 投与に伴う変化の機序に関する試験

MLN0002 投与に伴う変化の機序に関する成績は、本モジュール及び 2.6.2 に収載した試験報告の中で報告されている。

2.6.6.9.4 依存性試験

MLN0002 は作用機序の観点から依存性に関するリスクを伴わない。$\alpha_4\beta_7$ インテグリンは CNS 組織に発現がみられず、また、反復投与毒性試験（最大 6 ヵ月 ;4.2.3.2-5 報告書番号[redacted]及び 4.2.3.2-6 報告書番号[redacted] 及び CNS 病態モデルにおい

てCNSへの影響が認められなかったことからも（2.6.2.2.3；4.2.1.1-23報告書番号RPT-01673 Amendment 1）、MLN0002の依存性評価に特化した非臨床試験は不要と判断し、実施しなかった。

2.6.6.9.5 代謝物の毒性試験

MLN0002は*in vivo*において個々のアミノ酸に分解されると想定されるため、代謝物に関する毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.9.6 不純物の毒性試験

GLP適用試験で使用した被験物質は、臨床試験で使用した製剤及び市販予定製剤と生化学的、生物物理学的、及び免疫化学的特性の点で同等であった（概要表2.6.7.4）。

2.6.6.9.7 その他の毒性試験

2.6.6.9.7.1 光毒性試験

MLN0002はヒト化モノクローナル抗体であるため、ICHガイドラインS10 [6]に従い、光毒性試験は不要と判断し、実施しなかった。

2.6.6.9.7.2 組織交差反応性試験

：添付資料番号4.2.3.7.7-2（評価）、-3（評価）、-4（評価）、-5（評価）

MLN0002は、ウサギ、サル及びヒトの$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対して同程度の結合親和性を示し（2.6.2.2.2.10；概要表2.6.3.2；4.2.1.1-16報告書番号RPT-00709、4.2.1.1-17報告書番号RPT-01101 Amendment 1、4.2.1.1-18報告書番号RPT-01052及び4.2.1.1-19報告書番号RPT-01337）、さらにサルにおいて、MLN0002はヒト組織と同様の組織交差反応性を示した（2.6.2.2.2.5；概要表2.6.7.17；4.2.3.7.7-2報告書番号[redacted]、4.2.3.7.7-3報告書番号[redacted]、4.2.3.7.7-4報告書番号[redacted]及び4.2.3.7.7-5報告書番号[redacted]）。これら結合親和性及び組織交差反応性成績は、ウサギ及びサルが薬理学的に適切に応答する動物種であることを示すものである。一方、MLN0002は、マウス、ラット又はモルモットの$\alpha_4\beta_7$インテグリンには結合しなかった。

GLP適用でのサル及びヒトの組織を用いた組織交差反応性試験において、MLN0002の主要な薬理学的標的が白血球のサブセットであることを示された。すなわち、MLN0002との結合は、リンパ組織内の白血球、血管腔内の白血球、又は様々な非リンパ系組織において認められた浸潤白血球に限定されていた。これらの成績は、MLN0002のマウスホモログ前駆体であるAct-1 mAbを用いて別途実施した試験成績[15]及び既知の$\alpha_4\beta_7$インテグリン発現パターンと一致しており[16] [17]、予期しなかった交差反応性及び標的以外での染色性は認められなかった。

2.6.6.10 考察及び結論

一連の非臨床試験において、MLN0002の毒性プロファイルが包括的に評価された。

非臨床毒性試験は、現行の規制ガイダンス（ICH S6 [R1] [2] [3]、M3 [R2] [1]及びS8 [4]など）に従い計画され、製造販売承認申請のために必要な主要な試験はGLP適用で実施された。

$\alpha_4\beta_7$インテグリンに対する結合親和性評価及びGLP適用での組織交差反応性試験において、MLN0002は、ヒト$\alpha_4\beta_7$インテグリンと同様かつ同程度の親和性でウサギ及びサルの$\alpha_4\beta_7$インテグリンに結合することから、MLN0002の毒性プロファイルを評価する上で、ウサギ及びサルが薬理学的に適切な動物種であることが示された。また、MLN0002は、評価したその他の動物種（げっ歯類など）で$\alpha_4\beta_7$インテグリンとの結合を示さなかったことから、ウサギ及びサルが毒性評価対象動物種として選択された。

予備試験にて投与量及び投与スケジュールが検討された後、GLP適用の反復投与毒性試験において、ウサギでは最長3ヵ月間（2週間に1回の間隔）及びサルでは26週間（2週間に1回の間隔）にわたりMLN0002が投与され、その毒性が評価された。

妊娠New Zealand whiteウサギ及びカニクイザルを用いて、胚・胎児発生、あるいは出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響が評価され、カニクイザルを用いてMLN0002の安全性薬理（中枢神経系、呼吸器系、心血管系、消化器系及び泌尿器系など）及び幼若動物への影響が評価された。がん原性リスクは*in vitro*及び反復投与毒性試験成績を元に評価された。さらに、New Zealand whiteウサギを用いてMLN0002の局所忍容性が評価され、New Zealand whiteウサギ、カニクイザル及びアカゲザルを用いた免疫毒性評価が実施された。

ICHガイドラインS6（R1）に従い[2] [3]、遺伝毒性試験は実施しなかった。また、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験についても不要と判断し、実施しなかった。これは、MLN0002がマウス及びラットに薬理活性を示さないこと、GLP適用でのNew Zealand whiteウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において生殖器系組織に病理組織学的所見が認められなかったこと、及びβ_7インテグリンホモ接合体性ヌルマウス（*Itgb7*$^{-/-}$）（$\alpha_4\beta_7$及び$\alpha_E\beta_7$インテグリン機能が欠損しているマウス）において受胎能が正常であること[5]を根拠としている。

2.6.6.10.1 単回及び反復投与毒性試験

単回及び反復投与毒性試験では、最高用量100 mg/kgにおいても、良好な忍容性を示し、毒性は認められなかった。

13週間及び26週間反復投与毒性試験の機能及び病理評価、並びにGLP適用でのカニクイザルを用いた単回投与による心血管系への影響を検討する安全性薬理試験成績に基づき、MLN0002は、心血管系、消化管系、泌尿器系、呼吸器系及び中枢神経系に毒性を示さなかった。パイエル板の軽微から軽度のリンパ球減少、及び結腸粘膜陰窩におけるβ_7インテグリン発現白血球の減少がみられ、MLN0002の薬理学的作用（末梢血中リンパ球の消化管への遊走抑制）に起因して生じた可能性が考えられた。一方で、MLN0002の$\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1経路に対する選択的な拮抗作用に一致し、全身性の免疫抑制を示唆する変化は認められなかった。

2.6.6.10.2 がん原性試験

げっ歯類はMLN0002に薬理学的に応答しないため、発がん性を評価する通常の長期動物試験（げっ歯類を用いたバイオアッセイ）はMLN0002に適用できない。そこで、$\alpha_4\beta_7$インテグリンを発現するヒト腫瘍細胞が造血細胞由来に限定されることを確認し、造血細胞由来のヒト腫瘍細胞株に対するMLN0002の影響を評価することで、そのがん原性を評価した。

MLN0002 は、*in vitro* において $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する造血細胞由来のヒト腫瘍細胞株に対して、その細胞増殖及び細胞死に影響を及ぼさなかった。また、MLN0002 は $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するヒト白血球に対して、サイトカイン産生、活性化、細胞増殖及び細胞死など、腫瘍形成に影響を及ぼす因子にも影響を与えなかった（2.6.2.2.2）。さらに、カニクイザルを用いた 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験において、ヒトにおける臨床用量を投与した際の曝露量をはるかに上回る曝露量においても、細胞増殖及び細胞死並びに全身性免疫調節への影響を示唆する変化はみられなかった。以上の成績から、MLN0002 の発がん性リスクは低いと判断された。

2.6.6.10.3 生殖発生毒性試験

New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、及びカニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、MLN0002 は、試験した最高用量の 100 mg/kg において影響を及ぼさなかった。

2.6.6.10.4 幼若動物毒性試験

幼若カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験において、MLN0002 は、試験した最高用量の 100 mg/kg において影響を及ぼさなかった。

2.6.6.10.5 局所忍容性試験

各種反復投与毒性試験において、MLN0002 の持続静注は局所刺激性を示さなかった。New Zealand white ウサギへの MLN0002 の皮下投与及び筋肉内投与においても良好な忍容性が認められた。

2.6.6.10.6 その他の毒性試験

毒性試験の一環として MLN0002 の TK 及び PD 評価が実施された（2.6.4.8）。さらに、MLN0002 に対する中和作用の有無を評価するために、ウサギの RAHA 又はカニクイザルの PAHA の発現が評価された。総じて RAHA／PAHA の発現は用量に反比例し、低用量及び中用量（10 及び 30 mg/kg）では複数の動物で MLN0002 の TK 及び PD に対する中和作用がみられた。一方で、RAHA／PAHA による中和作用が認められなかった動物では、$\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の持続的な結合飽和が認められた。高用量（100 mg/kg）では、RAHA／PAHA は MLN0002 の TK 又は PD にほとんど影響を及ぼさなかった。また、NOAEL である同用量において、反復投与毒性試験のほぼすべての動物で、投与期間及び休薬期間を通じて、標的である $\alpha_4\beta_7$ インテグリンに対する MLN0002 の持続的な結合が維持された。

13 週間反復毒性試験あるいは別途実施した試験において、血液及び CSF のリンパ球イムノフェノタイピング、TDAR、並びに NK 細胞活性について評価したところ、MLN0002 は全身性の適合及び自然免疫応答に対して影響を及ぼさなかった。

MLN0002 は mAb であるため、ICH ガイドライン S10 [6]に従い、光毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.10.7 全般的結論

MLN0002 の非臨床での安全性評価は ICH M3（R2）[1]、S6（R1）[2] [3]、及び S8 [4]に従って実施され、製造販売承認申請のために必要な主要な非臨床試験は GLP 適用で実施された。

毒性プロファイルは、薬理学的に適切な応答を示す 2 種の動物種、すなわちカニクイザル及び New Zealand white ウサギを用いて包括的に評価された。単回及び反復投与毒性試験における最高用量（国内臨床試験において潰瘍性大腸炎患者を対象に 300 mg を静脈内点滴投与した際の C_{max} 及び AUC 値のそれぞれ 42 倍及び 31 倍の曝露量；5.3.5.3-3 MLN0002/NDA001）で、MLN0002 は良好な忍容性を示し、毒性は認められなかった。13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の機能及び病理評価、並びに GLP 適用でのカニクイザルを用いた単回投与による心血管系への影響を検討する安全性薬理試験に基づき、MLN0002 は、心血管系、消化器系、泌尿器系、呼吸器系、及び中枢神経系に毒性を示さなかった。消化管の粘膜下リンパ組織あるいは結腸粘膜陰窩において β_7 インテグリンを発現するリンパ球の減少がみられたが、これは、主に MLN0002 の薬理学的作用（$\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現白血球の消化管への遊走を抑制）に起因して生じた可能性が考えられた。これら成績は、自然発症性の大腸炎を有するワタボウシタマリンの消化管における抗炎症効果を示した薬理試験成績と一致し（2.6.2.2.3）[18]、霊長類において $\alpha_4\beta_7$ インテグリンの選択的な阻害は消化管特異的な抗炎症効果をもたらすことを示している。

MLN0002 がこのように消化管に選択性の高い薬理学的プロファイルを示すのに対して、$\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_1$ インテグリン両方に拮抗作用を有する natalizumab では、カニクイザル及びアカゲザルの末梢血において、多様なサブセットにおける白血球及びリンパ球増加を惹起し、免疫監視機構を広範に抑制した。この影響範囲の相違は、2 つの拮抗薬の作用機序に明確な差異があることに起因する。

MLN0002 の腸管指向性 $\alpha_4\beta_7$/MAdCAM-1 経路に対する選択的な拮抗作用に一致し、MLN0002 投与による全身性の免疫抑制を示唆する変化は認められなかった。カニクイザルにはウイルス、細菌及び寄生虫など多くの病原体が存在し、全身性の免疫抑制は日和見感染リスクを亢進するが、MLN0002 投与により、最大 9 ヵ月間 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンが結合飽和されたサルにおいて、感染症罹患率の増加はみられなかった。これら成績は、MLN0002 が、一次応答型及び二次応答型 TDAR を含む全身性免疫応答を低下させなかった結果と一致する。

MLN0002 は、New Zealand white ウサギにおける胚・胎児発生、カニクイザルにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に影響を及ぼさず、幼若カニクイザルを用いた反復投与毒性試験においても毒性所見は認められなかった。

MLN0002 は、*in vitro* で $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現する造血細胞由来の腫瘍細胞株の細胞増殖又は細胞死に影響せず、反復投与毒性試験において細胞増殖及び細胞死に影響を及ぼさず、全身性の免疫抑制を示唆する変化もみられなかったことから、その発がん性リスクは低いと判断された。

また、MLN0002 の持続静注の局所忍容性は良好であった。

以上、非臨床毒性試験においてヒトの安全性に関して懸念されるような特記すべき知見はみられなかった。

2.6.6.11 参考文献

[1] Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals M3(R2). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2009.

[2] Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1997.

[3] Addendum to ICH S6: preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6(R1). International Conference on Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2009. Draft consensus guideline.

[4] Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals S8. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005.

[5] Wagner N, Löhler J, Kunkel EJ, Ley K, Leung E, Krissansen G, et al. Critical role for beta7 integrins in formation of the gut-associated lymphoid tissue. Nature. 1996;382(6589):366-70.

[6] Photosafety evaluation of pharmaceuticals S10. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2014.

[7] Benson MD, Scheinberg MA, Shirahama T, Cathcart ES, Skinner M. Kinetics of serum amyloid protein A in casein-induced murine amyloidosis. J Clin Invest. 1977;59(3):412-7.

