目次

1. まとめ 4
2. 毒性試験概要 7
2.1 単回投与毒性 7
2.2 反復投与毒性（TK 評価を含む） 7
2.2.1 BALB/c マウスを用いた muS103new の異なる投与経路による探索的 3 日間反復投与毒性試験 7
2.2.2 BALB/c マウスを用いた muS103new の静脈内及び皮下投与による探索的 5 日間反復投与毒性試験 10
2.2.3 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下及び急速静脈内投与による 2 週間予備反復投与毒性試験 13
2.2.4 BALB/c マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による 4 週間の休薬期間を含む 4 週間反復投与毒性試験 14
2.2.5 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下投与による 4 週間の休薬期間を含む 4 週間反復投与毒性試験 16
2.2.6 BALB/c マウスを用いた muS103new の 1 日 2 回の皮下投与による 4 週間の休薬期間を含む 13 週間毒性試験 18
2.2.7 ラットを用いたブリナツモマブの静脈内投与による 15 日間の休薬期間を含む 14 日間反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 20
2.2.8 チンパンジーを用いたブリナツモマブの用量漸増試験：in vivo 及び in vitro での検討 21
2.2.9 チンパンジーを用いたブリナツモマブの用量漸増試験 22
2.2.10 チンパンジーを用いたブリナツモマブの反復投与毒性試験 23
2.3 遺伝毒性 26
2.4 がん原性（TK 評価を含む） 26
2.5 生殖発生毒性（用量設定試験及び TK 評価を含む） 26
2.5.1 マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による胚・胎児発生に関する予備試験 26
2.5.2 マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験 28
2.6 局所刺激性試験 29
2.6.1 ウサギを用いたブリナツモマブの単回静脈内、筋肉内、動脈内、静脈周囲、及び皮下投与による局所刺激性試験 29
2.7 その他の毒性試験 29
2.7.1 免疫原性試験 29
2.7.1.1 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下又は静脈内反復投与による免疫原性試験 29
2.7.2 組織交差反応性試験 30
2.7.2.1 ヒト正常組織を用いたブリナツモマブの組織交差反応試験 30
3. 考察及び結論 32
4. 参考文献 34

略語一覧

略語又は用語	定義／説明
AMG 103	blinatumomab（ブリナツモマブ）
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
AST	Aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
CD3	Surface antigen on T cells, subunit of the T cell receptor complex（T 細胞上の表面抗原、T 細胞受容体複合体のサブユニット）
CD4	T cell surface antigen specific for the T helper cell subpopulation（ヘルパーT 細胞の亜集団に特異的な T 細胞表面抗原）
CD8	Surface antigen present on most cytotoxic T cells and NK cells（細胞傷害性 T 細胞及び NK 細胞に存在する表面抗原）
CD19	Surface antigen, pan-B cell receptor protein（表面抗原、汎 B 細胞受容体タンパク）
CD20	Surface antigen, pan-B cell marker（表面抗原、pan-B 細胞マーカー）
CD25	Late activation marker of T cells（T 細胞の後期活性化マーカー）
CD69	Early activation marker of T cells（T 細胞の初期活性化マーカー）
CPMP/EMA	The Committee for Medicinal Products for Human Use/European Medicines Agency（諮問委員会／欧州医薬品庁）
CRP	C-reactive protein（C 反応性タンパク）
DNA	Deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
FACS	Fluorescence-activated cell sorter（蛍光活性化細胞選別法）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
GD	Gestation days（妊娠）
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）
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor（顆粒球マクロファージコロニー刺激因子）
HD37	Anti-CD19 murine monoclonal antibody（抗 CD19 マウスモノクローナル抗体）
HIS	Histidine（ヒスチジン）
HLA-DR	MHC class II human leukocyte antigen subgroup（MHC クラス II ヒト白血球抗原サブグループ）
HSA	Human serum albumin（ヒト血清アルブミン）
ICH	International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議）
IgG	Immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
IL-1β	Interleukin-1 beta（インターロイキン-1β）
IL-2	Interleukin-2（インターロイキン-2）
IL-4	Interleukin-4（インターロイキン-4）
lL-6	Interleukin-6（インターロイキン-6）
IL-10	Interleukin-10（インターロイキン-10）
IL-17	Interleukin-17（インターロイキン-17）
IFN-γ	Interferon gamma（インターフェロン γ）
IMM	Immunogenicity subgroup（免疫原性サブグループ）
LDH	Lactate dehydrogenase（乳酸脱水素酵素）
L2K-07	Anti-CD3 murine monoclonal antibody（抗 CD3 マウスモノクローナル抗体）
MEDI-538	blinatumomab（ブリナツモマブ）
MT103	blinatumomab（ブリナツモマブ）
muS103new	Murine surrogate for blinatumomab（blinatumomab のマウス代替抗体）
NK	Natural killer（ナチュラルキラー）
NKT	Natural killer-like T cell（ナチュラルキラーT）
OECD	Office of Economic Cooperation and Development（経済協力開発機構）
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核球）
PD	Pharmacodynamics（薬力学）
sCD25	Soluble CD25, marker of T cell activation（可溶型 CD25、T 細胞活性化マーカー）
SD	Standard deviation（標準偏差）
SEM	Standard error of the mean（平均値の標準誤差）
TK	Toxicokinetic（トキシコキネティクス）

略語又は用語	定義／説明
TNF	Tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha（腫瘍壊死因子-α）

1. まとめ

ブリナツモマブ（MT103、MEDI-538 又は AMG 103）及びそのラット抗マウス CD3/CD19 二重特異性代替抗体（マウス代替抗体）である muS103new について、動物を用いた一連の毒性試験により評価した。各毒性試験の用量として、本分子の薬理作用に関連した毒性の発現が期待される用量、及び患者にブリナツモマブを投与したときに発現する可能性のある全身性の毒性を明らかにするための用量を選択した。

ヒトとチンパンジーの B 細胞及び T 細胞に対し、ブリナツモマブは同等の親和性で結合し、これら両種における B 細胞を標的とした細胞傷害及び T 細胞によるサイトカインの放出において同等の活性を示す。一方、ブリナツモマブは、マウス、ラット、イヌ及びチンパンジー以外の非ヒト霊長類を含むほかの動物種のリンパ球には結合しない（モジュール 2.6.2 第 3.4 項）。チンパンジーを用い、病理組織検査を生検リンパ節に限定（剖検は実施せず）し、投与量を 1 用量のみ設定した 4 週間間歇（週 1 回）静脈内持続投与試験を実施し、ブリナツモマブの影響について検討した。また、マウス CD3 及び CD19 に対し、ブリナツモマブのヒト B 及び T 細胞への結合親和性と比較して同程度の結合親和性を有し、マウス B 細胞に対するリダイレクト細胞溶解、マウス T 細胞の活性化、さらにヒト細胞に対するブリナツモマブの作用と類似したサイトカインの放出を介在するマウス代替抗体である muS103new を作製し、マウスにおける 13 週間反復皮下投与試験、急速静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験及び皮下又は静脈内反復投与免疫原性試験を実施した。（モジュール 2.6.2 第 3.5 項）。さらに、ブリナツモマブの薬理作用に起因しない毒性について検討するため、薬理作用を示さない動物種を用いた試験も実施した。

チンパンジーを用いた試験では、良好な忍容性が示されたものの、サイトカインにより誘発されたと考えられる血圧の低下及び体温の中等度の上昇が認められた。チンパンジー（ブリナツモマブを投与）及びマウス（muS103new を投与）において観察された主な所見は、想定内の薬理学的効果（B 細胞の減少、T 細胞の活性化、及び T 細胞の再分布）であった。マウス代替抗体では、投与期間を通じて持続的な T 細胞数の減少を示したが、この変化はヒトで観察された T 細胞数の減少が短期間であったことと異なっていた。また、病理組織学的にリンパ系組織の細胞数の減少が認められたが、4 週間の休薬期間中に回復性が認められた。胚・胎児発生への影響に関する試験をマウス代替抗体を用いてマウスで実施したところ、母体及び胚・胎児発生に対して影響はみられなかった。すなわち、マウス代替抗体を用いた試験では懸念される毒性学的所見は認められなかった。臨床試験で観察されているような神経学的影響は、動物を用いた試験ではみられず、代替抗体を直接脳室内に持続投与した高曝露条件下の試験においても観察されなかった。ヒト組織に対する交差反応性試験で、ブリナツモマブはリンパ球のみに結合することが示された。薬理作用を示さない動物種を用い、薬理作用に起因しない毒性を評価した試験（ラットを用いた反復投与毒性試験、イヌを用いた心血管系に対する毒性試験及びウサギを用いた局所刺激性試験）では、安全性上問題となる所見は認められなかった。

非臨床毒性試験の一覧を表 1 に示す。

表 1　非臨床毒性試験の一覧

Study Title	Test Facility	GLP	Amgen Study Number
Repeat Dose Studies			
Exploratory Three Day Repeated Dose Toxicity Study of muS103new After Different Routes of Administration to BALB/c Mice	[redacted], Germany	No	103-PCD-0091
muS103new: Exploratory Toxicity Study of Intravenous and Subcutaneous Administration to BALB/c Mice for 5 Days	[redacted], Germany	No	103-PCD-0092
muS103new: Preliminary Toxicity Study by Subcutaneous and Intravenous (Bolus) Administration to BALB/c Mouse for 2 Weeks	[redacted], UK	No	103-PCD-0070
14-Day Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study With MEDI-538 in Rats with a 15-Day Recovery Period	[redacted], USA	No	103-PCD-0044
muS103new: Toxicity Study by Intravenous (Bolus) Administration to BALB/c Mice for 4 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period	[redacted], UK	Yes	103-PCD-0075
muS103new: Toxicity Study by Subcutaneous Administration to BALB/c Mice for 4 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period	[redacted], UK	Yes	103-PCD-0074
muS103new: Toxicity Study by Twice-Daily Subcutaneous Administration to BALB/c Mice for 13 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period	[redacted], UK	Yes	103-PCD-0082
Dose Escalation Study in Chimpanzees for MT103: In Vivo and In Vitro Analysis	[redacted], The Netherlands	No	103-PCD-0009
Dose Escalation Study for the Bispecific Single Chain Monoclonal Antibody MT103 (CD19 x CD3) in a Chimpanzee	[redacted], USA	No	103-PCD-0016
Multiple Dose Study for the Bispecific Single Chain Monoclonal Antibody MT103 (CD19 x CD3) in Chimpanzees	[redacted], USA	Yes	103-PCD-0015

GLP＝Good Laboratory Practice. MEDI 538 and MT103 = blinatumomab. muS103new is a murine surrogate molecule.