[8] Soler D, Chapman T, Yang LL, Wyant T, Egan R, Fedyk ER. The binding specificity and selective antagonism of vedolizumab, an anti-alpha4beta7 integrin therapeutic antibody in development for inflammatory bowel diseases. J Pharmacol Exp Ther. 2009;330(3):864-75.

[9] Erle DJ, Briskin MJ, Butcher EC, Garcia-Pardo A, Lazarovits AI, Tidswell M. Expression and function of the MAdCAM-1 receptor, integrin alpha 4 beta 7, on human leukocytes. J Immunol. 1994;153(2):517-28.

[10] DeNucci CC, Pagan AJ, Mitchell JS, Shimizu Y. Control of alpha4beta7 integrin expression and CD4 T cell homing by the beta1 integrin subunit. J Immunol. 2010;184(5):2458-67.

[11] Schweighoffer T, Tanaka Y, Tidswell M, Erle DJ, Horgan KJ, Ginther Luce GE, et al. Selective expression of integrin alpha 4 beta 7 on a subset of human $CD4^+$ memory T cells with Hallmarks of gut-trophism. J Immunol. 1993;151(2):717-29.

[12] Yang JT, Rayburn H, Hynes RO. Cell adhesion events mediated by alpha 4 integrins are essential in placental and cardiac development. Development. 1995;121(2):549-60.

[13] Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, Subramanyam M, Goelz S, Natarajan A, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. New Engl J Med. 2012;366(20):1870-80.

[14] Wehner NG, Gasper C, Shopp G, Nelson J, Draper K, Parker S, et al. Immunotoxicity profile of natalizumab. J Immunotoxicol. 2009;6(2):115-29.

[15] Lazarovits AI, Moscicki RA, Kurnick JT, Camerini D, Bhan AK, Baird LG, et al. Lymphocyte activation antigens. I. A monoclonal antibody, anti-Act I, defines a new late lymphocyte activation antigen. J Immunol. 1984;133(4):1857-62.

[16] Brandtzaeg P, Farstad IN, Haraldsen G. Regional specialization in the mucosal immune system: primed cells do not always home along the same track. Immunol Today. 1999;20(6):267-77.

[17] Quiding-Järbrink M, Ahlstedt I, Lindholm C, Johansson E-L, Lönroth H. Homing commitment of lymphocytes activated in the human gastric and intestinal mucosa. Gut. 2001;49(4):519-25.

[18] Hesterberg PE, Winsor-Hines D, Briskin MJ, Soler-Ferran D, Merrill C, Mackay CR, et al. Rapid resolution of chronic colitis in the cotton-top tamarin with an antibody to a gut-homing integrin alpha 4 beta 7. Gastroenterology. 1996;111(5):1373-80.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 42
2.6.7.5 単回投与毒性試験 44
2.6.7.6 反復投与毒性試験：サル 2 週（製造法 A 製剤及び B 製剤の比較試験：GLP 非適用） 45
2.6.7.7 A 反復投与毒性試験：ウサギ 3 ヵ月 46
2.6.7.7 B 反復投与毒性試験：サル 14 日 49
2.6.7.7 C 反復投与毒性試験：サル 3 ヵ月 50
2.6.7.7 D 反復投与毒性試験：サル 13 週 52
2.6.7.7 E 反復投与毒性試験：サル 26 週 54
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：用量設定試験：GLP 非適用 57
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：ウサギ胚・胎児発生に関する試験 58
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：サル出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 . 59
2.6.7.15 幼若動物毒性試験：サル 13 週 61
2.6.7.16 局所忍容性試験 63
2.6.7.17 その他の毒性試験 64

※該当試験のない項番号は省略

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：MLN0002 及び Act-1								
試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP	実施施設	添付資料番号 報告書番号	区分
単回投与毒性試験								
	カニクイザル	IV	単回	10 及び 100	非適	[redacted]	4.2.3.1-1 [redacted]	参考
	カニクイザル	IV	単回	0、10 及び 30	適	[redacted]	4.2.3.1-2 [redacted]	評価
反復投与毒性試験								
	New Zealand white ウサギ	IV	3 ヵ月（回復 4 週）	0、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.2-1 [redacted]	評価
	カニクイザル	IV	14 日	2.5	適	[redacted]	4.2.3.2-2 [redacted]	評価
	カニクイザル	IV	2 週	10	非適	[redacted]	4.2.3.2-3 [redacted]	参考
	カニクイザル	IV	3 ヵ月（回復 10 週）	0、2.5 及び 10	適	[redacted]	4.2.3.2-4 [redacted]	評価
	カニクイザル	IV	13 週（回復 12 週）	0、10、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.2-5 [redacted]	評価
	カニクイザル	IV	26 週（回復 12 週）	0、10、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.2-6 [redacted]	評価
遺伝毒性試験								
実施せず								
がん原性試験								
	ヒト腫瘍組織	*in vitro*	N/A	Act-1：2 及び 20 μg/mL	非適	[redacted]	4.2.3.4.3-1 [redacted]	参考
	ヒト腫瘍細胞株	*in vitro*	N/A	Act-1：0.039～20 μg/mL	非適	Millennium	4.2.3.4.3-2 [redacted]	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：MLN0002 及び Act-1								
試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP	実施施設	添付資料番号 報告書番号	区分
生殖発生毒性試験								
胚・胎児発生に関する試験								
	New Zealand white ウサギ	IV	単回	0、10、30 及び 100	非適	[redacted]	4.2.3.5.2-1 [redacted]	参考
	New Zealand white ウサギ	IV	単回	0、10、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.5.2-2 [redacted]	評価
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験								
	カニクイザル	IV	4 ヵ月	0、10 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.5.3-1 [redacted]	評価
幼若動物毒性試験								
	カニクイザル	IV	13 週（回復 12 週）	0、10、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.5.4-1 [redacted]	評価
局所忍容性試験								
	New Zealand white ウサギ	SC 及び IM	単回	30 及び 60 mg/mL	適	[redacted]	4.2.3.6-1 [redacted]	評価
その他の毒性試験								
免疫原性試験								
一般毒性試験の一環として評価								
免疫毒性試験								
	カニクイザル	IV	3 ヵ月	0、10、30 及び 100	適	[redacted]	4.2.3.7.2-1 [redacted]	評価
	カニクイザル	IV	3 週	0、30	適	[redacted]	4.2.3.7.2-2 [redacted]	評価
	アカゲザル	IV 及び IM	10 日間	Act-1：2.0	非適	[redacted]	4.2.3.7.2-3 [redacted]	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：MLN0002 及び Act-1								
試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP	実施施設	添付資料番号 報告書番号	区分
その他の毒性試験（続き）								
組織交差反応性試験								
	ヒト及びカニクイザル	*in vitro*	N/A	MLN0002：1、2、4、5、8、10、15 及び 20 µg/mL Act-1：1、5、10、15 及び 20 µg/mL	非適	[redacted]	4.2.3.7.7-1 [redacted]	参考
	カニクイザル	*in vitro*	N/A	2 及び 20 µg/mL	適	[redacted]	4.2.3.7.7-2 [redacted]	評価
	ヒト	*in vitro*	N/A	Act-1：5 及び 20 µg/mL	適	[redacted]	4.2.3.7.7-3 [redacted]	評価
	ヒト	*in vitro*	N/A	5 及び 20 µg/mL	適	[redacted]	4.2.3.7.7-4 [redacted]	評価
	ヒト	*in vitro*	N/A	2 及び 20 µg/mL	適	[redacted]	4.2.3.7.7-5 [redacted]	評価

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準[redacted]; Millennium = Millennium Pharmaceuticals, Inc (Cambridge, MA, USA) ;[redacted]; N/A = 該当せず；IV = 静脈内；SC = 皮下；IM = 筋肉内；Act-1 = MLN0002 のマウスホモログ前駆体。

[redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：MLN0002					
試験の種類	試験系	投与方法	投与量(mg/kg)	GLP[a]	添付資料番号 報告書番号
単回投与による胚・胎児発生に関する試験	New Zealand white ウサギ	15 分間持続静注	0、10、30 及び 100	非適	4.2.3.5.2-1 [redacted]
		60 分間持続静注	0、10、30 及び 100	適	4.2.3.5.2-2 [redacted]
単回投与毒性試験	カニクイザル	30 分間持続静注[b]	10 及び 100	非適	4.2.3.1-1 [redacted]
		30 分間持続静注	0、10 及び 30	適	4.2.3.1-2 [redacted]
3 ヵ月間反復投与毒性試験	New Zealand white ウサギ	60 分間持続静注	0、30 及び 100	適	4.2.3.2-1 [redacted]
14 日間反復投与毒性試験	カニクイザル	1 日目に 60 分間持続静注、2 日目に 30 分間持続静注、3～14 日目に 15 分間持続静注	2.5	非適	4.2.3.2-2 [redacted]
		1 日目に 30 分間持続静注、以降の投与日は 1 分間静注[b]	10	非適	4.2.3.2-3 [redacted]
3 ヵ月間/13 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	1 日目に 30 分間持続静注、以降の投与日は 1 分間静注	0、2.5 及び 10	非適	4.2.3.2-4 [redacted]
		10 分間持続静注	0、10、30 及び 100	適	4.2.3.2-5 [redacted]
26 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	20 分間持続静注	0、10、30 及び 100	適	4.2.3.2-6 [redacted]
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	カニクイザル	20～30 分間持続静注	0、10 及び 100	適	4.2.3.5.3-1 [redacted]
幼若動物毒性試験	カニクイザル	30 分間持続静注	0、10、30 及び 100	適	4.2.3.5.4-1 [redacted]
免疫毒性試験	カニクイザル	30 分間持続静注	0 及び 30	適	4.2.3.7.2-2 [redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

a 4.2.3.5.2-1 報告書番号[redacted]、4.2.3.1-1 報告書番号[redacted]、4.2.3.2-2 報告書番号[redacted]、4.2.3.2-3 報告書番号[redacted]及び 4.2.3.2-4 報告書番号[redacted]のトキシコキネティクス（TK）、薬力学（PD）、及びウサギ抗ヒト抗体（RAHA）又はサル抗ヒト抗体（PAHA）解析、並びに 4.2.3.5.3-1 報告書番号[redacted]及び 4.2.3.7.2-2 報告書番号[redacted]の PD 解析は GLP 非適用で実施した。

b 4.2.3.1-1 報告書番号[redacted]及び 4.2.3.2-3 報告書番号[redacted]の TK、PD、及び PAHA 成績は 2.6.5.16 に収載した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：MLN0002
分析対象物質：MLN0002

単回投与試験	New Zealand white ウサギ					カニクイザル				ヒト	
添付資料番号 報告書番号：	4.2.3.5.2-1 [redacted]（生殖発生毒性；GLP 非適用）[a]			4.2.3.5.2-2 [redacted]（生殖発生毒性；GLP 適用）[b]		4.2.3.1-2 [redacted]（GLP 適用）[c]				5.3.5.3-3 [redacted]	
性別：	F			F		M + F				M + F	
製造法：	B			B		B		C		C	
n：	3			3		6		6		6	6
投与量 (mg/kg)	C_{max}	$AUC_{0-168hr}$	$AUC_{0-312hr}$	C_{max}	$AUC_{0-337hr}$	C_{max}	$AUC_{0-168hr}$	C_{max}	$AUC_{0-168hr}$	C_{max}	$AUC_{0-336hr}$
~4[d]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	126.5	1176
10	187 (N/A[e])	17,000 (N/A[e])	22,600 (N/A[e])	244 (31.8)	28,300 (4480)	296 (33.2)	25,100 (1620)	342 (79.7)	25,100 (4430)	—	—
30	621 (190)	55,400 (12,200)	72,800 (11,000)	818 (24.3)	102,000 (8260)	794 (43.4)	64,800 (3420)	828 (113)	66,500 (4520)	—	—
100	2590 (389)	214,000 (34,000)	279,000 (35,300)	3020 (159)	366,000 (26,800)	—	—	—	—	—	—

— = 該当せず；AUC_{0-Xhr} = 0 時間から X 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；M = 雄；F = 雌；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；TK = トキシコキネティクス。

注記：C_{max} 及び AUC の単位はそれぞれ μg/mL 及び hr*μg/mL。数値は平均値（標準偏差）。ただし、ヒトの AUC の単位は day*μg/mL。
ウサギ抗ヒト抗体（RAHA）、サル抗ヒト抗体（PAHA）及び薬力学（PD）データは後続の表に収載する。

a タイムポイントの計時起点は静注終了時点。妊娠 7 日目に MLN0002 を 15 分間単回持続静注した。10 mg/kg 群の 1 匹が投与中に死亡した。10 mg/kg 群において RAHA による中和作用が認められた。TK パラメータの平均値は全動物のデータを用いて計算した。

b タイムポイントの計時起点は静注終了時点。妊娠 7 日目に MLN0002 を 60 分間単回持続静注した。10 mg/kg 群では、妊娠 20 日目に 3 匹中 2 匹に高抗体価の RAHA による中和作用が認められた。TK パラメータの平均値は全動物のデータを用いて計算した。

c タイムポイントの計時起点は静注開始時点。1 日目に MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）を 30 分間単回持続静注した。いずれの動物にも顕著な PAHA 抗体価は認められなかった。

d 300 mg（臨床使用用量、静脈内点滴投与）。

e n = 2。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

被験物質：MLN0002

分析対象物質：MLN0002

反復投与試験	New Zealand white ウサギ		カニクイザル												ヒト	
添付資料番号 報告書番号：	4.2.3.2-1 [redacted]（3ヵ月、GLP適用）[a]		4.2.3.2-2 [redacted]（14日間、GLP非適用）[b]		4.2.3.7.2-2 [redacted]（免疫毒性、GLP適用）[c]		4.2.3.2-4 [redacted]（3ヵ月、GLP非適用）[d]		4.2.3.2-5 [redacted]（13週間、GLP適用）[e]		4.2.3.2-6 [redacted]（26週間、GLP適用）[f]		4.2.3.5.3-1 [redacted]（生殖発生毒性、GLP適用）[g]		4.2.3.5.4-1 [redacted]（幼若動物毒性、GLP適用）[h]		5.3.5.3-3 MLN0002/NDA001	
最終投与日：	84		14		15		85		85		169		132 (GD)		85		43	
性別：	M + F		M + F		M + F		M + F		M + F		M + F		F		M + F		M + F	
製造法：	B		A		C		A		B		B		B		C		C	
n：	9		6		8		4		9-12		3-12		4-12		6-12 （雌雄各 3-6）		6	6
投与量 (mg/kg)	C_{max}	$AUC_{0-337hr}$	C_{max}	C_{max}	$AUC_{0-168hr}$	C_{max}	AUC_{0-24hr}	C_{max}	$AUC_{0-336hr}$	C_{max}	$AUC_{0-333hr}$	C_{max}	$AUC_{0-336hr}$	C_{max}	$AUC_{0-168hr}$	C_{max}	$AUC_{0-336hr}$
2.5	—	—	330.8 (40.5)	—	—	275 (82.2)	4960 (1460)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
~4 [i]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	126.5	1176
10	—	—	—	—	—	770 (132)	13,300 (1680)	150 (172)	28,400 (35,800)	503 (60.4)	82,500 (17,200)	364 (61.8)	62,200 (14,000)	7.87 [j] 41.3	ND [j] ND	—	—
30	645 (608)	82,900 (122000)	—	1010 (82.8)	107,000 (15,100)	—	—	902 (377)	110,000 (122,000)	1400 (324)	232,000 (63,800)	—	—	1090 [j] 754	114,000 [j] 51,700	—	—
100	9890 (4970)	1,230,000 (644,000)	—	—	—	—	—	5070 (875)	834,000 (142,000)	5260 (1070)	876,000 (266,000)	4140 (1030)	692,000 (178,000)	3030 [j] 3710	311,000 [j] 362,000	—	—

AUC_{0-Xhr} = 0 時間から X 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；M = 雄；F = 雌；GD = 妊娠日齢；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；TK = トキシコキネティクス；ND= PAHA による顕著な中和作用が認められたことにより測定値が得られなかった。

注記：C_{max}及び AUC の単位はそれぞれ μg/mL 及び hr*μg/mL。数値は平均値（標準偏差）。ただし、ヒトの AUC の単位は day*μg/mL。

ウサギ抗ヒト抗体（RAHA）、サル抗ヒト抗体（PAHA）及び薬力学（PD）データは、後続の表に収載する。

a タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 の 60 分間持続静注を 2 週に 1 回、12 週間行った。30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48024）が 14 日目、100 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 48031）が 42 日目にそれぞれ死亡した。MLN0002 は多くの動物において免疫原性を示した。RAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、30 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められた。TK パラメータの平均値は全動物のデータを用いて計算した。

b タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 を 60 分間（1 日目）、30 分間（2 日目）及び 15 分間（3～14 日目）持続静注した。PAHA については評価しなかった。

c タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 を 30 分間持続静注した。2 匹に TK に対する PAHA の中和作用が認められたことから、当該 2 匹は 15 日目の平均値の計算から除外した。

d 10 mg/kg 群は、MLN0002 を 1 週目に 2 回（1 日目及び 4 日目）、2 週目から 12 週目までは週 1 回投与した。2.5 mg/kg 群は、MLN0002 を 1 週目は 1 日 1 回、2 週目から 4 週目までは週 2 回、5 週目から 12 週目までは週 1 回投与した（2.5 mg/kg 及び 10 mg/kg 共に 1 日目は 30 分間持続静注し、以降は静注）。PAHA による中和作用が認められ、2.5 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、10 mg/kg 群の 10 匹中 6 匹で TK に影響を及ぼしたため、当該動物のデータは TK パラメータの平均値の計算から除外した。

e タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 の 10 分間持続静注を 2 週に 1 回、13 週間行った。MLN0002 は多くの動物において免疫原性を示した。PAHA は MLN0002 の TK に影響を及ぼし、10 mg/kg 群で最も顕著な影響が認められ,同群の 12 匹中 3 匹のデータは TK パラメータの平均値の計算から除外した。

f タイムポイントの計時起点は静注終了時点。MLN0002 の 20 分間持続静注を 2 週に 1 回、26 週間行った。10 mg/kg 群の場合 n = 3 であったが、これは PAHA による顕著な中和作用が認められた 4 匹のデータを平均値の計算から除外したこと、及び別の 1 匹が死亡したことによる。30 mg/kg 群の場合 n = 5 であったが、これは、PAHA による顕著な中和作用が認められた 3 匹のデータを TK パラメータの平均値の計算から除外したことによる。

g タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 の 20～30 分間持続静注を 2 週に 1 回、妊娠 20～140 日目まで行った。10 mg/kg 群の場合 n = 4 であったが、これは PAHA による顕著な中和作用が認められた 5 匹のデータを TK パラメータの平均値の計算から除外したことによる。

h タイムポイントの計時起点は静注開始時点。MLN0002 の 30 分間持続静注を 2 週に 1 回、13 週間行った。10 mg/kg 群の場合 $AUC_{0\text{-}168hr}$ 値が得られなかったが、これは全例において PAHA による顕著な中和作用が認められたことによる。30 mg/kg 群の場合、雌雄各 n = 3 であったが、これは、PAHA による顕著な中和作用が認められた雌雄各 n = 1 匹のデータを TK パラメータの平均値の計算から除外したことによる。

i 300 mg（臨床使用用量、静脈内点滴投与）。

j 上段は雄、下段は雌。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.2-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用）

RAHA 抗体価の個別値

		抗体価								
		10 mg/kg			30 mg/kg			100 mg/kg		
妊娠日齢	タイムポイント (時間)	動物番号 46956	動物番号 46966	動物番号 46973	動物番号 46955	動物番号 46962	動物番号 46976	動物番号 46950	動物番号 46961	動物番号 46964
7	0	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
20	312	750	18,750	NS[a]	18,750	18,750	3750	3750	3750	150

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体；NS = 試料発生せず。

注記：陰性 < 30。

a 動物番号 46973 は妊娠 7 日目の持続静注中に死亡したため試料発生せず。

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 又は $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+$細胞の割合の平均値

		未結合 $\alpha_4\beta_7$ (%)			結合 MLN0002 (%)		
妊娠日齢	タイムポイント (時間)	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg
7	0	42.9 (N/A)	50.0 (5.0)	52.1 (2.1)	1.3 (N/A)	1.9 (0.2)	1.4 (0.5)
7	0.5	0.4 (N/A)	0.3 (0.0)	0.4 (0.2)	86.2 (N/A)	86.5 (1.4)	88.7 (1.4)
9	48	0.1 (N/A)	0.3 (0.1)	0.5 (0.4)	84.2 (N/A)	88.1 (1.9)	92.7 (2.0)
14	168	0.7 (N/A)	0.7 (0.3)	0.5 (0.2)	89.0 (N/A)	91.2 (1.4)	95.2 (3.3)
20	312	0.6 (N/A)	1.7 (1.6)	3.8 (3.4)	39.4 (N/A)	69.3 (8.1)	76.3 (11.5)

N/A = 該当せず。

注記：タイムポイントの計時起点は静注終了時点。n = 3（ただし、10 mg/kg 群は n = 2）。数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.2-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用）

RAHA 抗体価の個別値

妊娠日齢	タイムポイント	抗体価								
		10 mg/kg			30 mg/kg			100 mg/kg		
		動物番号 49694	動物番号 49700	動物番号 49702	動物番号 49693	動物番号 49698	動物番号 49699	動物番号 49692	動物番号 4002	動物番号 4003
7	投与前	陰性	陰性	30	150	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
20	投与前	18,750	3750	93,750	3750	3750	750	3750	3750	3750

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体。

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 又は $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+$細胞の割合の平均値

妊娠日齢	タイムポイント (時間)	未結合 $\alpha_4\beta_7$ (%)			結合 MLN0002 (%)		
		10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg
7	投与前	37.4 (12.6)	28.3 (6.47)	26.8 (1.94)	7.23 (1.70)	5.83 (2.41)	26.9 (23.9)
7	2	0.0333 (0.0577)	0.0333 (0.0577)	0.0333 (0.0577)	93.0 (1.78)	89.9 (1.72)	81.0 (1.78)
9	49	0.0667 (0.0577)	0.0667 (0.0577)	0.0667 (0.0577)	93.6 (0.557)	93.9 (0.666)	92.6 (0.252)
14	169	0.133 (0.0577)	0.0667 (0.115)	0.0333 (0.0577)	96.3 (0.404)	96.1 (1.10)	94.5 (0.493)
20	337	7.27 (6.47)	0.0667 (0.115)	2.77×10^{-18} (0.100)	35.2 (50.5)	97.1 (0.473)	96.3 (0.252)

注記：タイムポイントの計時起点は静注開始時点。n = 3。数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.1-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた単回投与毒性試験（GLP 適用）

PAHA 抗体価の個別値

投与量 (mg/kg)	製剤	動物 ID	抗体価			
			-7 日目	投与前	72 時間	168 時間
10	製造法 B 製剤	2001-MF11546M	陰性	陰性	陰性	陰性
		2002-MF10603M	陰性	陰性	陰性	陰性
		2003-MF11530M	100	100	陰性	100
		2501-MF49199F	陰性	陰性	陰性	陰性
		2502-MF49198F	陰性	陰性	陰性	100
		2503-MF45303F	陰性	陰性	陰性	陰性
30	製造法 B 製剤	3001-MF19532M	陰性	陰性	陰性	陰性
		3002-MF12440M	陰性	陰性	100	100
		3003-MF17573M	陰性	陰性	陰性	陰性
		3501-MF44269F	陰性	陰性	陰性	陰性
		3502-MF10621F	陰性	陰性	陰性	陰性
		3503-MF36456F	陰性	陰性	陰性	陰性
10	製造法 C 製剤	4001-MF19538M	陰性	陰性	陰性	陰性
		4002-MF19537M	陰性	陰性	陰性	陰性
		4003-MF30205M	陰性	陰性	陰性	陰性
		4501-MF45300F	陰性	陰性	陰性	陰性
		4502-MF10620F	陰性	陰性	陰性	陰性
		4503-MF14700F	陰性	陰性	陰性	陰性

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.1-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた単回投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

PAHA 抗体価の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	製剤	動物 ID	抗体価			
			-7 日目	投与前	72 時間	168 時間
30	製造法 C 製剤	5001-MF19539M	陰性	陰性	陰性	陰性
		5002-MF19528M	陰性	陰性	陰性	陰性
		5003-MF17572M	陰性	陰性	陰性	100
		5501-MF39392F	陰性	陰性	陰性	陰性
		5502-MF12504F	陰性	陰性	陰性	陰性
		5503-MF45335F	陰性	陰性	陰性	陰性

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；ID = 識別番号；PAHA = サル抗ヒト抗体。

a 陰性 = 定量限界未満（抗体価 < 100）又は specificity ratio ≤ 1.500。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.1-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた単回投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD4^+/CD45RA^-$、$CD4^+/CD45RA^+$及び $CD20^+$細胞の割合の平均値

経過時間 (時間)	未結合 $\alpha_4\beta_7$ (%)											
	$CD4^+/CD45RA^-$				$CD4^+/CD45RA^+$				$CD20^+$			
	製造法 B 製剤		製造法 C 製剤		製造法 B 製剤		製造法 C 製剤		製造法 B 製剤		製造法 C 製剤	
	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
0	33.1 (7.4)	37.2 (2.0)	30.9 (5.5)	31.8[a] (2.9)	69.0 (6.2)	64.7 (5.3)	61.7 (5.7)	67.3[a] (5.2)	37.0 (7.4)	37.7 (10.1)	28.8 (9.1)	35.8[a] (17.3)
0.5	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.3[a] (0.5)	0.0 (0.0)	0.1 (0.2)	0.0 (0.1)	0.0[a] (0.0)	0.1 (0.1)	0.9 (0.7)	0.7 (0.2)	0.8[a] (0.5)	0.9 (0.8)
1	0.1 (0.2)	0.4 (0.5)	0.3 (0.5)	0.1 (0.2)	0.1 (0.1)	0.0 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.7 (0.4)	0.7 (0.3)	1.2 (1.0)	0.6 (0.3)
4	0.3 (0.4)	0.1 (0.1)	0.0 (0.1)	0.2 (0.2)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.9 (0.5)	0.7 (0.4)	1.2 (0.5)	0.8 (0.3)
12	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.0 (0.1)	0.0 (0.1)	0.1 (0.2)	0.0 (0.0)	0.1 (0.1)	0.5 (0.1)	0.4 (0.1)	0.4 (0.1)	0.3 (0.2)
24	0.2 (0.2)	0.2 (0.2)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.0 (0.0)	0.1 (0.1)	0.2 (0.2)	0.6 (0.2)	0.5 (0.2)	0.4 (0.2)	0.4 (0.2)
48	0.2 (0.2)	0.2[a] (0.2)	0.1 (0.2)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1[a] (0.1)	0.1 (0.1)	0.0 (0.0)	0.6 (0.3)	0.6[a] (0.2)	0.8 (0.3)	0.5 (0.2)
72	0.0 (0.1)	0.1 (0.1)	0.3 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.0 (0.1)	0.1 (0.1)	0.4 (0.3)	0.6 (0.4)	0.7 (0.3)	0.5 (0.3)
168	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.0 (0.1)	0.7 (0.5)	0.5 (0.4)	0.6 (0.2)	0.4 (0.2)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

注記：特記しない限り n = 6。数値は平均値（標準偏差）。

a　試験施設の誤操作により n = 5。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.1-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた単回投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

$\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^-$ 及び $CD4^+/CD45RA^+$ 細胞の割合の平均値

結合 MLN0002 (%)