表 1　非臨床毒性試験の一覧（続き）

Study Title	Test Facility	GLP	Amgen Study Number
Reproductive Toxicity Studies			
Preliminary Study for Effects on Embryo-Fetal Development by Intravenous Route (Bolus) in Mice	[redacted], France	No	103-PCD-0079
Study for Effects on Embryo-Fetal Development by Intravenous Route (Bolus) in Mice	[redacted], [redacted], France	Yes	103-PCD-0080
Other Studies			
Local Tolerance Test of MT103 in Rabbits After a Single Intravenous, Intramuscular, Intra-arterial, Paravenous and Subcutaneous Administration	[redacted], Germany	Yes	103-PCD-0010
Development of Immunogenicity After Multiple Subcutaneous and Intravenous Administrations of muS103new in BALB/c Mice	Micromet GmbH Munich, Germany	No	103-PCD-0089
Cross-Reactivity of MEDI-538 with Normal Human Tissues	[redacted], [redacted], [redacted], USA	Yes	103-PCD-0041

GLP = Good Laboratory Practice. MEDI 538 and MT103 = blinatumomab. muS103new is a murine surrogate molecule.

主要な毒性試験及びトキシコキネティクス（TK）試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守し、経済協力開発機構（OECD）の基準に沿って実施した。本剤の開発段階において、医薬品規制調和国際会議（ICH）、諮問委員会／欧州医薬品庁（CPMP/EMA）、及び米国食品医薬品局（FDA）の該当するガイダンス文書についても参照した。

2. 毒性試験概要

2.1 単回投与毒性

ブリナツモマブ及びマウス代替抗体を用いた単独の単回投与毒性試験は実施していないが、ブリナツモマブ及びマウス代替抗体の急性毒性については、チンパンジーを用いた毒性試験（103-PCD-0016 及び 103-PCD-0015 試験）並びにマウスを用いた初期の試験（103-PCD-0091 及び 103-PCD-0092 試験）で検討されており、その詳細については各試験の概要に記載した。

2.2 反復投与毒性（TK 評価を含む）

2.2.1 BALB/c マウスを用いた muS103new の異なる投与経路による探索的 3 日間反復投与毒性試験

本試験は、マウス代替抗体である muS103new を BALB/c マウスに異なる投与経路（静脈内投与、皮下投与及び腹腔内投与）で投与した後の、末梢血におけるリンパ球数及びサイトカイン放出に対する影響を検討することを目的に実施した。また、muS103new の作用について、CD3 及び CD19 に対する結合親和性が異なる別の代替抗体（muS103）と比較検討した（103-PCD-0091 試験）。ただし、この比較結果については、muS103new の毒性学的評価には利用しなかった。1 群 21 例の雌 BALB/c マウスを用い、5 群構成で溶媒（静脈内投与）、muS103new（0.25 mg/kg の静脈内投与、0.5 mg/kg の腹腔内投与、1.25 mg/kg の皮下投与）又は muS103（0.25 mg/kg の静脈内投与）を 1 日 1 回 3 日間連続で急速投与した。

表 2　BALB/c マウスを用いた muS103new の異なる投与経路による探索的 3 日間反復投与毒性試験の構成（103-PCD-0091 試験）

Group	Treatment	Route	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals (Females)
1	Vehicle_1[a]	IV	0	21
2	muS103new	IV	0.25	21
3	muS103new	SC	1.25	21
4	muS103new	IP	0.5	21
5	muS103	IV	0.25	21

IV = intravenous; SC = subcutaneous ; IP = intraperitoneal

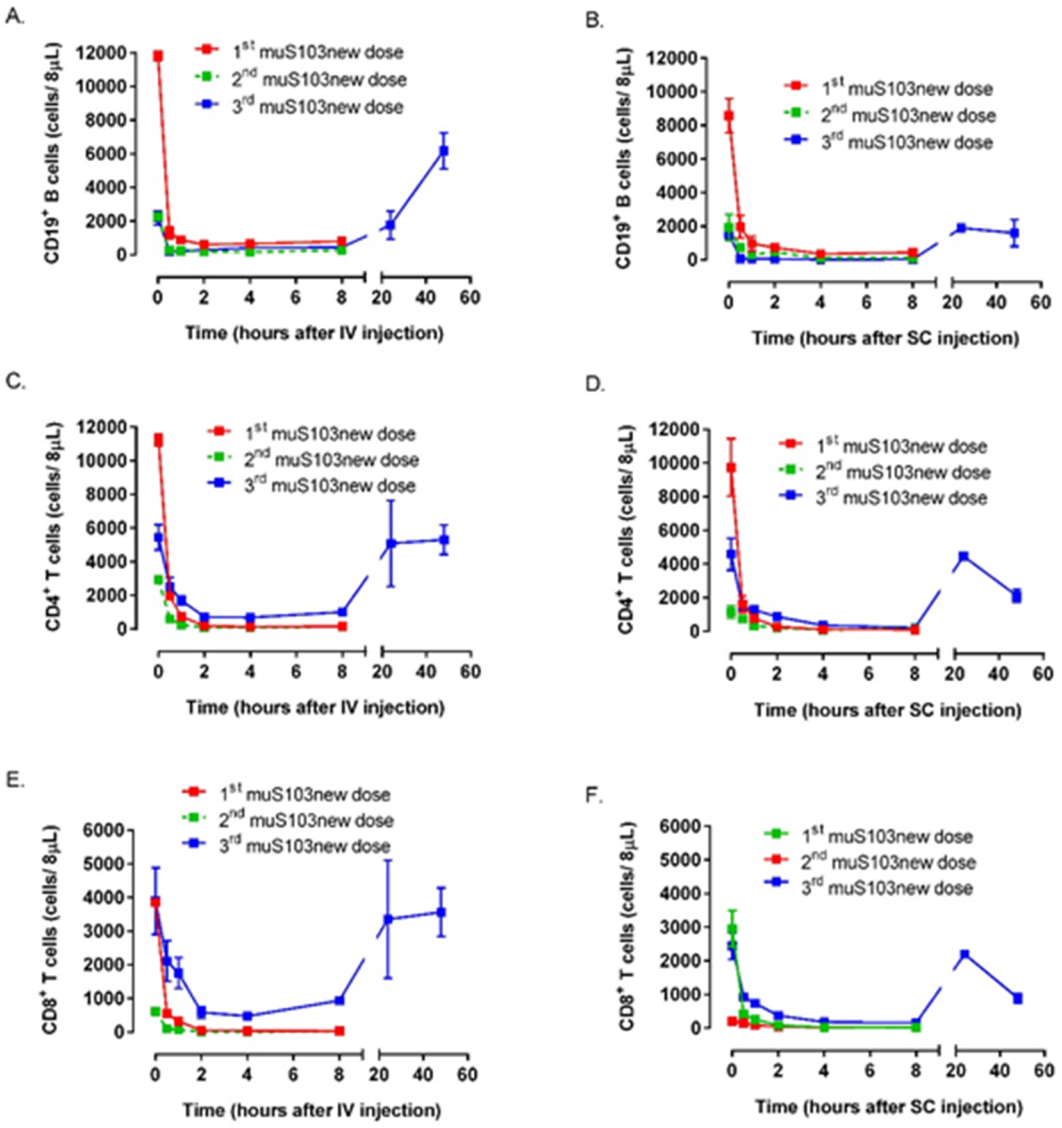
[a] Control = Vehicle (25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 5% (w/v) glycerole, pH 7)

各投与日において、投与前及び投与後の 5 時点（30 分～8 時間）に血液を採取し、最終投与時には投与 24 及び 48 時間後にも採取した。CD19 陽性 B 細胞、CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の数を測定し、インターフェロン γ（IFN-γ）、腫瘍壊死因子（TNF）、インターロイキン-2（IL-2）、IL-10、IL-4、IL-6、IL-17、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、及び IL-1β の血清中濃度についても測定した。

muS103new を異なる投与経路にて 1 日 1 回 3 日間連日で投与した結果、B 細胞及び T 細胞数の減少、並びに血清中サイトカイン濃度の上昇は各投与経路で同程度であった。また、その結果は muS103 の静脈内投与時のものと類似していた。投与 30 分後までに明らかな B 細胞数の減少がみられ、投与後 2～8 時間の間に最小値となった。いずれの被験物質についても最終投与 24～48 時間後

に B 細胞数の部分的な回復が観察された。CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞数も B 細胞と同様の変動を示し、細胞数は投与後 30 分まで明らかに減少し、投与 4～8 時間後に最小値となった。muS103new を各投与経路にて投与した 24 時間後における CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞数は、投与後 8 時間の測定値に比較して増加した。3 回目の投与後 48 時間では、全体として T 細胞数は B 細胞よりも顕著な回復性を示した。図 1 に muS103new を静脈内及び皮下投与した時のリンパ球数に対する影響を示す。なお、腹腔内投与については、その後の試験で投与経路として採用しなかったことから結果は示していない。

図 1　B 及び T リンパ球数に対する muS103new 投与の影響

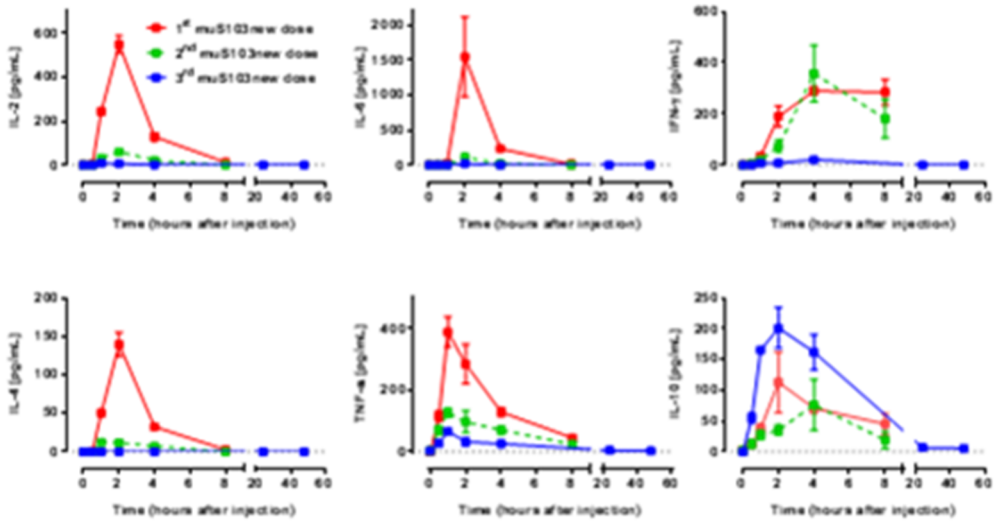


Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 0.25 mg/kg IV (Panels A, C, E) or 1.25 mg/kg SC (Panels B, D, F) for 3 consecutive days. Blood samples were collected over time after each dose and lymphocyte subsets were quantified using flow cytometry. Values represent Mean + SEM (n = 3/time point). SC = subcutaneous; IV = intravenous.