経過時間 (時間)	$CD4^+/CD45RA^-$				$CD4^+/CD45RA^+$			
	製造法 B 製剤		製造法 C 製剤		製造法 B 製剤		製造法 C 製剤	
	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
0	1.7 (0.2)	3.2 (4.3)	1.8 (0.4)	1.6 (0.8)	2.9 (1.3)	3.3 (1.8)	1.9 (0.6)	2.4 (0.7)
0.5	27.9 (9.4)	28.4 (3.0)	26.4 (5.4)	28.1 (6.2)	57.0 (20.6)	42.7 (12.5)	45.8 (11.6)	29.0 (13.0)
1	28.2 (9.8)	27.4 (2.7)	27.8 (4.5)	27.3 (5.0)	53.8 (19.1)	37.1 (14.4)	48.6 (9.9)	28.3 (12.8)
4	36.3 (9.4)	36.4 (6.7)	33.2 (6.4)	30.5 (4.1)	46.0 (15.9)	36.9 (19.1)	39.9 (11.2)	27.1 (12.2)
12	37.7 (10.8)	30.5 (9.4)	37.1 (11.1)	30.3 (12.2)	24.6 (14.9)	15.5 (10.1)	27.8 (13.1)	22.1 (14.8)
24	38.1 (10.8)	34.3 (9.2)	42.6 (13.3)	29.4 (18.8)	30.9 (15.8)	17.5 (9.1)	33.2 (14.0)	17.8 (14.6)
48	28.9 (8.2)	26.6 (9.5)	37.7 (5.9)	31.4 (7.8)	13.7 (4.9)	9.0 (4.7)	21.2 (3.8)	11.0 (1.8)
72	45.6 (11.1)	41.9 (5.2)	47.9 (6.8)	41.9 (4.2)	23.6 (6.0)	15.7 (4.9)	28.3 (5.3)	16.5 (4.1)
168	34.4 (9.1)	30.0 (4.6)	39.8 (7.5)	36.9 (7.1)	20.0 (3.3)	11.0 (3.8)	25.3 (2.7)	14.8 (3.6)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

注記：n = 6。数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 適用）

RAHA 抗体価の個別値：30 mg/kg

	抗体価									
	雄					雌				
タイムポイント	動物番号 48001	動物番号 48002	動物番号 48005	動物番号 48007	動物番号 48010	動物番号 48018	動物番号 48020	動物番号 48024	動物番号 48027	動物番号 48028
0 日目	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
14 日目	18,750	18,750	93,750	3750	150	18,750	18,750	93,750	18,750	18,750
28 日目	93,750	93,750	93,750	750	150	18,750	750	NV[a]	93,750	93,750
56 日目	93,750	93,750	93,750	750	150	93,750	750	NV[a]	93,750	93,750
84 日目	93,750	93,750	93,750	150	30	93,750	150	NV[a]	93,750	93,750
84 日目（337 時間）	93,750	93,750	93,750	150	陰性	93,750	150	NV[a]	93,750	93,750
126 日目	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

RAHA 抗体価の個別値：100 mg/kg

	抗体価									
	雄					雌				
タイムポイント	動物番号 47999	動物番号 48006	動物番号 48012	動物番号 48013	動物番号 48015	動物番号 48017	動物番号 48022	動物番号 48030	動物番号 48031	動物番号 48033
0 日目	陰性	30	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	30	陰性	陰性
14 日目	3750	18,750	3750	3750	3750	750	93,750	150	93,750	750
28 日目	18,750	18,750	3750	3750	750	750	93,750	750	93,750	150
56 日目	3750	750	750	750	90	150	93,750	150	NV[b]	150
84 日目	750	150	540	750	30	90	93,750	3750	NV[b]	750
84 日目（337 時間）	750	150	750	750	30	90	93,750	750	NV[b]	750
126 日目	NS	NS	NS	3750	30	NS	NS	750	NS	750

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；NS = 回復群ではないためデータ発生せず；NV = 動物死亡によりデータ発生せず；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体。

a 14 日目の投与中に死亡。

b 42 日目の投与中に死亡。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 又は $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+$細胞の割合の平均値

経過日数	経過時間	未結合 $\alpha_4\beta_7$ (%)				結合 MLN0002 (%)			
		30 mg/kg		100 mg/kg		30 mg/kg		100 mg/kg	
		平均値	n	平均値	n	平均値	n	平均値	n
0	0	48.0 (7.91)	10	47.7 (14.4)	10	30.1 (30.5)	10	33.2 (33.3)	10
0	2	0.0700 (0.0675)	10	0.0600 (0.0516)	10	70.0 (5.64)	10	41.8 (6.29)	10
14	0	0.610 (0.794)	10	2.27 (7.04)	10	71.4 (32.3)	10	77.2 (8.57)	10
14	2	0.222 (0.519)	9	0.0400 (0.135)	10	71.3 (5.57)	9	38.9 (22.6)	10
28	0	3.39 (5.84)	8	0.260 (0.366)	10	19.3 (33.0)	8	56.7 (29.8)	10
28	2	0.111 (0.176)	9	0.0200 (0.0422)	10	56.1 (14.9)	9	32.7 (12.6)	10
56	0	3.89 (7.65)	9	0.0667 (0.0866)	9	9.66 (27.9)	9	26.0 (38.8)	9
56	2	0.0667 (0.0866)	9	0.144 (0.255)	9	31.1 (38.0)	9	22.0 (26.5)	9
84	0	3.02 (4.62)	9	0.178 (0.427)	9	25.8 (37.1)	9	51.6 (20.6)	9
84	2	0.0778 (0.0972)	9	0.0333 (0.0866)	9	59.4 (13.2)	9	32.5 (6.82)	9
84	5	0.0667 (0.0500)	9	-0.0111 (0.0928)	9	51.3 (19.1)	9	34.0 (6.68)	9
84	25	0.0222 (0.109)	9	0.0778 (0.0833)	9	33.7 (38.2)	9	55.5 (10.4)	9
84	121	11.2 (22.3)	9	0.211 (0.494)	9	27.6 (33.6)	9	40.4 (24.3)	9
84	169	8.73 (17.7)	9	0.0222 (0.0972)	9	23.3 (34.0)	9	52.0 (22.2)	9
84	337	3.51 (6.67)	9	0.189 (0.242)	9	26.3 (38.4)	9	56.5 (21.4)	9
126	0	NS	0	0.0333 (0.0577)	3	NS	0	92.2 (1.76)	3

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；NS = 30 mg/kg 群には回復群が設定されなかったためデータなし。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 14 日間投与毒性試験（GLP 非適用）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD3^+$ T 細胞、リンパ球及び単球の割合の平均値

経過日数	経過時間	MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ (%)		
		$CD3^+$ T 細胞	リンパ球	単球
-5	N/A	76 (11)	79 (9)	47 (17)
1	投与前	71 (12)	80 (6)	80 (7)
1	1	-3 (4)	14 (3)	30 (9)
3	投与前	-2 (1)	16 (4)	34 (7)
3	1	-1 (2)	14 (3)	26 (10)
9	投与前	-1 (1)	13 (4)	24 (6)
9	1	0 (1)	13 (2)	29 (10)
14	投与前	2 (6)	12 (4)	15 (8)
14	1	1 (3)	11 (2)	17 (6)
18	N/A	-3 (2)	10 (2)	29 (10)
24	N/A	1 (5)	15 (12)	49 (4)
29	N/A	-3 (2)	8 (1)	28 (1)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；N/A = 該当せず。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.7.2-2 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 週間投与免疫毒性試験（GLP 適用）*

PAHA 抗体価の個別値

	抗体価									
タイムポイント	動物番号 3001	動物番号 3002	動物番号 3003	動物番号 3104	動物番号 3105	動物番号 3501	動物番号 3502	動物番号 3503	動物番号 3504	動物番号 3505
投与開始前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目（投与前）	陰性	陰性	500	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
15 日目（投与前）	2,500	100	12,500	陰性	12,500	2,500	2,500	100	陰性	12,500
22 日目	12,500	100	12,500	陰性	12,500	12,500	12,500	500	100	62,500

$\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^-$ 及び $CD4^+/CD45RA^+$ 細胞の割合の平均値

		結合 MLN0002 (%)			
		$CD4^+/CD45RA^-$		$CD4^+/CD45RA^+$	
経過日数	経過時間	平均値 (SD) (%)	n	平均値 (SD) (%)	n
1	投与前	1.38 (1.88)	10	1.45 (1.35)	10
	0.5	16.1 (7.00)	10	14.9 (6.18)	10
	48	31.6 (11.9)	10	12.6 (6.31)	10
	72	29.9 (8.69)	10	11.6 (4.20)	10
	168	45.6 (11.0)	9	18.9 (6.08)	9
15	投与前	55.3 (5.96)	8	41.9 (6.81)	8
	0.5	55.3 (5.73)	8	36.4 (11.8)	8
	1	48.6 (11.4)	8	31.1 (15.3)	8
	48	53.6 (6.55)	8	32.0 (14.0)	8
	72	55.5 (6.94)	4	27.3 (12.6)	4
	168	58.2 (6.99)	8	51.4 (16.3)	8

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；SD = 標準偏差。

注記： *：PD 解析は GLP 非適用で実施した。

n 数について：測定施設受領時に安定性が保証された期間を逸脱した試料については測定を実施しなかった。また、2 匹（動物番号 3003 及び 3505）に TK に対する PAHA の影響が認められたことから、当該動物のデータは 15 日目の平均値の計算から除外した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）

PAHA 成績の個別値

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目, 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
2.5	2001	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.145	0.148	—	0.167	0.834	0.961	1.112	0.761	0.641	0.548	0.420
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	3	1	2	-2	13	10	—	11	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-7	-8	-4	-1	825	1387	—	604	—	—	—	—
	2002	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.154	0.142	—	0.164	1.604	1.980	1.979	1.852	2.050	2.004	1.503
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	5	1	3	-1	127	1323	—	1577	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	1	-4	-2	55	2137	3913	—	3907	—	—	—	—
	2003	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.148	0.147	—	0.162	0.442	0.575	0.465	0.379	0.306	0.241	0.199
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	7	-2	1	2	6	3	—	3	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-5	-6	-4	-2	279	369	—	130	—	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；— = 測定せず；ELISA = 酵素免疫測定法；Ig = 免疫グロブリン；OD = 光学密度；RU = レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

PAHA 成績の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
2.5 （続き）	2101	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.156	0.143	—	0.187	0.959	1.313	1.039	0.662	0.619	0.550	0.301
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	-109	-4	7	8	13	23	4	13	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-128	-7	3	29	501	1266	820	292	—	—	—	—
	2102	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.159	0.197	—	0.166	0.549	1.043	1.571	1.061	1.081	0.374	0.873
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	7	4	3	8	14	25	20	160	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-8	0	-7	-2	185	1039	2020	2262	—	—	—	—
	2103	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.155	0.150	—	0.156	0.565	1.248	1.014	0.594	0.484	1.138	0.261
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	22	17	16	3	3	15	19	11	—	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	9	1	-3	-16	258	1094	928	350	—	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；— = 測定せず；ELISA = 酵素免疫測定法；Ig = 免疫グロブリン；OD = 光学密度；RU = レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

PAHA 成績の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
10	3001	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.224	0.216	—	0.211	1.288	1.497	1.381	0.870	0.800	0.540	0.375
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	52	64	15	—	41	69	38	—	34	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-51	-47	-40	—	-3	754	984	—	387	—	—	—
	3002	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.216	0.194	—	0.234	1.837	2.666	2.272	2.900	2.560	2.663	2.386
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	40	44	6	—	20	226	848	—	1416	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-5	4	-34	—	17	2099	3727	—	4241	—	—	—
	3003	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.208	0.202	—	0.231	0.968	2.585	2.520	2.749	2.074	2.603	2.100
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	-4	7	-1	—	8	20	18	—	33	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-32	-42	-32	—	-9	372	1774	—	2704	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；— = 測定せず；ELISA = 酵素免疫測定法；Ig = 免疫グロブリン；OD = 光学密度；RU = レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

PAHA 成績の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
10 （続き）	3004	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.212	0.239	—	0.207	0.979	2.254	3.095	3.082	2.715	2.719	2.346
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	-2	-13	-9	—	-1	5	48	—	437	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-35	-44	-40	—	-30	188	2067	—	3140	—	—	—
	3005	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.211	0.191	—	0.255	1.250	2.649	3.116	2.646	2.635	2.965	2.310
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	86	71	68	—	14	281	296	—	571	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-38	-41	-40	—	-35	596	1987	—	3065	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；— = 測定せず；ELISA = 酵素免疫測定法；Ig = 免疫グロブリン；OD = 光学密度；RU = レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

PAHA 成績の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
10 （続き）	3101	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.209	0.184	—	0.208	0.300	1.984	1.098	1.335	1.684	1.693	1.660
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	4	6	3	—	8	5	1	7	8	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-15	-7	-9	—	-3	45	76	150	262	—	—	—
	3102	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.187	0.175	—	0.211	0.827	2.109	2.269	1.840	1.363	1.481	1.333
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	20	13	6	—	8	12	5	1	-13	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-5	-10	-15	—	-2	387	80	2073	1912	—	—	—
	3103	ELISA 抗 MLN0002 Fab（OD）	—	0.181	0.181	—	0.228	0.326	0.431	1.480	2.179	1.343	1.804	1.759
		Biacore 抗アイソタイプ（IgG1 アイソタイプコントロール）（RU）	-2	10	53	—	1	6	-2	-47	76	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-32	-23	-22	—	-14	89	760	1630	2648	—	—	—

GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準； PAHA＝ サル抗ヒト抗体；—＝ 測定せず；ELISA＝ 酵素免疫測定法；Ig＝ 免疫グロブリン；OD＝ 光学密度；RU＝ レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

PAHA 成績の個別値（続き）

投与量 (mg/kg)	動物番号	アッセイ	タイムポイント											
			-10 日目	-7 日目	1 日目 投与前	1 日目 1 時間	8 日目 投与前	15 日目 投与前	22 日目 投与前	29 日目 投与前	43 日目 投与前	57 日目 投与前	71 日目 投与前	85 日目 24 時間
10 （続き）	3104	ELISA 抗 MLN0002 Fab （OD）	—	0.183	0.208	—	0.191	0.957	2.217	2.844	2.697	2.343	2.645	2.474
		Biacore 抗アイソタイプ （IgG1 アイソタイプコントロール） （RU）	62	56	-1	—	12	54	175	257	762	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	26	-46	2	—	-9	359	2281	3086	3580	—	—	—
	3105	ELISA 抗 MLN0002 Fab （OD）	—	0.155	0.204	—	0.157	0.561	1.860	0.473	0.429	0.307	0.247	0.217
		Biacore 抗アイソタイプ （IgG1 アイソタイプコントロール） （RU）	-24	-21	-11	—	-18	-6	-21	-27	1	—	—	—
		Biacore 抗 MLN0002（RU）	-45	-44	-25	—	-37	115	186	101	37	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準； PAHA = サル抗ヒト抗体；— = 測定せず；ELISA = 酵素免疫測定法；Ig = 免疫グロブリン；OD = 光学密度；RU = レスポンスユニット。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（GLP 非適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 又は $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する T 細胞の割合の平均値

タイムポイント	未結合 $\alpha_4\beta_7$				結合 MLN0002			
	2.5 mg/kg (%)	n	10 mg/kg (%)	n	2.5 mg/kg (%)	n	10 mg/kg (%)	n
1 日目、投与前	93 (5)	6	93 (4)	10	7 (5)	6	7 (4)	10
1 日目、投与後	7 (5)	6	9 (7)	10	93 (5)	6	91 (7)	10
86 日目、PAHA による中和作用あり	92 (N/A)	2	89 (7)	5	8 (N/A)	2	11 (7)	5
86 日目、PAHA による中和作用なし	1 (1)	4	1 (1)	4	99 (1)	4	99 (1)	4
86 日目、PAHA による中和作用は不確定	N/A		1	1	N/A		99	1

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；N/A = 該当せず；PAHA = サル抗ヒト抗体。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）

PAHA 抗体価の個別値：10 mg/kg

	雄						雌					
試験日	動物番号 201	動物番号 202	動物番号 203	動物番号 204	動物番号 205	動物番号 206	動物番号 251	動物番号 252	動物番号 253	動物番号 254	動物番号 255	動物番号 256
投与開始前	陰性	陰性	100	100	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
投与前	陰性	陰性	100	100	陰性	陰性	陰性	100	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目	300	陰性	62,500	300	陰性	陰性	100	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
29 日目	62,500	312,500	62,500	62,500	312,500	312,500	62,500	62,500	12,500	12,500	62,500	12,500
57 日目	62,500	62,500	62,500	62,500	312,500	312,500	62,500	12,500	12,500	12,500	12,500	12,500
92 日目	62,500	312,500	62,500	12,500	62,500	312,500	62,500	62,500	SNR	2500	2500	2500
106 日目	NS	NS	62,500	NS	NS	312,500	NS	NS	12,500	NS	NS	12,500
120 日目	NS	NS	62,500	NS	NS	312,500	NS	NS	12,500	NS	NS	2500
134 日目	NS	NS	62,500	NS	NS	312,500	NS	NS	12,500	NS	NS	2500
148 日目	NS	NS	62,500	NS	NS	62,500	NS	NS	12,500	NS	NS	2,500
162 日目	NS	NS	62,500	NS	NS	62,500	NS	NS	12,500	NS	NS	2500
176 日目	NS	NS	12,500	NS	NS	62,500	NS	NS	12,500	NS	NS	2500

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；NS = 回復群ではないためデータ発生せず；SNR = 試料未受領。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

PAHA 抗体価の個別値：30 mg/kg

	雄						雌					
試験日	301	302	303	304	305	306	351	352	353	354	355	356
投与開始前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	100	陰性	陰性	陰性
投与前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	100	100	陰性	100
29 日目	2,500	62,500	62,500	62,500	12,500	62,500	12,500	12,500	62,500	62,500	12,500	62,500
57 日目	500	62,500	12,500	62,500	62,500	62,500	12,500	62,500	12,500	62,500	12,500	12,500
92 日目	500	62,500	2500	62,500	62,500	312,500	500	312,500	SNR	62,500	2500	62,500
106 日目	NS	NS	2500	NS	NS	312,500	NS	NS	2500	NS	NS	62,500
120 日目	NS	NS	2500	NS	NS	62,500	NS	NS	500	NS	NS	62,500
134 日目	NS	NS	2500	NS	NS	62,500	NS	NS	2500	NS	NS	12,500
148 日目	NS	NS	2500	NS	NS	62,500	NS	NS	2500	NS	NS	12,500
162 日目	NS	NS	500	NS	NS	12,500	NS	NS	2500	NS	NS	12,500
176 日目	NS	NS	500	NS	NS	12,500	NS	NS	500	NS	NS	12,500

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；NS = 回復群ではないためデータ発生せず；SNR = 試料未受領。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

PAHA 抗体価の個別値：100 mg/kg

	雄						雌					
試験日	401	402	403	404	405	406	451	452	453	454	455	456
投与開始前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
投与前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
8 日目	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
29 日目	陰性	2500	500	2500	2500	2500	陰性	12,500	500	62,500	12,500	12,500
57 日目	100	2500	900	12,500	12,500	500	12,500	12,500	500	12,500	12,500	2500
92 日目	300	500	300	12,500	12,500	100	2500	12,500	SNR	12,500	12,500	2500
106 日目	NS	NS	500	NS	NS	100	NS	NS	100	NS	NS	500
120 日目	NS	NS	300	NS	NS	100	NS	NS	100	NS	NS	500
134 日目	NS	NS	300	NS	NS	陰性	NS	NS	100	NS	NS	500
148 日目	NS	NS	100	NS	NS	陰性	NS	NS	100	NS	NS	500
162 日目	NS	NS	100	NS	NS	陰性	NS	NS	100	NS	NS	300
176 日目	NS	NS	300	NS	NS	陰性	NS	NS	陰性	NS	NS	300

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；NS = 回復群ではないためデータ発生せず；SNR = 試料未受領。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^+$ 細胞の割合の平均値

試験日	経過時間(時間)	n	10 mg/kg (%)		30 mg/kg (%)		100 mg/kg (%)	
			未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002
1	0.0	12	65.8 (11.3)	1.86 (2.98)	62.4 (9.73)	1.08 (0.871)	61.9 (14.0)	0.892 (0.602)
	0.5	12	0.0417 (0.131)	50.9 (8.48)	0.0333 (0.172)	31.9 (7.46)	-0.0167 (0.134)	14.9 (5.16)
	1.0	12	0.0667 (0.187)	47.7 (8.52)	0.0167 (0.159)	30.7 (9.47)	-0.0417 (0.144)	13.6 (4.69)
	168	12	0.0667 (0.242)	55.6 (19.2)	$3.63e^{-19}$ (0.0853)	44.6 (10.5)	0.00833 (0.116)	28.3 (13.9)
	336	12	0.533 (1.55)	31.1 (17.8)	-0.00833 (0.0669)	37.2 (11.5)	0.0250 (0.0622)	27.2 (9.42)
29	0.0	12	-0.0417 (0.0996)	31.9 (33.8)	0.0250 (0.0965)	67.7 (14.8)	0.0250 (0.106)	54.6 (9.95)
57	0.0	12	0.142 (0.173)	6.73 (18.7)	0.142 (0.254)	31.4 (32.7)	0.117 (0.229)	33.0 (20.5)
85	0.0	9	0.0444 (0.101)	5.62 (11.8)	0.0222 (0.0667)	34.7 (27.5)	$-5.14e^{-20}$ (0.0500)	40.4 (23.8)
	0.5	9	$-3.08e^{-18}$ (0.122)	54.5 (27.9)	0.0222 (0.0667)	45.4 (19.8)	$6.94e^{-19}$ (0.100)	23.6 (16.6)
	1.0	9	-0.0111 (0.0782)	48.9 (30.1)	0.0111 (0.117)	43.7 (14.8)	0.0556 (0.0882)	23.1 (9.94)
	168	9	0.0556 (0.101)	23.5 (31.0)	$3.78e^{-18}$ (0.0866)	36.3 (26.7)	0.0111 (0.0601)	43.7 (13.0)
	336	4	0.0750 (0.126)	36.5 (38.3)	0.0750 (0.150)	39.0 (41.6)	0.0500 (0.0577)	47.2 (15.4)
	504	4	0.0250 (0.0500)	31.6 (35.2)	0.0250 (0.0500)	39.4 (44.4)	-0.0750 (0.500)	37.8 (19.0)
	840	4	0.0500 (0.129)	21.0 (35.8)	$-1.73e^{-18}$ (0.141)	30.3 (34.1)	$-1.73e^{-18}$ (0.0816)	40.3 (19.1)
	1176	4	$-1.73e^{-18}$ (0.115)	38.2 (41.7)	0.0250 (0.0500)	28.4 (39.9)	0.500 (0.100)	40.9 (29.6)
	1512	4	0.0250 (0.0500)	36.9 (37.1)	0.125 (0.0500)	35.5 (38.1)	$2.08e^{-18}$ (0.0816)	75.4 (10.8)
	1848	4	0.175 (0.150)	23.7 (26.0)	0.500 (0.938)	21.9 (40.5)	-0.0500 (0.0577)	62.4 (14.3)
	2184	4	0.175 (0.171)	12.5 (17.9)	5.98 (11.8)	19.2 (34.7)	-0.0250 (0.0500)	66.1 (10.2)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合の平均値

試験日	経過時間 (時間)	n	10 mg/kg (%)		30 mg/kg (%)		100 mg/kg (%)	
			未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002
1	0.0	12	29.1 (6.84)	0.917 (1.39)	29.2 (4.83)	0.850 (1.22)	27.4 (4.87)	0.767 (0.306)
	0.5	12	0.0583 (0.124)	27.8 (6.65)	0.175 (0.245)	24.3 (4.81)	0.0417 (0.198)	19.3 (3.82)
	1.0	12	-0.0500 (0.188)	27.4 (6.90)	0.167 (0.345)	25.0 (5.38)	0.100 (0.280)	20.4 (2.72)
	168	12	0.233 (0.950)	54.6 (19.0)	0.0500 (0.138)	54.0 (4.52)	0.0333 (0.197)	46.1 (11.8)
	336	12	0.792 (1.98)	43.0 (25.7)	0.133 (0.123)	54.1 (9.67)	0.00833 (0.294)	45.7 (7.66)
29	0.0	12	0.0667 (0.202)	28.7 (29.4)	0.0833 (0.164)	61.1 (13.1)	0.0250 (0.106)	60.5 (7.61)
57	0.0	12	0.0750 (0.344)	5.19 (14.3)	0.208 (0.429)	30.3 (31.3)	0.108 (0.271)	42.9 (26.5)
85	0.0	9	0.0111 (0.183)	5.14 (12.0)	-0.0444 (0.207)	36.6 (27.7)	-0.0222 (0.380)	50.3 (8.75)
	0.5	9	-0.0556 (0.384)	28.5 (10.9)	0.100 (0.166)	48.8 (14.4)	-0.0333 (0.354)	43.7 (12.1)
	1.0	9	-0.122 (0.424)	27.8 (11.8)	0.0333 (0.235)	49.7 (13.8)	0.0444 (0.283)	47.7 (7.08)
	168	9	0.100 (0.166)	21.7 (28.1)	-0.0444 (0.260)	34.8 (25.8)	-0.0667 (0.278)	53.0 (10.6)
	336	4	0.475 (0.350)	30.4 (32.0)	-0.0750 (0.222)	33.9 (36.3)	0.0750 (0.126)	54.0 (8.54)
	504	4	0.0250 (0.171)	25.4 (28.5)	0.175 (0.189)	34.8 (38.7)	0.0500 (0.311)	50.4 (7.60)
	840	4	0.275 (0.299)	18.8 (32.2)	0.100 (0.469)	29.7 (33.4)	-0.100 (0.0816)	54.2 (9.37)
	1176	4	0.100 (0.141)	29.1 (30.7)	$3.47e^{-18}$ (0.115)	31.5 (35.5)	0.200 (0.115)	43.6 (10.4)
	1512	4	0.150 (0.289)	29.5 (32.3)	0.175 (0.624)	30.0 (33.3)	-0.125 (0.263)	63.5 (4.39)
	1848	4	0.800 (0.716)	20.3 (22.7)	0.825 (1.26)	18.9 (35.7)	0.125 (0.427)	61.4 (3.27)
	2184	4	0.0500 (0.370)	15.0 (18.1)	4.80 (9.60)	17.1 (32.3)	0.0500 (0.191)	59.0 (3.38)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD20^+$細胞の割合の平均値

試験日	経過時間 (時間)	n	10 mg/kg (%)	30 mg/kg (%)	100 mg/kg (%)
1	0.0	12	37.1 (12.5)	36.2 (10.4)	36.3 (13.8)
	0.5	12	0.242 (0.287)	0.175 (0.182)	0.267 (0.167)
	1.0	12	0.292 (0.318)	0.225 (0.129)	0.183 (0.119)
	168	12	0.375 (0.550)	0.242 (0.162)	0.267 (0.187)
	336	12	1.68 (3.69)	0.208 (0.108)	0.192 (0.124)
29	0.0	12	0.542 (1.04)	0.225 (0.129)	0.167 (0.150)
57	0.0	12	2.93 (6.00)	0.417 (0.346)	0.383 (0.330)
85	0.0	9	2.72 (3.19)	0.478 (0.578)	0.356 (0.194)
	0.5	9	0.933 (1.58)	0.178 (0.0972)	0.222 (0.0833)
	1.0	9	0.333 (0.436)	0.100 (0.122)	0.444 (0.357)
	168	9	3.92 (4.07)	0.378 (0.186)	0.233 (0.150)
	336	4	3.65 (4.39)	1.00 (0.959)	0.325 (0.206)
	504	4	5.20 (7.94)	0.675 (0.822)	0.225 (0.263)
	840	4	3.83 (5.98)	0.450 (0.465)	0.250 (0.238)
	1176	4	0.950 (0.940)	0.225 (0.171)	0.375 (0.0957)
	1512	4	8.38 (12.1)	0.675 (0.499)	0.250 (0.208)
	1848	4	20.3 (31.1)	0.158 (0.149)	0.450 (0.451)
	2184	4	2.38 (3.18)	4.63 (8.59)	0.0750 (0.126)