Source: Adapted from Report 103-PCD-0091

muS103new 及び muS103 の投与により、末梢リンパ球数の減少に加え、血中サイトカインの上昇が認められた。サイトカイン（IL-2、IL-4、IL-6、IL-17、GM-CSF、TNF-α、及び IFN-γ）の放出は、muS103new の初回投与後で最も強く、2 回目及び 3 回目の投与後では一部に誘導がみられたものの、その程度は軽度であった。ただし、IL-10 については例外的なパターンを示しており、IL-10 の最大値は 2 回目投与後（muS103new の腹腔内投与及び muS103 の静脈内投与）又は 3 回目投与後（muS103new の静脈内投与及び皮下投与）に観察された（図 2、図 3）。

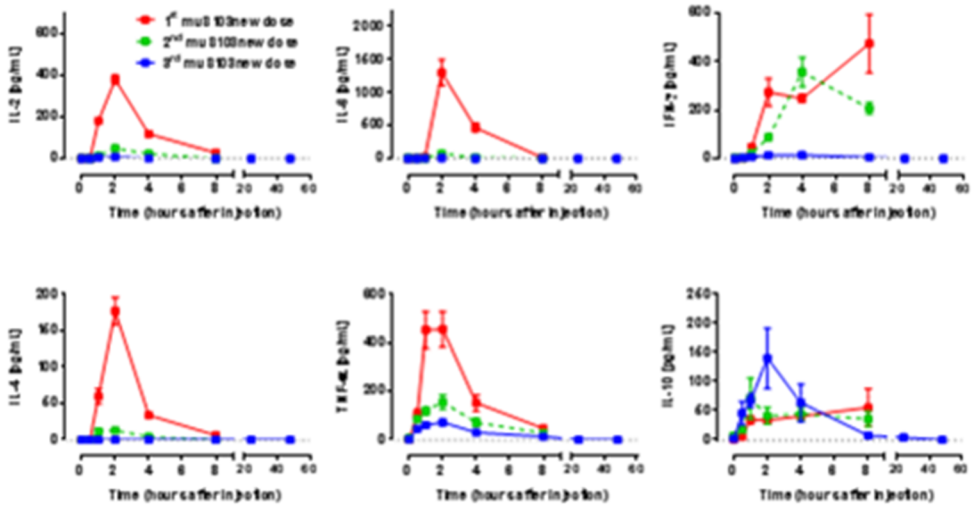
図 2　muS103new 静脈内投与後のサイトカイン放出の経時的推移



Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 0.25 mg/kg IV for 3 consecutive days. Serum samples were collected after each dose and cytokine concentrations were measured by fluorescence-activated cell sorter using cytometric bead arrays. Values represent Mean + SEM (n = 3/time point).

Source: Adapted from Report 103-PCD-0091

図 3　muS103new 皮下投与後のサイトカイン放出の経時的推移



Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 1.25 mg/kg SC for 3 consecutive days. Serum samples were collected after each dose and cytokine concentrations were measured by fluorescence-activated cell sorter using cytometric bead arrays. Values represent Mean + SEM (n = 3/time point).

Source: Adapted from Report 103-PCD-0091

以上の結果から、本試験において一般状態に影響は認められず、muS103new の忍容性は良好であった。皮下及び腹腔内投与による薬理学的作用は、静脈内投与によるものと類似していた。

2.2.2 BALB/c マウスを用いた muS103new の静脈内及び皮下投与による探索的 5 日間反復投与毒性試験

本試験は、雌の BALB/c マウスを用い、muS103new を 1 日 1 回 5 日間、皮下又は急速静脈内投与した時の全身毒性並びにリンパ球及びサイトカインに対する薬理効果を検討することを目的とし実施した（103-PCD-0092 試験）。

以下の表 3 のとおり、雌の BALB/c マウス、1 群 20 例を用い、muS103new 又は溶媒を 1 日 1 回 5 日間連日皮下又は急速静脈内投与した。

表 3　マウスにおける muS103new の静脈内及び皮下投与による 5 日間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0092 試験）

Group	Treatment	Route	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals (Females)
1	Control [a]	IV	0	20
2	Control [a]	SC	0	20
3	muS103new	SC	0.05	20
4	muS103new	SC	10.2	20
5	muS103new	IV	2.04	20
6	muS103new	IV	10.2	20

IV = intravenous; SC = subcutaneous

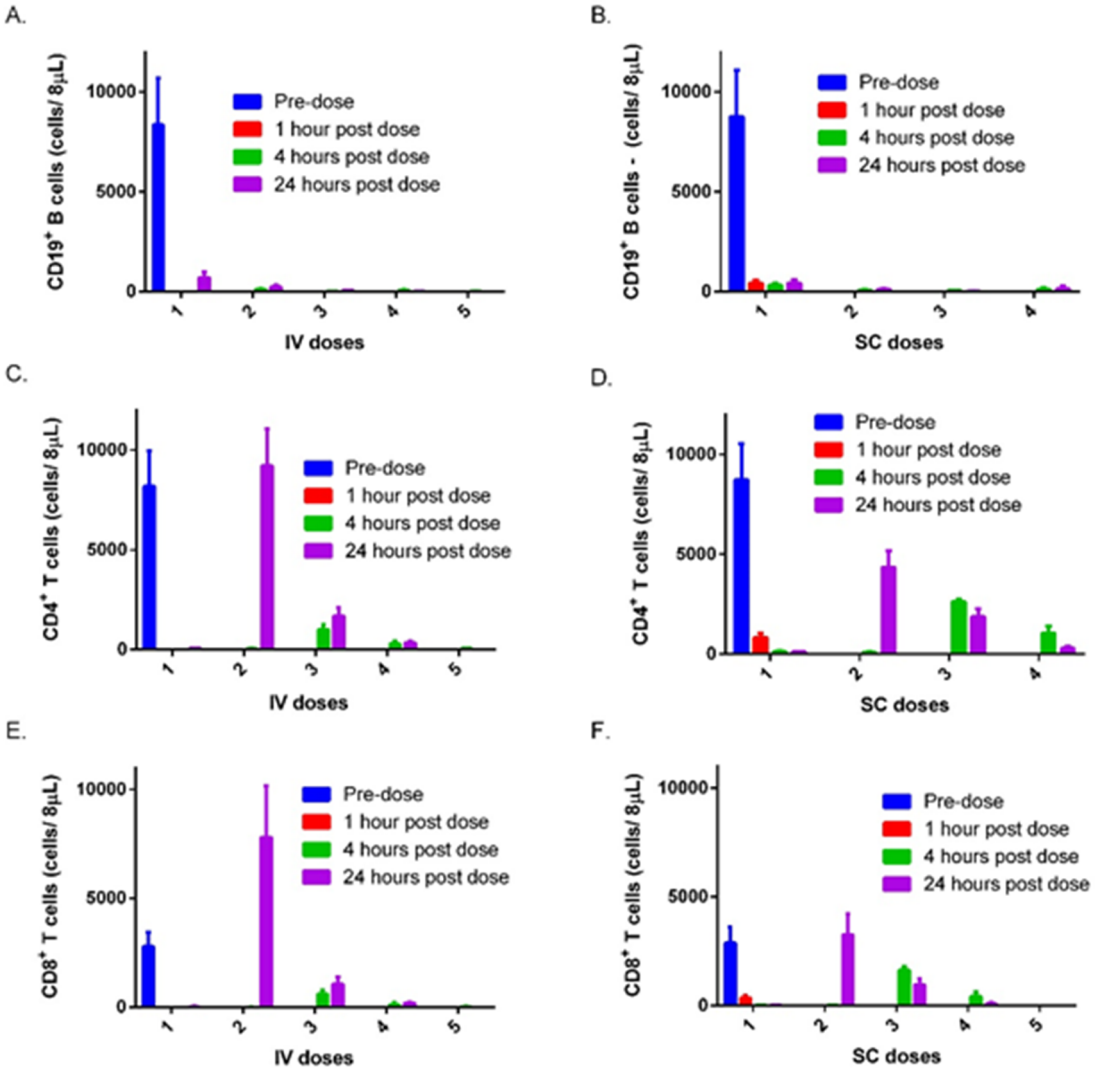
[a] Control = Vehicle (25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 5% (w/v) glycerol, pH 7)

試験期間中、一般状態を観察し、体重及び体温を測定した。各群 5 例を、初回投与後の 1 及び 24 時間、4 回目投与後の 24 時間、並びに最終投与後の 72 時間にそれぞれ安楽死させた。血液及び脾臓、肝臓、肺、及び骨髄を採取し、血液生化学的検査、リンパ球のサブタイプ、脾臓重量及び血清中サイトカイン濃度について測定した。