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-6 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 26 週間投与毒性試験（GLP 適用）

PAHA 抗体価の個別値

	10 mg/kg								30 mg/kg							
	雄				雌				雄				雌			
試験日	2003	2004	2101	2302	2503	2504	2601	2602	3003	3004	3101	3102	3503	3504	3601	3602
1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	100	Neg	Neg	100	100	100	Neg	Neg
85	62,500	62,500	2500	2500	NS	500	62,500	62,500	500	2500	2500	500	12,500	62,500	500	100
141	62,500	62,500	500	500	NS	500	62,500	62,500	100	500	12,500	500	62,500	62,500	100	100
169	62,500	62,500	500	100	NS	500	62,500	62,500	100	500	12,500	100	62,500	62,500	100	Neg
183	62,500	62,500	500	100	NS	100	62,500	62,500	Neg	500	12,500	100	12,500	62,500	100	Neg
211	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
239	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
262	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

	100 mg/kg											
	雄						雌					
試験日	4001	4002	4003	4004	4006	4105	4501	4502	4503	4504	4506	4605
1	100	100	Neg	Neg	Neg	100	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	500
85	2500	12,500	500	100	2500	2500	12,500	500	2500	100	2500	2500
141	2500	2500	500	Neg	2500	2500	12,500	100	500	100	2500	2500
169	2500	2500	500	Neg	2500	500	2500	Neg	500	100	2500	2500
183	500	2500	500	Neg	500	500	2500	Neg	100	100	2500	2500
211	500	2500	NS	NS	NS	NS	2500	Neg	NS	NS	NS	NS
239	500	2500	NS	NS	NS	NS	2500	Neg	NS	NS	NS	NS
262	500	2500	NS	NS	NS	NS	2500	Neg	NS	NS	NS	NS

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；Neg = 陰性；NS =回復群ではないためデータ発生せず。

注記：Neg = 定性的測定限界未満（< 100）又は specificity ratio ≤ 1.500。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-6 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 26 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^+$ 細胞の割合の平均値（PAHA による顕著な中和作用が認められた動物は計算から除外）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)			30 mg/kg (%)			100 mg/kg (%)		
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n
1	0	72.5 (8.2)	1.5 (0.6)	8	64.5 (14.0)	2.1 (1.0)	8	67.7 (7.9)	2.3 (1.5)	12
	0.5	0.2 (0.2)	42.0 (11.4)	8	0.1 (0.1)	26.2 (17.3)	8	0.3 (0.4)	13.0 (4.0)	12
	1	0.1 (0.1)	43.5 (10.2)	8	0.1 (0.1)	24.2 (15.1)	8	0.1 (0.1)	14.7 (4.8)	12
	48	0.0 (0.1)	51.4 (22.0)	8	0.1 (0.1)	43.6 (24.7)	8	0.1 (0.1)	30.5 (13.5)	12
	168	0.1 (0.1)	52.6 (13.7)	8	0.1 (0.1)	42.4 (12.6)	8	0.1 (0.1)	44.9 (14.1)	12
	336	0.1 (0.1)	49.2 (23.3)	8	0.1 (0.1)	58.9 (13.8)	8	0.1 (0.1)	43.1 (16.5)	12
85	0	0.1 (0.1)	65.3 (4.5)	3[a,b]	0.0 (0.0)	37.7 (19.0)	7[c]	0.0 (0.0)	27.9 (12.0)	12
85	投与後	0.0 (0.1)	48.2 (9.0)	3[a,b]	0.0 (0.0)	24.5 (14.3)	7[c]	0.1 (0.1)	16.5 (8.1)	12
141	0	0.0 (0.1)	54.4 (9.8)	3[a,b]	0.0 (0.1)	32.9 (11.0)	5[c,d]	0.1 (0.1)	31.3 (17.3)	12
141	投与後	0.2 (0.3)	38.4 (2.7)	3[a,b]	0.2 (0.1)	34.1 (9.3)	5[c,d]	0.1 (0.1)	23.2 (12.3)	12
169	0	0.1 (0.1)	65.6 (8.6)	3[a,b]	0.0 (0.1)	58.5 (13.9)	5[c,d]	0.1 (0.1)	43.1 (8.1)	12
	0.5	0.1 (0.1)	54.0 (3.7)	3[a,b]	0.1 (0.2)	39.6 (9.2)	5[c,d]	0.1 (0.1)	27.5 (7.6)	12
	4	0.0 (0.1)	49.9 (3.7)	3[a,b]	0.1 (0.1)	39.4 (8.8)	5[c,d]	0.1 (0.1)	29.9 (11.4)	12
	48	0.0 (0.0)	67.6 (5.5)	3[a,b]	0.1 (0.1)	51.5 (9.6)	5[c,d]	0.1 (0.1)	26.9 (8.1)	12
	168	0.0 (0.1)	56.3 (18.3)	3[a,b]	0.0 (0.1)	53.8 (11.7)	5[c,d]	0.0 (0.0)	28.2 (12.5)	12
	333	0.1 (0.1)	69.4 (6.3)	3[a,b]	0.1 (0.1)	58.3 (16.3)	5[c,d]	0.1 (0.1)	38.9 (11.1)	12
211	—	—	—	—	—	—	—	0.0 (0.1)	69.0 (5.2)	4[e]
239	—	—	—	—	—	—	—	0.0 (0.0)	77.1 (5.9)	4[e]
262	—	—	—	—	—	—	—	0.1 (0.2)	57.4 (9.0)	4[e]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；SD = 標準偏差。

注記：数値は平均値（標準偏差）。未結合 $\alpha_4\beta_7$ に対する陽性率が負の値となった場合、平均値及び SD の計算に際し、0.0 として処理した。

a 10 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡したため、85 日目、141 日目、169 日目の試料は発生せず。

b 10 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

c 30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 3504）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

d 30 mg/kg 群の雌雄各 1 匹（動物番号 3101 及び 3503）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、141～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

e 100 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 4001、4002、4501 及び 4502）のみに回復期間を設けた。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-6 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 26 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合の平均値（PAHA による顕著な中和作用が認められた動物は計算から除外）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)			30 mg/kg (%)			100 mg/kg (%)		
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n
1	0	36.2 (9.4)	2.0 (0.9)	8	34.7 (7.4)	4.0 (2.7)	8	31.8 (6.2)	3.7 (3.0)	12
	0.5	0.1 (0.1)	22.4 (8.0)	8	1.0 (2.2)	21.4 (8.8)	8	0.3 (0.4)	15.4 (4.6)	12
	1	0.4 (0.5)	30.0 (7.1)	8	0.2 (0.2)	27.3 (9.4)	8	0.1 (0.2)	19.4 (6.5)	12
	48	0.3 (0.4)	51.6 (11.4)	8	0.2 (0.3)	49.9 (14.1)	8	0.1 (0.1)	37.4 (10.7)	12
	168	0.1 (0.2)	61.7 (5.1)	8	0.2 (0.2)	59.5 (13.8)	8	0.1 (0.1)	53.2 (8.1)	12
	336	0.2 (0.3)	59.8 (15.4)	8	0.0 (0.0)	66.0 (12.6)	8	0.1 (0.2)	54.0 (11.6)	12
85	0	0.1 (0.1)	72.7 (9.0)	3[a,b]	0.0 (0.0)	59.8 (18.0)	7[c]	0.0 (0.0)	49.2 (9.4)	12
85	投与後	0.1 (0.2)	73.2 (7.2)	3[a,b]	0.1 (0.1)	54.0 (21.8)	7[c]	0.0 (0.1)	39.2 (13.8)	12
141	0	0.1 (0.1)	72.4 (5.9)	3[a,b]	0.1 (0.1)	63.3 (14.7)	5[c,d]	0.2 (0.2)	50.1 (8.6)	12
141	投与後	0.1 (0.2)	73.0 (4.7)	3[a,b]	0.4 (0.4)	69.0 (11.1)	5[c,d]	0.2 (0.2)	44.8 (11.9)	12
169	0	0.0 (0.0)	63.7 (6.1)	3[a,b]	0.1 (0.1)	58.8 (9.2)	5[c,d]	0.1 (0.1)	51.8 (7.8)	12
	0.5	0.1 (0.1)	61.8 (4.5)	3[a,b]	0.2 (0.3)	56.3 (9.3)	5[c,d]	0.1 (0.1)	49.5 (8.1)	12
	4	0.1 (0.0)	59.7 (5.9)	3[a,b]	0.3 (0.4)	52.6 (10.7)	5[c,d]	0.1 (0.1)	47.8 (9.3)	12
	48	0.1 (0.1)	65.5 (6.1)	3[a,b]	0.1 (0.1)	58.5 (9.6)	5[c,d]	0.1 (0.1)	48.9 (7.5)	12
	168	0.0 (0.0)	62.5 (3.2)	3[a,b]	0.0 (0.1)	56.3 (13.4)	5[c,d]	0.1 (0.1)	47.2 (11.8)	12
	333	0.0 (0.1)	67.8 (7.8)	3[a,b]	0.0 (0.1)	65.4 (8.1)	5[c,d]	0.1 (0.1)	56.5 (10.2)	12
211	—	—	—	—	—	—	—	0.0 (0.1)	63.0 (9.4)	4[e]
239	—	—	—	—	—	—	—	0.0 (0.1)	61.8 (9.4)	4[e]
262	—	—	—	—	—	—	—	0.3 (0.4)	59.7 (9.3)	4[e]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；SD = 標準偏差。

注記：数値は平均値（標準偏差）。未結合 $\alpha_4\beta_7$ に対する陽性率が負の値となった場合、平均値及び SD の計算に際し、0.0 として処理した。

a 10 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡したため、85 日目、141 日目、169 日目の試料は発生せず。

b 10 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

c 30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 3504）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

d 30 mg/kg 群の雌雄各 1 匹（動物番号 3101 及び 3503）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、141～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

e 100 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 4001、4002、4501 及び 4502）のみに回復期間を設けた。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.2-6 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 26 週間投与毒性試験（GLP 適用）（続き）

未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD20^+$ 細胞の割合の平均値（PAHA による顕著な中和作用が認められた動物は計算から除外）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)		30 mg/kg (%)		100 mg/kg (%)	
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	n
1	0	39.5 (7.7)	8	35.1 (12.2)	8	38.2 (7.4)	12
	0.5	0.2 (0.3)	8	0.2 (0.1)	8	0.4 (0.4)	12
	1	0.5 (0.5)	8	0.3 (0.3)	8	0.3 (0.2)	12
	48	0.4 (0.2)	8	0.2 (0.2)	8	0.3 (0.2)	12
	168	0.4 (0.2)	8	0.2 (0.2)	8	0.2 (0.2)	12
	336	0.7 (0.6)	8	0.1 (0.2)	8	0.3 (0.2)	12
85	0	0.2 (0.1)	3[a,b]	0.2 (0.2)	7[c]	0.3 (0.1)	12
85	投与後	0.3 (0.5)	3[a,b]	0.1 (0.1)	7[c]	0.2 (0.2)	12
141	0	0.1 (0.2)	3[a,b]	0.3 (0.2)	5[c,d]	0.3 (0.2)	12
141	投与後	0.2 (0.2)	3[a,b]	0.4 (0.2)	5[c,d]	0.4 (0.2)	12
169	0	0.2 (0.0)	3[a,b]	0.2 (0.1)	5[c,d]	0.4 (0.2)	12
	0.5	0.3 (0.1)	3[a,b]	0.3 (0.3)	5[c,d]	0.3 (0.3)	12
	4	0.1 (0.2)	3[a,b]	0.3 (0.1)	5[c,d]	0.3 (0.2)	12
	48	0.2 (0.1)	3[a,b]	0.3 (0.2)	5[c,d]	0.3 (0.2)	12
	168	0.2 (0.2)	3[a,b]	0.1 (0.1)	5[c,d]	0.2 (0.1)	12
	333	0.1 (0.1)	3[a,b]	0.2 (0.1)	5[c,d]	0.2 (0.2)	12
211	—	—	—	—	—	0.3 (0.2)	4[e]
239	—	—	—	—	—	0.2 (0.1)	4[e]
262	—	—	—	—	—	0.5 (0.3)	4[e]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；SD = 標準偏差。

注記：数値は平均値（標準偏差）。未結合 $\alpha_4\beta_7$ に対する陽性率が負の値となった場合、平均値及び SD の計算に際し、0.0 として処理した。

a 10 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 2503）は 85 日目の前に死亡したため、85 日目、141 日目、169 日目の試料は発生せず。

b 10 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 2003、2004、2601 及び 2602）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

c 30 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 3504）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、85～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

d 30 mg/kg 群の雌雄各 1 匹（動物番号 3101 及び 3503）に PAHA の顕著な中和作用が認められたことから、141～169 日目までの平均値及び SD の計算から除外した。

e 100 mg/kg 群の雌雄各 2 匹（動物番号 4001、4002、4501 及び 4502）のみに回復期間を設けた。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.3-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（GLP 適用）