静脈内及び皮下投与群とも、muS103new に関連した一般状態、体重及び体温の変化はみられなかった。血液生化学的検査では、muS103new 投与群と対照群間に差は認められなかった。muS103new の 4 回目の投与後 24 時間において、すべての投与群で脾臓重量の増加がみられたが、3 日間の休薬期間終了後には回復した。

muS103new を投与したすべての群で、末梢血におけるリンパ球数（CD19 陽性 B 細胞、CD4 陽性 T 細胞、及び CD8 陽性 T 細胞）の顕著な減少が観察されたが、投与後 24 時間では、T 細胞サブセットに若干の回復傾向がみられた（図 4）。

図 4　リンパ球数に対する muS103new 投与の影響

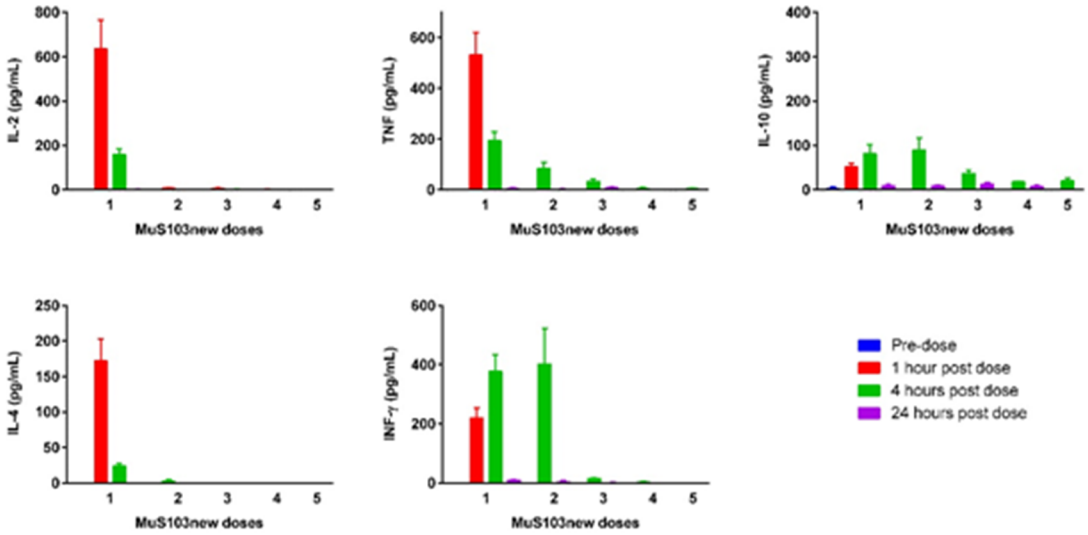


Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 10.2 mg/kg IV (Panels A, C, E) or SC (Panels B, D, F) for 5 consecutive days. Blood samples were collected over time after each dose and lymphocyte subsets were quantified using flow cytometry. Values represent mean + SD (n = 5/time point). IV = intravenous; SC = subcutaneous

Source: Adapted from Report 103-PCD-0092

図 5 及び図 6 に、静脈内及び皮下投与後のサイトカイン濃度の変動を示す。血清中サイトカイン濃度（IFN-γ、TNF、IL-2、GM-CSF、IL-4）については、muS103new の投与後、すべての投与群で一過性に上昇した。IL-10 については、高用量投与群（10.2 mg/kg の皮下投与）でのみ上昇した。サイトカインの放出は、初回投与後で最も顕著であり、2 回目以降の投与後では大幅に低下していた。

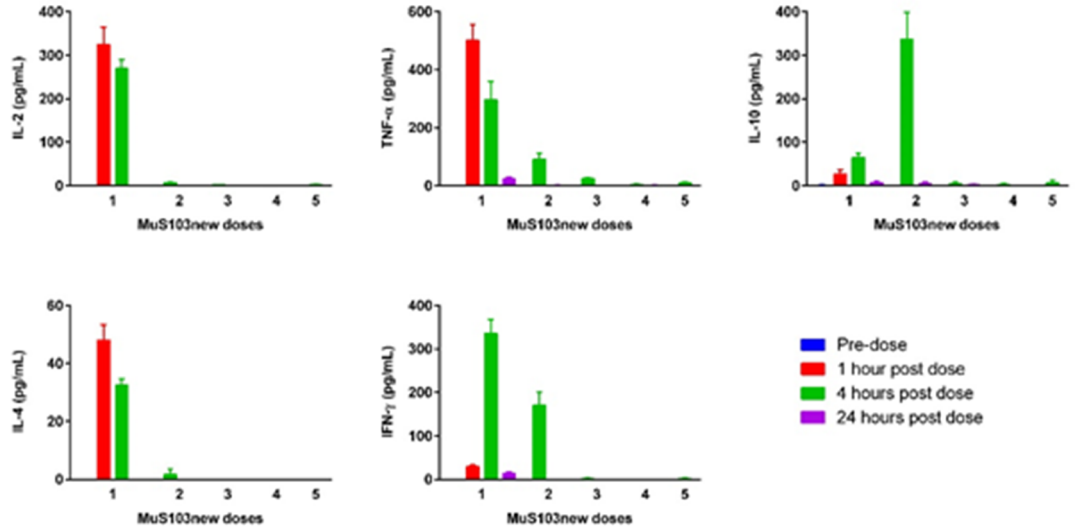
図 5　muS103new 静脈内投与後のサイトカイン濃度



Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 10.2 mg/kg intravenous for 5 consecutive days. Serum samples were collected at the indicated times after each dose and cytokines measured by fluorescence-activated cell sorter using cytometric bead arrays. Values represent mean + SD (n = 5/time point).

Source: Adapted from Report 103-PCD-0092

図 6　muS103new 皮下投与後のサイトカイン濃度



Female BALB/c mice received daily injections of muS103new at 10.2 mg/kg subcutaneous for 5 consecutive days. Serum samples were collected at the indicated times after each dose and cytokines measured by fluorescence-activated cell sorter using cytometric bead arrays. Values represent mean + SD (n = 5/time point).

Source: Adapted from Report 103-PCD-0092

muS103new の 4 回目投与後 24 時間までに、0.05 mg/kg/日の皮下投与群の肺を除く、すべての muS103new 投与群の脾臓、骨髄、肝臓及び肺組織中の CD19 陽性 B 細胞数の用量依存的な減少が認められた。脾臓、肺及び肝臓での CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の割合は、muS103new 投与後に低下しており、残存していた CD4 陽性/CD8 陽性 細胞では活性マーカーである CD69 及び CD25 の発現亢進がみられた。

これらの結果から、本試験条件下では muS103new の忍容性は良好であり、muS103new の薬理作用は、皮下及び静脈内の両投与経路により認められた。

2.2.3 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下及び急速静脈内投与による 2 週間予備反復投与毒性試験

本試験は、雌雄の BALB/c マウスに、muS103new を 2 週間皮下及び急速静脈内投与した時の全身毒性について検討し、その後実施する GLP 条件下での 4 週間反復投与毒性試験での投与量を検討することを目的に実施した（103-PCD-0070 試験）。検討項目として、1）muS103new の投与により予測される薬理作用及び過剰な薬理作用に関連する潜在的に有害な影響、2）マウスにおいて、今後 muS103new を用いて実施する毒性試験の投与経路として、静脈内及び皮下投与を選択することの適切性、3）主要な薬力学的（PD）マーカーを評価項目として検証すること及びこれら評価項目と TK との比較、並びに 4）2 週間投与後の免疫原性サブグループ（IMM）の有無についてのモニタリングを検討するために、一般状態観察、体重、摂餌量測定、血液学的検査、免疫表現型分類、臓器重量測定、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査を実施した。さらに、抗抗体産生及び TK 評価のためのサテライト群を設定した。

試験デザインは以下の通りとした（表 4）。

表 4　マウスにおける muS103new の 14 日間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0070 試験）

					Number of Animals/Sex/Group			
			Dose		Main	Satellite Animals		
Group	Treatment	Route	mg/kg/day	mg/kg/dose	Study	PD	TK	IMM
1	Control [a]	SC	0	0	6	6	0	0
2	muS103new	SC	2	1	6	6	3	0
3	muS103new	SC	10	5	6	6	18	5
4	Control [a]	IV	0	0	6	6	0	0
5	muS103new	IV	1	1	6	6	18	5
6	muS103new	IV	5	5	6	6	3	0

IV = intravenous; SC = subcutaneous; PD = Pharmacodynamics; IMM = Immunogenicity

[a] Control = Vehicle (10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% (w/v) trehalose and 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7).

死亡は認められなかった。muS103new の血清中濃度は、いずれの投与経路でも投与量の増加に伴い増加した。投与 14 日において、抗 muS103new 抗体は検出されなかった。

1 mg/kg/日静脈内投与群の 3 例及び 5 mg/kg/日静脈内投与群の 2 例において、運動性低下、頻呼吸／不規則呼吸、半眼が、1 mg/kg/日静脈内投与群の 1 例では腹臥位が投与直後に一過性に発現し、投与 3 時間以内に回復性が認められた。

両投与経路のすべての muS103new 投与群でリンパ球数の顕著な減少が認められた。1 又は 5 mg/kg/日静脈内投与群の雌雄及び、2 又は 10 mg/kg/日皮下投与群の雄で総白血球数の中等度の減少がみられた。2 又は 10 mg/kg/日皮下投与群の雌で好中球数の軽度な増加がみられ、雌雄で好酸球数の軽度な増加が認められた。1 及び 5 mg/kg/日静脈内投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群の雌で、網状赤血球数のわずかな増加がみられた。

フローサイトメトリーによる免疫表現型分類では、両投与経路によるすべての muS103new 投与群において、末梢血及びリンパ系組織での B 細胞、T 細胞（CD4 陽性及び CD8 陽性の両サブセットを

含む）、ナチュラルキラー（NK）細胞、及びナチュラルキラーT（NKT）細胞の顕著な減少がみられた。

muS103new 投与群における臓器重量（体重比）の変化として、すべての投与群で脾臓重量の減少（脾臓の細胞数減少と一致する）、静脈内投与の雄及び皮下投与の雌で肝臓重量の減少、10 mg/kg/日皮下投与群の雄で肺重量の増加、及び雌で卵巣重量の減少が認められた。肝臓、肺及び卵巣において、病理組織学的な変化はみられなかったことから、これらの臓器重量の変化は毒性学的意義のないものと判断した。

病理組織学的検査において、muS103new を投与したすべての動物で脾臓の変化（髄外造血あるいは白脾髄での細胞数減少）がみられ、muS103new を投与した大半の動物で腸間膜、下顎、及び腋窩リンパ節の変化（皮質／傍皮質の細胞数減少）がみられた。

これらの結果から、マウスに muS103new を投与した場合、末梢血及びリンパ系組織でリンパ球の減少が認められた。本所見は、皮下及び静脈内投与後にみられ、いずれの投与経路においても明らかな投与量との関連は認められなかった。本試験で検討した用量及び両投与経路とも、マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験における毒性及び免疫原性の検討に適切であると考えられた。

2.2.4 BALB/c マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による 4 週間の休薬期間を含む 4 週間反復投与毒性試験

本試験は、雌雄の BALB/c マウスに、muS103new を 4 週間急速静脈内投与したときの全身毒性について検討すること、並びに得られた所見について、4 週間の休薬期間における回復性を検討することを目的で実施した（103-PCD-0075 試験）。試験デザインは以下の通りであった（表 5）。

表 5　マウスにおける muS103new の静脈内投与による 4 週間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0075 試験）

			Number of Animals/Sex/Group				
			Main		Satellite Animals		
Group	Treatment	Dose (mg/kg/day)	Study	Recovery	PD	TK	IMM
1	Saline Control	0	12	0	9	0	0
2	Vehicle Control [a]	0	12	6	9	6	6
3	muS103new	0.2	12	6	9	18	6
4	muS103new	1	12	6	9	18	6
5	muS103new	5	12	6	9	18	6

PD = pharmacodynamics; TK= toxicokinetics ; IMM = immunogenicity

[a] Vehicle Control = 10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% (w/v) trehalose and 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7

雌雄の BALB/c マウスを用い、muS103new の 0.2、1、又は 5 mg/kg/日を、投与容量を 5 mL/kg として 1 日 1 回 4 週間反復静脈内投与した。

検査項目は、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、免疫表現型分類、TK、免疫原性、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.4 項に示す。投与 28 日に、0.2 mg/kg/日投与群の免疫原性を検討するためのサテライト動物において、抗 muS103new 抗体が検出された。0.2 mg/kg/日投与群では、抗 muS103new 抗体の産生がみられたものの、投与 28 日において薬剤の曝

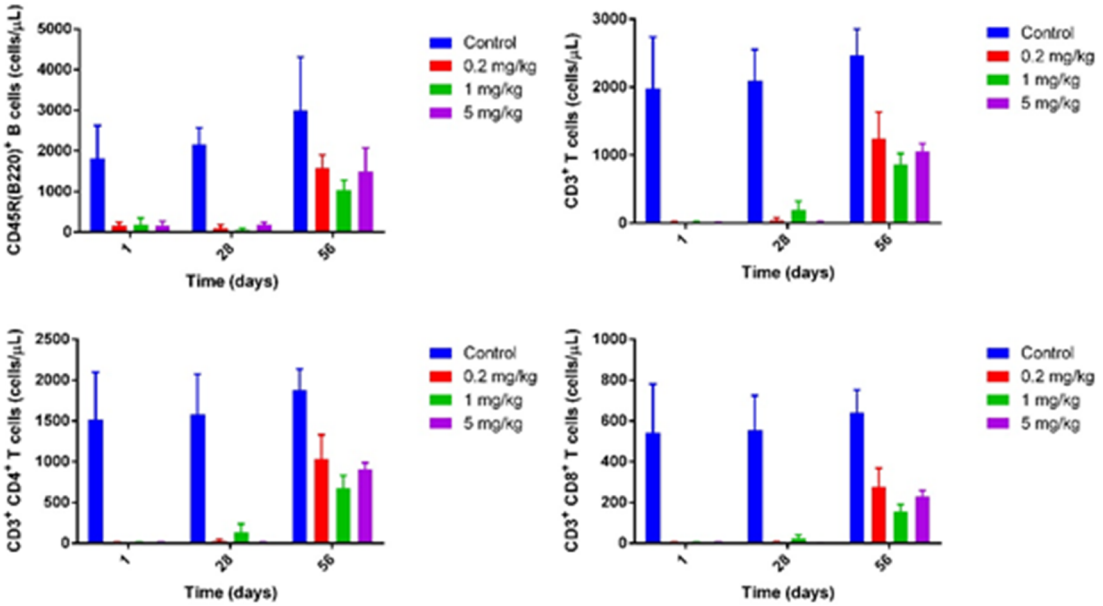
露及び薬力学的反応が認められた。全体として、曝露及び薬理作用の成績から、投与期間全体にわたり muS103new の継続的かつ用量に依存した曝露が認められたことから、本投与期間全体における毒性学的評価は妥当であると考えられた。

muS103new に起因した一般状態の変化は認められず、体重増加量及び摂餌量に対する影響はみられなかった。また、眼科学的検査において所見は認められず、血液生化学的検査でも muS103new の投与に関連した変化はみられなかった。なお、試験期間中、3 例の死亡が認められたが、いずれも muS103new の投与に関連したものではなかった。

血液学的検査において、muS103new 投与に関連した変化として、溶媒対照群と比較して 0.2 mg/kg 日以上の投与群の雌雄でリンパ球数の顕著な減少、総白血球数及び大型非染色細胞数の減少が認められた。4 週間の休薬期間終了後、細胞数の完全な回復が雌雄で認められた。

投与 1 日及び投与期間終了時における薬力学的（免疫表現型分類）検討では、末梢血及びリンパ系組織で B、T、NK、及び NKT 細胞の顕著な減少が確認された。休薬期間終了後では、末梢血中のこれらの細胞数には明らかな回復がみられたが、雌雄の T 及び B 細胞、並びに雌で NKT 細胞の減少状態が持続していた（図 7）。また、リンパ系組織での細胞数は全体的に回復したが、リンパ節における B 及び T 細胞は軽微な減少が持続していた。CD25 及び CD69 を発現する T 細胞の割合を指標とした T 細胞の活性化が投与 1 日に観察され、投与期間終了時でも認められたが、その程度は投与 1 日より低かった。休薬期間終了時において、T 細胞の活性化はみられなかった。

図 7　マウスに muS103new を 4 週間静脈内投与したときの末梢リンパ球数の減少及び回復



BALB/c mice received daily intravenous injections of muS103new at 0.2, 1, or 5 mg/kg/day for 4 weeks, followed by a 4-week recovery period. Blood samples were collected from satellite animals for immunophenotyping of lymphocyte subsets at 4 hours post dose on day 1, day 28/29 (end of dosing period) and day 56 (end of recovery period). Lymphocyte subsets were quantified using flow cytometry. Values represent mean + SD

Source: Report 103-PCD-0075

投与期間終了後、雄のすべての muS103new 投与群及び雌の 1 mg/kg/日投与群で、溶媒対照群と比較して脾臓重量の減少が認められた。病理組織学的検査において、すべての muS103new 投与群の脾

臓（白脾髄の細胞数減少及び髄外造血）、腸間膜、下顎、左側腋窩、及び左右の鼠径リンパ節（細胞数減少あるいは胚中心の発達抑制）、並びにパイエル板（細胞数減少）に変化が認められた。器官重量及び病理組織学的検査における変化は、休薬期間終了後に回復した。

以上の結果、muS103new の 0.2、1、又は 5 mg/kg/日をマウスに 4 週間急速静脈内投与した後の忍容性は良好であった。本抗体の薬理作用から予測された通り、すべての投与群で末梢血及びリンパ系組織においてリンパ球の減少がみられた。4 週間の休薬期間終了後には部分的に回復した。

2.2.5 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下投与による 4 週間の休薬期間を含む 4 週間反復投与毒性試験

本試験は、BALB/c マウスを用い、muS103new を 1 日 2 回 4 週間皮下投与したときの全身毒性について検討すること、並びに得られた所見について、4 週間の休薬期間における回復性を検討することを目的に実施した（103-PCD-0074 試験）。

試験デザインは以下の通りとした（表 6）。

表 6 マウスにおける muS103new の皮下投与による 4 週間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0074 試験）

				Number of Animals/Sex/Group				
				Main		Satellite Animals		
Group	Treatment	Dose (mg/kg/day)	Dose (mg/kg/dose)	study	Recovery	PD	TK	IMM
1	Control [a]	0	0	12	6	9	6	6
2	muS103new	0.4	0.2	12	6	9	18	6
3	muS103new	2	1	12	6	9	18	6
4	muS103new	10	5	12	6	9	18	6

PD = Pharmacodynamic; TK = Toxicokinetics; IMM = Immunogenicity

[a] Control = Vehicle (10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% (w/v) trehalose and 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7)

雌雄の BALB/c マウスを用い、1 日 2 回、投与間隔 8 時間で muS103new の 0.4、2、又は 10 mg/kg/日（0.2、1、又は 5 mg/kg/1 回投与当たり）を 4 週間皮下投与した。

本試験では、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、TK、薬力学的評価、免疫原性、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.5 項に示す。投与 28 日において、抗 muS103new 抗体が低用量（0.4 mg/kg/日）群のサテライト動物の全例、及び高用量（10 mg/kg/日）群の 1 例に検出された。低用量群のこれらの動物では、抗 muS103new 抗体の発現がみられたものの、muS103new の曝露は維持されており、薬力学的反応が認められた。全体として、投与期間全体にわたる muS103new の継続的かつ用量に依存した曝露が認められたことから、投与期間中の毒性学的評価は妥当であったと考えられた。