PAHA 抗体価の個別値（母動物）：10 mg/kg

	動物番号											
試験日	13839	13816	13629	13414	13696	13397	13402[a]	13327	13314	13695	13596	13709
GD 20（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	陰性	陰性
GD 20（4 時間）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	陰性	陰性
GD 132（投与前）	NS	62,500	NS	2500	500	62,500	500	312,500	12,500	NS	62,500	312,500
GD 132（168 時間）	NS	62,500	NS	2500	500	62,500	500	312,500	12,500	NS	62,500	312,500
GD 132（336 時間）	NS	62,500	NS	2500	500	62,500	100	NS	12,500	NS	62,500	NS
GD 277	NS	100	NS	500	陰性	2500	陰性	NS	100	NS	2500	NS
分娩後 181 日目	NS	100	NS	500	100	500	陰性	NS	陰性	NS	2500	NS
上記以外	62,500 (46 日目)	N/A	500 (121 日目)	N/A	N/A	N/A	N/A	312,500 (142 日目)	N/A	62,500 (35 日目)	N/A	312,500 (143 日目)

PAHA 抗体価の個別値（母動物）：100 mg/kg

	動物番号											
試験日	13384	13822	13243	13608	13738	13531	13712	13800	13834	13590	13481	13507
GD 20（投与前）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	100	陰性	陰性	100	陰性
GD 20（4 時間）	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	100	100	陰性	陰性	100	陰性
GD 132（投与前）	12,500	陰性	500	500	62,500	500	2500	12,500	62,500	100	62,500	100
GD 132（168 時間）	2500	陰性	500	500	12,500	500	2500	2500	62,500	陰性	12,500	100
GD 132（336 時間）	2500	陰性	500	500	12,500	500	2500	2500	62,500	陰性	62,500	陰性
GD 277	2500	陰性	100	500	500	NS	2500	500	NS	100	2500	NS
分娩後 181 日目	500	陰性	陰性	100	100	NS	500	500	NS	500	100	NS

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；GD = 妊娠日齢； N/A = 該当せず；NS = 試料発生せず。

a 動物番号 13402 は、GD 132 ではなく GD 133 に投与（及び採血）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.3-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（GLP 適用）*（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^+$ 細胞の割合の平均値（母動物）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)			100 mg/kg (%)		
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n
GD 20	0.5	-0.0143 (0.107)	62.5 (11.5)	7	0.0417 (0.151)	29.0 (14.7)	12
	4	0.00 (0.0816)	60.4 (8.94)	7	0.00 (0.104)	31.1 (8.90)	12
	168	0.143 (0.215)	57.1 (7.33)	7	0.025 (0.0622)	43.0 (10.9)	12
	336	0.00 (0.0632)	50.0 (12.9)	6	0.0667 (0.107)	53.5 (11.4)	12
GD 132	投与前	0.050 (0.129)	54.8 (7.81)	4	0.375 (1.33)	47.7 (16.9)	12
	0.5	0.0250 (0.206)	52.0 (10.2)	4	0.142 (0.478)	37.6 (17.2)	12
	4	-0.0250 (0.0500)	51.9 (14.9)	4	0.117 (0.443)	37.6 (14.8)	12
	168	0.0250 (0.0500)	64.3 (17.9)	4	0.050 (0.220)	46.3 (13.9)	12
	336	0.0250 (0.0500)	70.7 (6.89)	4	0.0333 (0.107)	53.9 (15.5)	12
GD 277	0	18.5 (20.9)	2.98 (2.92)	4	9.19 (20.5)	37.8 (30.9)	9
分娩後 181 日目	0	43.2 (23.8)	5.23 (3.18)	4	32.2 (30.0)	10.5 (13.0)	9

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；GD = 妊娠日齢。

注記：*：PD 解析は GLP 非適用で実施した。

数値は平均値（標準偏差）。10 mg/kg 群の 5 例（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）にサル抗ヒト抗体（PAHA）による中和作用が認められたことから、当該動物のデータは平均値の計算から除外した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.3-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（GLP 適用）*（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ 及び $\alpha_4\beta_7$ 結合 MLN0002 を有する $CD4^+/CD45RA^-$ 細胞の割合の平均値（母動物）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)			100 mg/kg (%)		
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	結合 MLN0002	n
GD 20	0.5	-0.0286 (0.373)	28.5 (7.89)	7	0.592 (0.944)	23.0 (7.76)	12
	4	0.0429 (0.113)	35.2 (4.26)	7	0.250 (0.928)	28.2 (8.22)	12
	168	0.114 (0.313)	51.3 (8.69)	7	-0.0417 (0.417)	46.0 (8.66)	12
	336	0.150 (0.197)	46.4 (17.6)	6	0.0667 (0.342)	50.7 (7.85)	12
GD 132	投与前	0.350 (0.412)	57.8 (9.95)	4	0.733 (2.23)	66.9 (9.69)	12
	0.5	-0.075 (0.0957)	58.3 (12.3)	4	0.200 (0.666)	64.5 (9.73)	12
	4	0.275 (0.287)	57.9 (11.3)	4	0.150 (0.636)	62.8 (9.10)	12
	168	0.00 (0.0816)	65.5 (7.40)	4	0.0417 (0.570)	69.3 (8.26)	12
	336	0.150 (0.0577)	66.3 (9.81)	4	0.00 (0.135)	69.6 (9.64)	12
GD 277	0	16.4 (16.4)	2.23 (2.38)	4	6.90 (13.0)	30.9 (23.4)	9
分娩後 181 日目	0	26.1 (7.80)	4.65 (3.02)	4	22.6 (13.7)	9.74 (11.1)	9

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；GD = 妊娠日齢。

注記： *：PD 解析は GLP 非適用で実施した。

数値は平均値（標準偏差）。10 mg/kg 群の 5 例（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）にサル抗ヒト抗体（PAHA）による中和作用が認められたことから、当該動物のデータは平均値の計算から除外した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.3-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（GLP 適用）*（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD20^+$細胞の割合の平均値（母動物）

試験日	経過時間 (時間)	10 mg/kg (%)		100 mg/kg (%)	
		未結合 $\alpha_4\beta_7$	n	未結合 $\alpha_4\beta_7$	n
GD 20	0.5	0.586 (0.573)	7	0.375 (0.400)	12
	4	0.571 (0.373)	7	0.567 (0.331)	12
	168	0.657 (0.660)	7	0.358 (0.312)	12
	336	0.450 (0.259)	6	0.400 (0.273)	12
GD 132	投与前	0.325 (0.386)	4	5.78 (19.0)	12
	0.5	0.575 (0.411)	4	5.41 (17.6)	12
	4	0.350 (0.173)	4	5.91 (19.6)	12
	168	0.075 (0.150)	4	1.88 (5.34)	12
	336	0.250 (0.300)	4	0.283 (0.262)	12
GD 277	0	17.8 (19.0)	4	7.73 (14.3)	9
分娩後 181 日目	0	27.7 (19.9)	4	18.4 (11.9)	9

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；GD = 妊娠日齢。

注記：*：PD 解析は GLP 非適用で実施した。

数値は平均値（標準偏差）。10 mg/kg 群の 5 例（動物番号 13327、13397、13596、13709 及び 13816）にサル抗ヒト抗体（PAHA）による中和作用が認められたことから、当該動物のデータは平均値の計算から除外した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.4-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与幼若動物毒性試験（GLP 適用）

PAHA 抗体価の個別値

	10 mg/kg								30 mg/kg							
	雄				雌				雄				雌			
試験日	2001	2002	2003	2004	2501	2502	2503	2504	3001	3002	3103	3104	3501	3502	3503	3504
投与期間前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
92	781250	>3906250	>3906250	>3906250	>3906250	>3906250	>781250	>781250	>3906250	陰性	陰性	陰性	陰性	>3906250	156250	陰性

	100 mg/kg											
	雄						雌					
試験日	4101	4002	4003	4104	4005	4006	4501	4502	4503	4504	4505	4506
投与期間前	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
92	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
173	NS	NS	NS	NS	陰性	陰性	NS	NS	NS	NS	陰性	陰性

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PAHA = サル抗ヒト抗体；NS = 回復群ではないためデータ発生せず。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

4.2.3.5.4-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 C 製剤）

試験の種類：カニクイザルを用いた 13 週間投与幼若動物毒性試験（GLP 適用）（続き）

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD20^+$細胞の割合の平均値（%）

試験日	投与後経過時間(時間)	10 mg/kg				30 mg/kg				100 mg/kg			
		雄	n	雌	n	雄	n	雌	n	雄	n	雌	n
1	投与前	11.7 (6.3)	4	10.7 (4.8)	3 [a]	14.9 (7.7)	4	12.3 (9.1)	4	8.8 (6.3)	6	7.9 (3.3)	6
2	24	0.2 (0.1)	4	0.2 (0.2)	4	0.1 (0.0)	4	0.1 (0.1)	4	0.1 (0.0)	6	0.1 (0.1)	6
86	24	0.1 (0.1)	4	0.4 (0.6)	4	0.2 (0.1)	4	0.1 (0.1)	4	0.2 (0.1)	6	0.1 (0.0)	6
174	2136	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.2	2	0.1	2

MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ を有する $CD4^+/CD45RA^-$細胞の割合の平均値（%）

試験日	投与後経過時間(時間)	10 mg/kg				30 mg/kg				100 mg/kg			
		雄	n	雌	n	雄	n	雌	n	雄	n	雌	n
1	投与前	29.8 (5.2)	4	36.4 (3.6)	3 [a]	35.0 (3.0)	4	32.7 (3.2)	4	32.4 (4.9)	6	38.2 (4.2)	6
2	24	0.1 (0.0)	4	0.1 (0.1)	4	0.1 (0.1)	4	0.1 (0.0)	4	0.1 (0.1)	6	0.1 (0.1)	6
86	24	0.2 (0.1)	4	0.3 (0.1)	4	0.2 (0.1)	4	0.2 (0.2)	4	0.2 (0.1)	6	0.1 (0.0)	6
174	2136	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.3	2	0.2	2

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；NS = 回復群ではないためデータ発生せず。

注記：数値は平均値（標準偏差）。

a　1 例で凝血がみられたため、n = 3

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：MLN0002 及び Act-1

ロット番号	純度 (%)	添付資料番号 報告書番号	試験の種類
5.1 (Act-1)	該当データなし[a]	4.2.3.7.7-3 [redacted]	ヒト組織交差反応性試験（*in vitro*）
3A9/TAC	94%	4.2.3.2-2 [redacted]	カニクイザルを用いた 14 日間投与毒性試験
8.2.1	100[b]	4.2.3.7.7-4 [redacted]	ヒト組織交差反応性試験（*in vitro*）
22.1.1	99.9	4.2.3.2-4 [redacted]	カニクイザルを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験
IA015SA01	99[b]	4.2.3.1-2 [redacted]	カニクイザルを用いた単回投与毒性試験
IC006LA	99.8	4.2.3.1-2 [redacted]	カニクイザルを用いた単回投与毒性試験
		4.2.3.6-1 [redacted]	New Zealand white ウサギを用いた局所忍容性試験
0002-807-G0	99[b]	4.2.3.2-1 [redacted]	New Zealand white ウサギを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験
		4.2.3.2-6 [redacted]	カニクイザルを用いた 26 週間投与毒性試験
		4.2.3.7.7-2 [redacted]	カニクイザル組織交差反応性試験（*in vitro*）
		4.2.3.7.7-5 [redacted]	ヒト組織交差反応性試験（*in vitro*）
MLN02-2006-1[c]	98.33[b]	4.2.3.2-5 [redacted]	カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験
0002-807-H0	99[b]	4.2.3.5.2-2 [redacted]	New Zealand white ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験
		4.2.3.5.3-1 [redacted]	カニクイザルを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
11D017	99.0	4.2.3.7.2-2 [redacted]	カニクイザルを用いた 3 週間投与免疫毒性試験

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

被験物質：MLN0002 及び Act-1

ロット番号	純度 (%)	添付資料番号 報告書番号	試験の種類
102039	99.0	4.2.3.5.4-1 [redacted]	カニクイザルを用いた 13 週間投与幼若動物毒性試験

a　Act-1 については特性試験成績なし。

b　有効桁数は、各特性試験成績に記載された有効桁数に基づく。

c　Lot MLN02-2006-1 は Lot MLN002-807-A と同一。

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）									
動物種／系統	被験物質	投与方法 (溶媒／製剤)	投与量 (mg/kg)	動物数／性別／群	NOAEL (mg/kg)	概略の致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	GLP	添付資料番号 報告書番号
カニクイザル	MLN0002（製造法 B 製剤）	30 分間持続静注（20 mM クエン酸緩衝液、pH 6.0）	10 及び 100	3 F	100	100 以上	なし	非適	4.2.3.1-1 [redacted]
カニクイザル	MLN0002（製造法 B 製剤及び C 製剤）	30 分間持続静注（50 mM ヒスチジン、125 mM アルギニン、100 mg/mL スクロース及び 0.6 mg/mL ポリソルベート 80）	0、10 及び 30	3 M／3 F	30	30 以上	なし	適	4.2.3.1-2 [redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；NOAEL = 無毒性量；M = 雄；F = 雌。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：サル2週（製造法A製剤及びB製剤の比較試験：GLP非適用）

被験物質：MLN0002 (製造法A製剤及びB製剤)

動物種／系統	投与方法 (溶媒／投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	動物数／性別／群	NOAEL (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号 報告書番号
カニクイザル	30分間持続静注(1日目のみ)及び1分間静注(生理食塩液)	2週間（1、4、8、11及び15日目）	10	4 M	10	MLN0002投与との関連が明確な変化なし。一過性の嘔吐/眼の腫脹、一次的／軽度のALT／AST値の高値がみられたが、MLN0002投与との関連は明確でなく、また、以降の試験で再現しなかった。なお、これらに製造法A製剤及びB製剤間の相違はみられなかった。	4.2.3.2-3 [redacted]

GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；ALT＝アラニンアミノトランスフェラーゼ；AST＝アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ；M＝雄；NOAEL＝無毒性量。