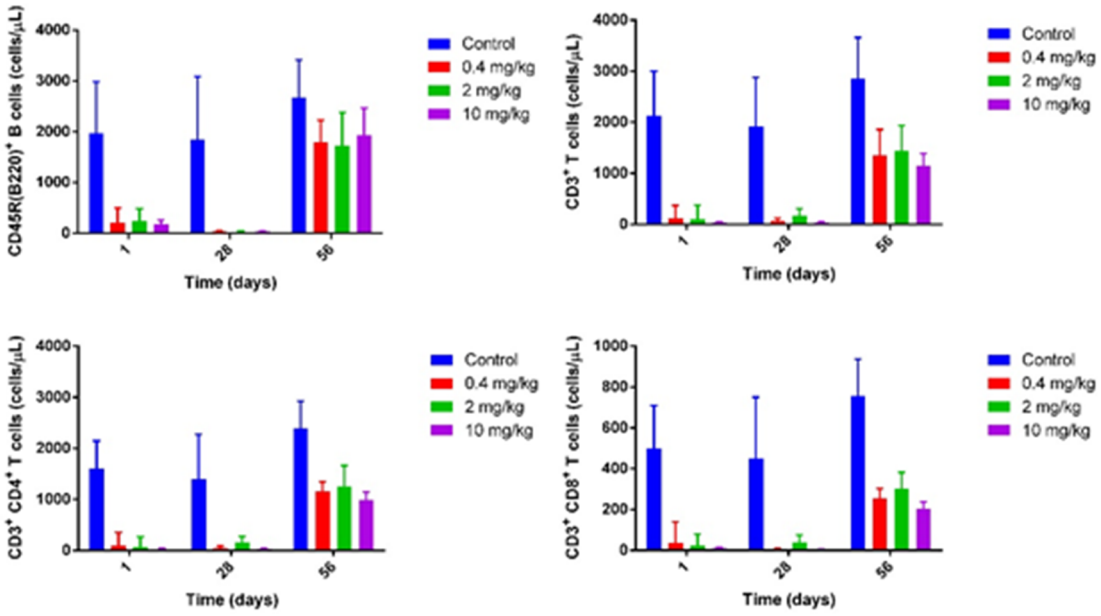
死亡及び muS103new に起因した一般状態の変化は認められず、体重増加量及び摂餌量に対する影響もみられなかった。また、眼科学的検査、血液生化学的検査及び剖検でも変化は認められなかった。

血液学的検査において、すべての muS103new 投与群の雌雄でリンパ球数の顕著な減少、総白血球数及び大型非染色細胞数の減少が認められた。また、好酸球数の軽度の増加がすべての投与群の雌

雄で認められた。4 週間の休薬期間終了時において、リンパ球数及び白血球数は部分的に回復し、好酸球数は完全に回復した。

薬力学的評価（免疫表現型分類）では、投与 1 日及び投与期間終了時において、すべての投与群の雌雄で末梢血における広汎かつ顕著な投与量に依存しないリンパ球（B、T 及び NKT 細胞）の減少が認められた。休薬期間終了後には明らかに部分的回復がみられた（図 8）。CD25 及び CD69 を発現する T 細胞の割合を指標とする T 細胞の活性化が、投与 1 日に観察され、投与終了時でも認められたが、その程度は投与 1 日より低かった。休薬期間終了時では、T 細胞の活性化はみられなかった。投与期間終了後における脾臓及びリンパ節の評価では、すべての muS103new 投与群の雌雄で対照群と比較して、B、T、及び NKT 細胞数の顕著な減少が認められた。末梢血中及びリンパ節の NKT 細胞数もおおむね減少していたが、一貫した結果ではなかった。4 週間の休薬期間終了後、末梢血及び二次リンパ組織において、リンパ球の全サブセット数の部分的な回復の兆候が認められた。

図 8　マウスに muS103new を 4 週間皮下投与したときの末梢リンパ球数の減少及び回復



BALB/c mice received twice daily subcutaneous injections of muS103new at 0.4, 2, or 10 mg/kg/day (0.2, 1, or 5 mg/kg/injection) for 4 weeks, followed by a 4-week recovery period. Blood samples were collected from satellite animals for immunophenotyping of lymphocyte subsets at 4 hours post dose on day 1, day 28/29 (end of dosing period) and day 56 (end of recovery period). Lymphocyte subsets were quantified using flow cytometry. Values represent mean + SD
Source: Report 103-PCD-0074

溶媒対照群と比較して、すべての muS103new 投与群で脾臓重量（体重比）の低値がみられ、本所見は病理組織学的検査で観察された、脾臓の細胞数減少と関連していた。

病理組織学的検査では、muS103new 投与による変化が、脾臓（髄外造血あるいは白脾髄の細胞数減少）、パイエル板（細胞数減少）、及びリンパ節（皮質／傍皮質の細胞数減少）に認められた。投与部位での皮下の炎症の発現頻度及び程度は、すべての muS103new 投与群で高かった。

4 週間の休薬期間終了後、脾臓重量及び病理組織学的検査でみられた所見は完全に回復した。

以上の結果から、マウスに muS103new の 0.2、1 及び 5 mg/kg/投与（0.4、2 及び 10 mg/kg/日）を皮下投与したときの忍容性は良好であった。すべての投与群において、末梢血及びリンパ系組織でリンパ球集団の顕著な減少がみられた。病理組織学的検査では、脾臓、パイエル板及び複数のリンパ節で細胞数減少が認められた。これらの所見は、いずれも薬理作用を介したものと考えられた。4 週間の休薬期間終了後、いずれの所見も明らかな回復兆候が認められた。

2.2.6 BALB/c マウスを用いた muS103new の 1 日 2 回の皮下投与による 4 週間の休薬期間を含む 13 週間毒性試験

本試験は、BALB/c マウスを用い、muS103new を 1 日 2 回、13 週間皮下投与したとき及びその後の 4 週間休薬後の全身毒性及び局所への影響を検討することを目的に実施した（103-PCD-0082 試験）。試験デザインは以下の通りとした（表 7）。

表 7　マウスにおける muS103new の皮下投与による 13 週間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0082 試験）

			Number of Animals/Sex/Group				
					Satellite Animals		
Group	Treatment	Dose (mg/kg/day)	Main Study	Recovery	PD/IMM	TK	IMM/TK
1	Vehicle [a]	0	12	8	18	6	-
2	muS103new	2	12	8	18	18	6
3	muS103new	10	12	8	18	18	6

PD = pharmacodynamics; TK = toxicokinetics; IMM = immunogenicity

[a] Vehicle = 10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% (w/v) trehalose and 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7

雌雄の BALB/c マウスを用い、muS103new を 1 日 2 回、投与間隔を 8 時間として 2 又は 10 mg/kg/日（1 又は 5 mg/kg/1 回投与）を 13 週間皮下投与した。

試験期間中、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、免疫原性、TK、薬力学的検査（細胞の免疫表現型分類）、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.6 項に示す。4 週間の休薬期間終了時において 10 mg/kg/日投与群の 1 例に抗 muS103new 抗体が検出された。ほかの muS103new 投与群では、試験期間を通じて抗 muS103new 抗体は検出されなかった。全体として、投与期間全体にわたる muS103new の継続的かつ用量に依存した曝露が認められたことから、投与期間中の毒性学的評価は妥当であったと考えられた。

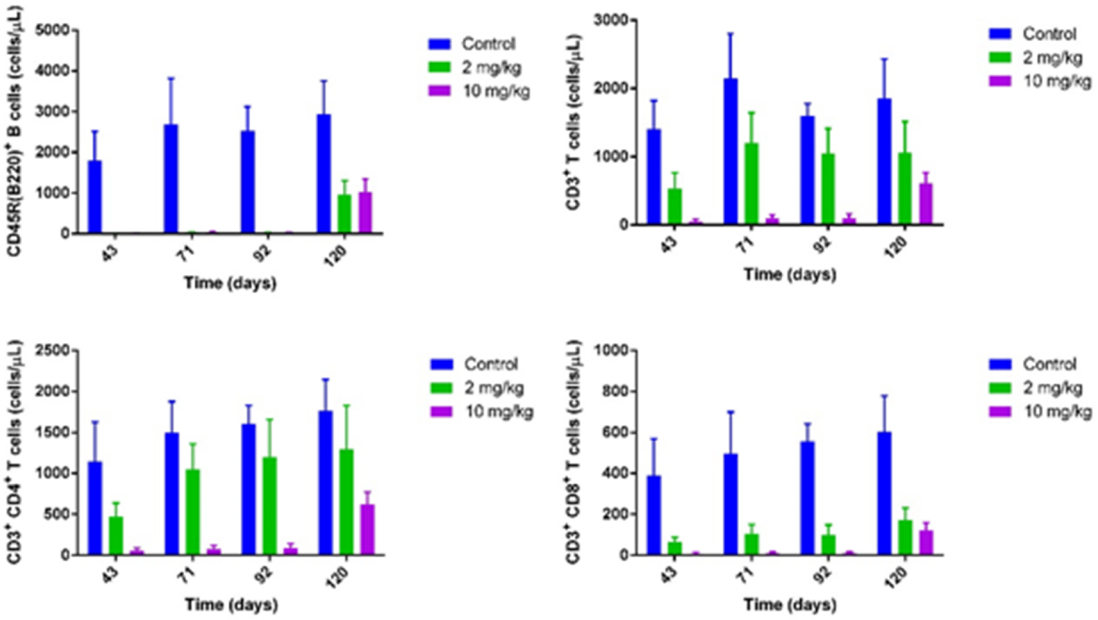
投与に関連した死亡は認められなかった。明らかな投与局所障害、一般状態変化はなく、体重増加量及び摂餌量に対する影響はみられなかった。また、眼科学的検査、剖検で異常はみられなかった。

血液学的検査において、対照群と比較してすべての muS103new 投与群の雌雄で、リンパ球数の顕著な減少、総白血球数及び大型非染色細胞数の減少が認められた。4 週間の休薬期間終了時において、明らかな回復性が認められた。投与に関連した赤血球量パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン濃度及び平均赤血球ヘ