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験：ウサギ 3 ヵ月

		4.2.3.2-1 報告書番号：[redacted]
		被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）
報告書の題名：A 3-month intravenous infusion toxicity and toxicokinetics study of MLN0002 with a 4-week recovery period in rabbits		
動物種／系統：ウサギ／NZW	投与期間：12 週間[a]（2 週間に 1 回）	休薬期間：4 週間（対照群及び 100 mg/kg 群のみ）
試験開始時齢：約 5 ヵ月齢（雄）約 5.5 ヵ月齢（雌）	溶媒／投与形態：生理食塩液	GLP 適用：適
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：60 分間持続静注	
無毒性量：100 mg/kg		

投与量 (mg/kg)	0（対照）		30		100	
動物数	5 M	5 F	5 M	5 F	5 M	5 F
トキシコキネティクス[b]						
$AUC_{0\text{-}337hr}$ (hr*μg/mL)：84 日目	N/A		82,900		1,230,000	
C_{max} (μg/mL)：84 日目	N/A		645		9890	
RAHA[b]	0／10		8／10		10／10	
PD（結合 MLN0002 に陽性を示した $CD4^+$ 細胞の割合%）[b]：84 日目、337 時間	N/A		26.3		56.5	
特記所見						
死亡動物	0	0	0	1[c]	0	1[c]
一般状態[d]						
持続静注中の呼吸回数の増加	7／4	0／0	4／2	2／2	7／3	3／2
持続静注中の間代性痙攣	1／1	0／0	0／0	0／0	5／2	1／1
体重 (%)[e]	3865	4447	4147 (7.3%)	3926 (-11.7%)*	4011 (3.8%)	3850 (-13.4%)*
0～98 日目の体重増加 (g)	610	1118	817	724*	627	632*
摂餌量：0～98 日目の摂餌量（g／匹／日）	138	167	162*	150	154	139

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；$AUC_{0\text{-}337hr}$ = 0 時間から 337 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；M = 雄；F = 雌；N/A = 該当せず；PD = 薬力学；RAHA = ウサギ抗ヒト抗体；NZW = New Zealand white；*p < 0.05、**p < 0.01（Dunnett 検定）。

a 最終投与は 84 日目（12 週目）。ただし、被験物質は少なくとも 14 日間、体内に滞留することが判明している。

b 雌雄統合値、RAHA は RAHA が認められた動物数／評価動物数を示す。

c 30 mg/kg の雌 1 匹が 14 日目の投与中、100 mg/kg の 1 匹が 42 日目の投与中にそれぞれ死亡。病理組織学的に死因は明らかでなく、対照群を含めてみられた持続投与時の拘束ストレスに起因した可能性があり、MLN0002 投与に起因した死亡ではないと判断された。

d 総発現回数／発現動物数として示す。

e 98 日目。対照群は群平均値を示し、投薬群では群平均値及び対照群に対する%変化率（括弧内）を示す。

2.6.7.7A 反復投与毒性試験：ウサギ 3 ヵ月（続き）

4.2.3.2-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

報告書の題名：A 3-month intravenous infusion toxicity and toxicokinetics study of MLN0002 with a 4-week recovery period in rabbits

投与量 (mg/kg)		0（対照）		30		100	
動物数		5 M	5 F	5 M	5 F	5 M	5 F
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—
尿検査							
pH	98 日目	6.8	6.7	6.4	7.0	7.2	7.5
	126 日目	7.0	7.5	N/A	N/A	7.0	7.5
血液学的検査							
白血球数 (10^3 /μL)：	98 日目	4.85	3.94	7.76	4.56	11.07	5.27
	126 日目	4.49	4.40	N/A	N/A	12.21	10.75
リンパ球数 (10^3 /μL)：	98 日目	3.48	2.64	6.15	3.31	9.63	4.26
	126 日目	3.42	2.63	N/A	N/A	9.99	8.36
リンパ球数 (%)：	98 日目	72.6	66.8	70.3	68.5	87.1	77.5
	126 日目	76.4	59.7	N/A	N/A	81.9	77.7
血液凝固系検査		—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査							
総タンパク (g/dL)：	98 日目	6.4	6.1	6.5	6.5	6.4	6.8
	126 日目	6.5	6.1	N/A	N/A	6.4	6.4
グロブリン (g/dL)：	98 日目	1.5	1.5	1.8	2.0**	1.8	2.0
	126 日目	1.6	1.7	N/A	N/A	1.8	1.9
A:G 比：	98 日目	3.22	3.19	2.70	2.22**	2.63	2.50
	126 日目	3.12	2.48	N/A	N/A	2.61	2.39
剖検		—	—	—	—	—	—

— = 特記所見なし；M = 雄；F = 雌；N/A = 該当せず；A:G 比 = アルブミン／グロブリン比；**p < 0.01（Dunnett 検定）。

2.6.7.7A 反復投与毒性試験：ウサギ３ヵ月（続き）

4.2.3.2-1 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 B 製剤）

報告書の題名：A 3-month intravenous infusion toxicity and toxicokinetics study of MLN0002 with a 4-week recovery period in rabbits

投与量 (mg/kg)		0（対照）		30		100	
動物数		5 M	5 F	5 M	5 F	5 M	5 F
器官重量							
投薬期間終了時	検査数	3 M	3 F	5 M	4 F	3 M	2 F
脾臓[e]		1.06	1.23	1.80 (69.8%)	1.85 (50.4%)	2.56 (141.5%)**	2.69 (118.7%)[f]
回復期間終了時	検査数	2 M	2 F	0 M	0 F	2 M	2 F
脾臓[e]		0.79	2.20	N/A	N/A	2.07 (162.0%)[f]	3.20 (45.5%)[f]
病理組織学的検査[g]							
投薬期間終了時[h]	検査数	3 M	3 F	5 M	5 F	3 M	3 F
脾臓							
リンパ組織過形成	軽微	0	0	2	0	0	1
	軽度	0	0	2	3	3	1
アミロイドーシス	軽微	0	2	3	3	1	2
	軽度	0	0	1	0	1	1
回腸（正円小嚢）							
パイエル板リンパ濾胞の縮小	軽微	0	0	1	0	1	2
	軽度	0	0	2	1	0	0
回復期間終了時	検査数	2 M	2 F	0 M	0 F	2 M	2 F
脾臓							
リンパ組織過形成	軽度	0	0	N/A	N/A	2	2
アミロイドーシス	軽微	1	1	N/A	N/A	1	1
	軽度	0	1	N/A	N/A	1	1
回腸（正円小嚢）							
パイエル板リンパ濾胞の縮小	軽度	0	0	N/A	N/A	1	0

M＝ 雄；F＝ 雌； N/A＝ 該当せず。

注記：**p < 0.01（Dunnett 検定）。

e 絶対重量及び相対重量共に変化がみられた。対照群は絶対重量の平均値を示し、投薬群は絶対重量の平均値及び対照群に対する%変化率（括弧内）を示す。

f n＝2 のため統計解析実施せず。

g 所見が認められた動物数を示す。

h 30 mg/kg 群及び 100 mg/kg 群の雌各 1 匹の途中死亡例を含む。

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験：サル 14 日

4.2.3.2-2 報告書番号：[redacted]		
被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）		
報告書の題名：Fourteen-day repeated dose toxicity study of LDP-02 administered via intravenous infusion to cynomolgus monkeys		
動物種／系統：カニクイザル	投与期間：14 日間（1 日 1 回）	
試験開始時齢：Young adult -Adult	溶媒／投与形態：生理食塩液	GLP 適用：適
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：60 分間持続静注（1 日目）、30 分間持続静注（2 日目）及び 15 分間持続静注（3～14 日目）	
無毒性量：2.5 mg/kg		

投与量 (mg/kg)	2.5	
動物数	3 M	3 F
トキシコキネティクス [a]		
C_{max}(μg/mL)：14 日目	330.8	
PD（MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ に陽性を示した $CD3^+$ T 細胞の割合%）[a]：29 日目	-3	
特記所見：		
死亡動物	0/3	0/3
一般状態	—	—
体重	—	—
摂餌量	—	—
眼科学的検査	—	—
血圧、心拍数、体温、呼吸数	—	—
血液学的検査	—	—
血液凝固系検査	—	—
血液生化学的検査	—	—
尿検査	—	—
糞便寄生虫卵検査	—	—
剖検	—	—
器官重量	—	—
病理組織学的検査	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M = 雄；F = 雌；PD = 薬力学。

a 雌雄統合値。

2.6.7.7 C 反復投与毒性試験：サル 3 ヵ月

		4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]
		被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）
報告書の題名：Three-month pharmacokinetic and safety study of LDP-02 in cynomolgus monkeys		
動物種／系統：カニクイザル	投与期間：3 ヵ月（85 日間：投与間隔は投与方法欄参照）	休薬期間：10 週間（70 日間）
試験開始時齢：Young adultt	溶媒／投与形態：生理食塩液	GLP 適用：適
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：30 分間持続静注（1 日目）及び 1 分間静注（その後の投与日） 対照群及び 10 mg/kg 群は、1 日目及び 4 日目に投与後、85 日目まで週 1 回投与（合計 14 回）；2.5 mg/kg 群では、1～8 日目まで 1 日 1 回投与、その後は 29 日目までは週 2 回、85 日目までは週 1 回投与（合計 22 回）。	
特記事項：免疫毒性学的評価（リンパ球イムノフェノタイピング）及び結腸粘膜における MLN0002 未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現細胞に関する免疫組織学的検討を実施		
無毒性量：10 mg/kg		

投与量 (mg/kg)	0（対照）		2.5		10	
動物数	5 M	5 F	3 M	3 F	5 M	5 F
トキシコキネティクス [a,b]						
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*μg/mL) ：85 日目	ND		4960		13,300	
C_{max} (μg/mL) ：85 日目	ND		275		770	
PAHA[b]	0／5	0／5	3／3	3／3	5／5	5／5
PD（結合 MLN0002 に陽性を示した T 細胞の割合%）[a,b]：86 日目	N/A		99		99	
特記所見：						
死亡動物	1 (43 日目)[c]	0	0	0	0	0
一般状態						
嘔吐	0	0	1	0	4	2
顔面腫脹	0	0	1	0	2	0
皮膚（顔面）紅斑	0	1	1	0	1	2
粘膜蒼白	1	0	1	0	1	0

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；$AUC_{0\text{-}24hr}$ = 0 時間から 24 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；— = 特記所見なし；M = 雄；F = 雌；N/A = 該当せず；ND = 未実施；PD = 薬力学；PAHA = サル抗ヒト抗体。

a PAHA による中和作用が認められた動物のデータを除外して計算（各群 n = 4）。

b 雌雄統合値、PAHA は PAHA が認められた動物数／評価動物数を示す。

c 採血部位の重篤な血腫及び膿瘍のため安楽殺した。

2.6.7.7C 反復投与毒性試験：サル 3 ヵ月（続き）

4.2.3.2-4 報告書番号：[redacted]

被験物質：MLN0002（製造法 A 製剤）

報告書の題名：Three-month pharmacokinetic and safety study of LDP-02 in cynomolgus monkeys

投与量 (mg/kg)	0（対照）		2.5		10	
動物数	5 M	5 F	3 M	3 F	5 M	5 F
体重	—	—	—	—	—	—
心拍数、体温、呼吸数、心電図検査	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—
血液凝固系検査	—	—	—	—	—	—
糞便寄生虫卵検査	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—
器官重量	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—
免疫毒性学的評価（リンパ球イムノフェノタイピング）	—	—	—	—	—	—
結腸粘膜における未結合 $\alpha_4\beta_7$ インテグリン発現細胞数	—	—	減少	減少	減少	減少
回復性評価						
動物数	2 M[d]	3 F	0 M	0 F	3 M	3 F
特記所見	—	—	N/A	N/A	—	—

— = 特記所見なし；M = 雄；F = 雌；N/A = 該当せず。

d　回復性評価に割り付けた雄 1 匹が 43 日目に状態悪化により安楽殺した。

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験：サル 13 週

		4.2.3.2-5 報告書番号：[redacted]
		被験物質：MLN0002 (製造法 B 製剤)
報告書の題名：A 13-week intravenous injection toxicity study of MLN0002 in the cynomolgus monkey (with a 12-week recovery period)		
動物種／系統：カニクイザル	投与期間：13 週間（2 週間に 1 回）	休薬期間：12 週間
試験開始時齢：3～3.5 年齢	溶媒／投与形態：生理食塩液	GLP 適用：適
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：10 分間持続静注	
特記事項：免疫毒性学的評価（血液及び CSF のリンパ球イムノフェノタイピング、NK 細胞活性及び TDAR 試験）を実施		
無毒性量：100 mg/kg		

投与量 (mg/kg)		0（対照）		10		30		100	
動物数		6 M	6 F	6 M	6 F	6 M	6 F	6 M	6 F
トキシコキネティクス[a]：									
$AUC_{0\text{-}336hr}$ (hr*μg/mL)：	1 日目	N/A		32,500		117,000		406,000	
	85 日目	N/A		28,400		110,000		834,000	
C_{max} (μg/mL)：	1 日目	N/A		300		911		3010	
	85 日目	N/A		150		902		5070	
PAHA[a]		0／12		12／12		12／12		11／12	
PD（結合 MLN0002 に陽性を示した割合%）[a]									
$CD4^+/CD45RA^+$：	1 日目（336 時間）	N/A		31.1		37.2		27.2	
	85 日目（336 時間）	N/A		36.5		39.0		47.2	
$CD4^+/CD45RA^-$：	1 日目（336 時間）	N/A		43.0		54.1		45.7	
	85 日目（336 時間）	N/A		30.4		33.9		54.0	
特記所見：									
死亡動物		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；$AUC_{0\text{-}336hr}$：0 時間から 336 時間までの血中濃度－時間曲線下面積；C_{max} = 最高濃度；— = 特記所見なし；M = 雄；F = 雌；N/A = 該当せず；PAHA = サル抗ヒト抗体；PD = 薬力学；CSF = 脳脊髄液；NK 細胞 = ナチュラルキラー細胞；TDAR = T 細胞依存性抗体産生。

a 雌雄統合値、PAHA は PAHA が認められた動物数／評価動物数を示す。