モグロビン（MCH）の変化がみられた。休薬期間終了まで回復しなかった MCV 及び MCH を除き、他の赤血球系パラメータはすべて回復した。

免疫表現型分類では、末梢血において、muS103new の 2 又は 10 mg/kg/日投与群で、投与 43、71 及び 92 日に用量に依存しない、顕著かつ広汎性のリンパ球の減少がみられたが、休薬期間終了後に回復兆候が認められた（図 9）。これらの検査時点（投与 43、71、92 日及び休薬終了時［試験 120 日］）では、T 細胞活性化マーカーを発現した細胞の割合の増加はみられなかった。投与 72 日及び 93 日における脾臓及びリンパ節の評価では、対照群と比較して B、T、及び NKT 細胞数の顕著な減少が両用量の muS103new 投与群の雌雄で認められた。加えて、末梢血中及びリンパ節における NKT 細胞数もおおむね減少していたが、一貫性はみられなかった。4 週間の休薬期間終了後、リンパ節におけるリンパ球サブセット数に部分的な回復兆候が認められた。

図 9　マウスに muS103new を 13 週間皮下投与したときの末梢リンパ球数の減少及び回復



BALB/c mice received twice daily subcutaneous injections of muS103new at 2 or 10 mg/kg/day (1 or 5 mg/kg/injection) for 13 weeks, followed by a 4-week recovery period. Blood samples were collected from satellite animals for immunophenotyping of lymphocyte subsets at 4 hours post dose on days 43, 71, 92 (end of dosing period) and day 120 (end of recovery period). Lymphocyte subsets were quantified using flow cytometry. Values represent mean + SD

Source: Report 103-PCD-0082

対照群と比較して、脾臓重量（体重比）の減少がすべての muS103new 投与群でみられ、本所見は病理組織学的検査で認められた脾臓における白脾髄の細胞数減少及び非特異的な赤脾髄うっ血の程度の低下と関連していた。

リンパ節の病理組織学的変化に関連して、左右の鼠径リンパ節及び左腋窩リンパ節の小型化が、2 又は 10 mg/kg/日群の動物で肉眼的に認められた。病理組織学的検査では、muS103new 投与動物での変化が、脾臓（白脾髄の細胞数減少）、パイエル板（細胞数減少あるいは胚中心発達抑制）、及びリンパ節（皮質／傍皮質の細胞数減少あるいは胚中心発達抑制）に認められた。二次的な髄外造血が、muS103new の両投与群の数例でみられた。

4 週間の休薬期間後、脾臓重量並びに脾臓及びパイエル板の病理組織学的変化に回復の兆候がみられ、リンパ節では部分的な回復の兆候がみられた。

投与部位における病理組織学的検査では、皮下／皮膚の炎症の発現頻度及び程度の軽微な増加及び増大が、2 又は 10 mg/kg/日投与群の雌雄でみられた。投与部位とは異なる皮膚では、皮下の炎症の発現例数の軽微な増加が 2 又は 10 mg/kg/日投与群の雌雄でみられた。4 週間の休薬期間終了後、完全な回復が認められた。

以上の結果から、マウスに muS103new の 2 又は 10 mg/kg/日を 13 週間皮下投与したときの忍容性は良好であった。両投与群において、末梢血及びリンパ系組織でリンパ球の顕著な減少がみられた。病理組織学的検査により、脾臓、パイエル板及びほかの複数のリンパ節で細胞数の減少がみられた。いずれの所見も薬理作用を介したものと考えられた。また、いずれの変化についても、4 週間の休薬期間終了後に回復兆候を示した。

2.2.7 ラットを用いたブリナツモマブの静脈内投与による 15 日間の休薬期間を含む 14 日間反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

本試験は、ブリナツモマブを 1 日 1 回ラットに 14 日間急速静脈内投与したときの毒性及び TK を評価すること、並びに 15 日間の休薬期間終了後における所見の回復性、持続性、又は遅発的な発現について検討することを目的に実施した（103-PCD-0044 試験）。ブリナツモマブはラットにおける薬理活性を有さないため、本試験はオフターゲットの効果について検討するために実施した。

表 8 ラットにおけるブリナツモマブの静脈内投与による 15 日間の休薬期間を含む 14 日間反復投与毒性試験の群構成（103-PCD-0044 試験）

Group	Treatment	Dose (µg/kg/day)	Number of Animals/Sex/Group	
			Main Study	Recovery [b]
1	Control [a]	0	5	5
2	ブリナツモマブ	25	5	5
3	ブリナツモマブ	250	5	5

[a] Group 1 received control article diluted with sterile saline only.
[b] Animals designated for recovery underwent 15 days of recovery following 14 days of dose administration.

Crl:CD (SD)ラットを 3 群（10 例／性／群）に群分けした。ブリナツモマブの投与量は、0、25、及び 250 µg/kg/日とし、溶媒として 25 mM クエン酸、200 mM リジン塩酸塩、15%トレハロース二水和物、及び 0.1%ポリソルベート 80 の緩衝液を使用した。被験物質及び溶媒を 5 mL/kg の容量で投与した。主試験群（5 例／性／群）については投与 15 日に剖検し、回復群（5 例／性／群）については 15 日間の休薬期間終了後に剖検した。毒性の評価項目は、死亡の有無、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査とした。また、TK を評価するため、種々の時点で血液を採取した。

すべてのラットが計画屠殺時まで生存した。一般状態及び眼科学的検査では、ブリナツモマブの投与に関連した所見はみられず、体重及び摂餌量でも投与量に関連した変化は認められなかった。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.1 項に示す。

臨床病理学的検査では、投与 15 日及び休薬 15 日のいずれの時点においても、おおむね顕著な変化はみられず、投与群間で類似していた。250 µg/kg 投与群の雄で、投与 15 日にアルカリホスファターゼ（ALP）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の上昇が認められた。休薬 15 日において、ALP に対照群との差はみられなかったが、AST については 25 及び 250 µg/kg 投与群の雄各 1 例で上昇がみられた。雌では影響はみられなかった。病理組織学的検査では、骨及び肝臓において ALP の上昇の根拠となる変化は認められず、試験期間を通してみられた AST の上昇に関連すると考えられる、肝臓及び横紋筋における病理組織学的変化もみられなかったことから、ブリナツモマブの投与に起因した有害な影響とは考えなかった。

また、投与期間終了時に、250 µg/kg 投与群の雄で胸腺の絶対重量及び相対重量（対脳重量比）の減少、並びに肝臓の絶対重量及び相対重量（対体重比及び対脳重量比）の減少が認められた。25 又は 250 µg/kg 投与群の雄及び 25 µg/kg 投与群の雌で、胸腺のリンパ球の軽微な壊死が観察された。本所見は、上記 250 µg/kg 投与群の雄での胸腺重量の減少と相関していた。肝臓には重量変化に対応する病理組織学的所見はみられなかった。器官重量の変化と病理組織学的所見との間に関連がみられなかったことから、この変化は有害なものではないと判断した。

投与終了時に観察されたいずれの変化も、15 日間の休薬期間後に回復した。

以上の結果、ブリナツモマブをラットに最大 250 µg/kg で 14 日間静脈内投与した場合、毒性は認められなかった。

2.2.8 チンパンジーを用いたブリナツモマブの用量漸増試験：in vivo 及び in vitro での検討

本探索的試験は、ブリナツモマブが薬理学的に反応を示す唯一の動物種であるチンパンジーを用い、2 種類のブリナツモマブ（単量体及び二量体）について生物活性、薬物動態及び毒性を検討することを目的に実施した（103-PCD-0009 試験）。

本試験は雄のチンパンジー3 例を用いて実施した。各動物について dormosedan/ケタミンによる鎮静下において、5%ヒト血清アルブミン（HSA）を溶媒として単量体あるいは二量体のブリナツモマブ（二量体については、単量体と比較して in vitro で B リンパ球に対する細胞傷害性が 10 倍高い）を 50 mL/例の容量で 2 時間かけて持続静脈内投与した。3 例中 1 例に単量体を 0.06 µg/kg の用量で単回投与、3 例中 2 例にそれぞれ、単量体を 1 回目に 0.06 µg/kg、2 回目に 0.12 µg/kg の用量で、あるいは二量体を 1 回目に 0.003 µg/kg、2 回目に 0.006 µg/kg の用量で 2 回投与した。病理組織学的検査及び免疫染色に使用するため、投与前及び初回投与後 3 又は 10 日に、リンパ節生検検体を採取した。血液生化学的検査、尿検査、血液学的検査、免疫表現型分類、サイトカイン濃度及び免疫原性について評価した。本試験では TK 分析用検体を採取したが、分析は行わなかった。

チンパンジー1 例（ブリナツモマブの単量体を 2 回投与）を 2 回目投与後 8 日に安楽死させたが、その後の検査で重篤な滲出性の急性細菌性気管支肺炎と診断された。本例については、慢性のウイルス性間質性胸膜肺炎の既往があったこと、ブリナツモマブの投与前から B 細胞が減少していたこと、並びに持続投与中に誤嚥が生じた可能性があったことがその後明らかとなったが、ブリナツモマブの投与による B 細胞の減少及びサイトカインの放出が急性の細菌性肺炎に関与した、あるいは慢性のウイルス性肺炎を悪化させた可能性については、明らかでなかった。

単量体（0.06 µg/kg）又は二量体（0.003 µg/kg）の初回投与では、投与中又は投与直後に一過性の軽微な臨床症状が認められたが、忍容性は良好であった。投与 2 回目（単量体の 0.12 µg/kg 又は二量体の 0.006 µg/kg）では、投与を受けた 2 例において、心拍数及び血圧の変化、嘔吐及びショック症状等、多くの臨床症状を発現した。

ブリナツモマブの単量体を投与した動物で、血液中の B リンパ球数の一過性の減少が観察されたが、二量体を投与した動物ではみられなかった。3 例すべてにおいて、初回投与後に ALT、AST、及び乳酸脱水素酵素（1 例）の軽度な上昇、C 反応性タンパク（CRP）の増加が、投与 2 回目の 2 例において、CRP の増加がみられた。また、TNF-α 及び IL-6 の一過性の増加がみられたが、単量体の初回投与後の反応が二量体に比べて高かった。投与前及び投与後に採取したリンパ節については、通常の病理組織学的検査、並びに B 細胞、T 細胞、マクロファージ、及びアクセサリー細胞の免疫組織化学的染色で投与前と投与後に違いはみられなかった。鼠径リンパ節の B 及び T 細胞サブセットに対する蛍光活性化細胞選別法（FACS）を実施したが、明らかな変動は認められなかった。2 例では投与後に B 及び T 細胞サブセットのすべてで増加したが、ほかの 1 例では T 細胞数に変化はみられなかったものの、B 細胞数が投与後にわずかに減少した。

本試験では、対照群を設定しておらず、また、すべての手順でケタミンを広範かつ頻回使用したことによる交絡因子の影響が考えられたため、本試験結果の解釈は困難であった。今回の試験でみられた多くの臨床症状については、その後の安全性試験及び毒性試験で類似した変化がみられなかったことを考慮すると、本試験で使用した手技及び既往の病態に起因していた可能性が考えられた。ヒト初回投与を支持するために、チンパンジーを用いた 2 試験（103-PCD-0016 及び 103-PCD-0015 試験）を追加で実施した。

2.2.9　チンパンジーを用いたブリナツモマブの用量漸増試験

チンパンジーを用いた 2 試験目の非 GLP 条件下での用量漸増試験を、吸入麻酔を使用し投与後速やかな観察期間を設定することにより実施した（103-PCD-0016 試験）。本試験は、ブリナツモマブによって誘発される潜在的な毒性学的特徴及び重篤度を明らかにし、反復投与試験のためのブリナツモマブの忍容量を確認することを目的に実施した。

雌のチンパンジー1 例に、イソフルラン麻酔下で、2 時間持続静脈内投与を週 1 回、計 5 回行った。同一個体内での対照とするため、初回及び 5 回目の持続投与時点では 0.1% HSA を含む処方の緩衝液を投与し、2、3、及び 4 回目の持続投与では、ブリナツモマブ（単量体が 92.5%、二量体が 7.5%）を用量を漸増（各々0.06、0.10、及び 0.12 µg/kg）して投与した。検査項目として、血圧及び心拍数を含むバイタルサイン、体重、摂餌量、行動、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、薬物動態、免疫原性及び病理組織学的検査（リンパ節の生検）を実施した。

本試験及び 103-PCD-0015 試験の薬物動態の結果については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.3 項に示す。

ブリナツモマブの投与中及び投与終了直後に、用量依存的な血圧の低下が観察された。ブリナツモマブの最高用量を投与した時、平均血圧が 5 分間以上にわたって 50 mmHg 未満に低下したことから、血圧を安定させる目的で、非経口の輸液及びドパミンを投与した。血圧の低下に伴い、心拍数

は増加した。ブリナツモマブの投与に関連した心電図の変化はみられなかった。ブリナツモマブ投与中、体温の軽微な上昇が観察された。これらの変化を除き、ブリナツモマブの忍容性は良好であると考えられ、外見、行動、血液学的検査、凝固系検査項目、及び尿検査における影響は認められなかった。

ブリナツモマブの投与後 8 時間に、総ビリルビンの軽微から軽度の増加が観察された。また、投与後 24 時間に AST の軽微から軽度の上昇がみられた。これらの変化は一過性であり、次の投与前までに投与前値に回復した。わずかな CRP の上昇が、最終の溶媒投与時を除き、すべての投与時点で認められた。

ブリナツモマブの投与中、あるいは投与終了直後に、IL-6、IL-2、及び IFN-γ を含む数種のサイトカインの血清中濃度が一過性に増加した。サイトカイン濃度はブリナツモマブの初回投与時に最も高い値を示し、2 回目以降の投与での増加の割合は小さかった。可溶型 CD25（sCD25）の増加並びに T 細胞の活性化マーカーである CD69 及び MHC クラス II ヒト白血球抗原サブグループ（HLA-DR）の発現の増加がみられ、ブリナツモマブの投与により、末梢 T 細胞の活性化が誘導された。ブリナツモマブの投与後、B 細胞数は約 50%減少し、その後 4 週間の観察期間中を通じて持続した。

投与開始前及び最終の溶媒投与後に、リンパ節を生検により採取した。病理組織学的検査ではブリナツモマブに起因した変化はみられず、B 及び T 細胞マーカー（CD3、CD4、CD10、CD19、CD20、CD69）の免疫染色においても投与開始前と投与後の差は認められなかった。CD8 及び CD25 の免疫染色陽性反応は認められなかった。

これらの結果、チンパンジーにおけるブリナツモマブの薬力学的活性が本試験で確認された。また、チンパンジーを用いた反復投与試験の用量として、高用量投与群で用量限界となる血圧の低下が認められたことから、0.10 μg/kg が妥当と考えられた。

2.2.10 チンパンジーを用いたブリナツモマブの反復投与毒性試験

本試験は、チンパンジーにブリナツモマブを反復投与した時の in vivo での影響を明らかにすること、並びに本剤の投与に起因する毒性学的特徴及び重篤度を明らかにすることを目的に実施した（103-PCD-0015 試験）。

3 例のチンパンジーを用い、GLP 条件下で試験を実施した。雌雄各 1 例に、イソフルラン麻酔下でブリナツモマブ（単量体 92.5%、二量体 7.5%）の 0.10 μg/kg を週 1 回、計 5 回、2 時間持続静脈内投与した。ほかの雌 1 例は対照群とし、溶媒（0.1% HSA を含むリン酸緩衝生理食塩水）を同様に投与した。試験項目として、血圧及び心拍数を含むバイタルサイン、体重及び摂餌量測定、行動、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、薬物動態、免疫原性、並びにリンパ節の病理組織学的検査を実施した。

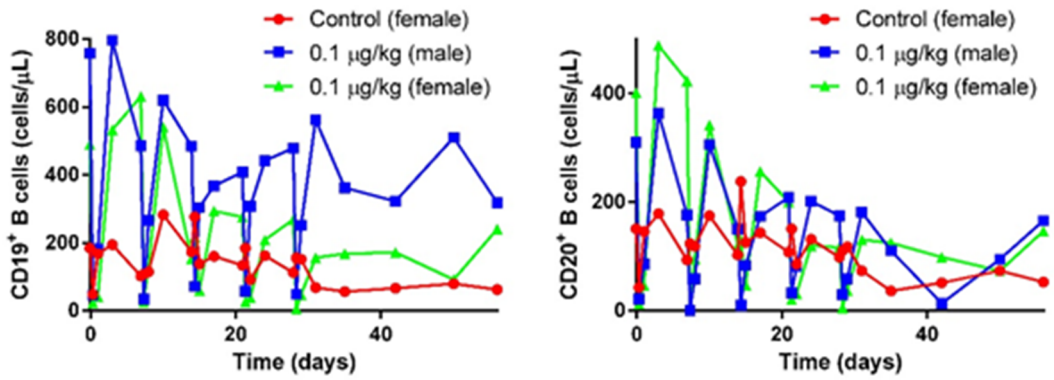
本試験及び 103-PCD-0016 試験の薬物動態の結果について、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.3 項に示す。

ブリナツモマブの本試験条件下での忍容性は良好であった。ブリナツモマブ投与群の 2 例で、血液学的検査及びフローサイトメトリー法において、各投与時点でリンパ球数の減少が認められた。

毎週 1 回の投与後において、B 細胞数が減少したが、次の投与前までに部分的に回復した。投与期間終了時までに、ブリナツモマブを投与した 2 例において B 細胞数が投与開始前値から約 50%減

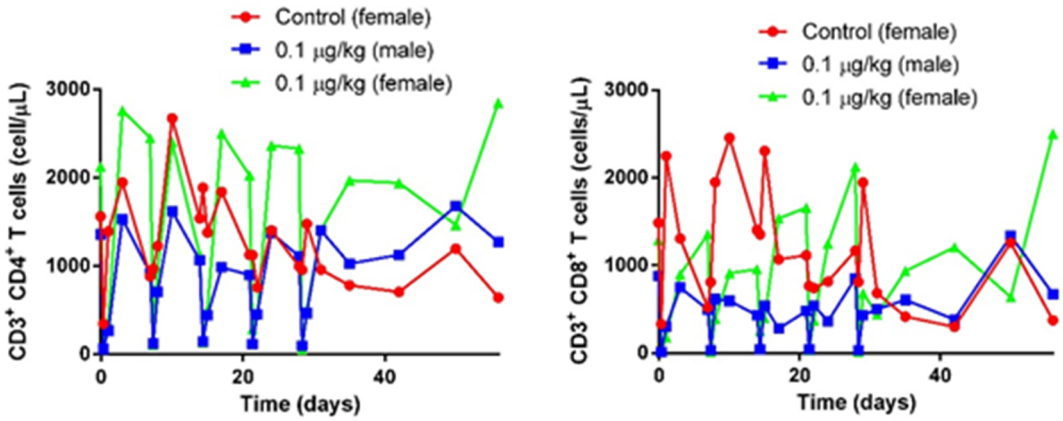
少し、この変化は投与終了後、4 週間の観察期間を通じて継続した（図 10）。対照群では、リンパ球数（血液学的検査）及び総リンパ球（フローサイトメトリー法）の減少とともに、投与前に B 細胞数は極めて低値を示し、これは試験期間中持続していた。T 細胞数については、ブリナツモマブを投与した両動物において類似した増減を示しており、ブリナツモマブの各投与時点での CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞数は投与後に急速に減少したが、次回の投与（7 日後）までに投与前値に速やかに回復した（図 11）。凝固系及び尿検査項目ではブリナツモマブの投与に関連した影響は認められなかった。ブリナツモマブを投与した両動物において総ビリルビンの軽度増加（最大 1.0 mg/dL）が投与 8 時間後に観察された。溶媒及びブリナツモマブの投与後 24 時間に CRP の増加がみられ、CRP の増加は対照群では 3～8.5 mg/dL であったのに対し、ブリナツモマブ投与群では 2.2～15.1 mg/dL であった。

図 10　チンパンジーにおけるブリナツモマブ週 1 回投与後の B 細胞数の減少



Two chimpanzees (1 male, 1 female) received 5 once weekly 2-hour intravenous infusions of blinatumomab at 0.10 µg/kg. The control received infusions of 0.1% human serum albumin. Peripheral blood lymphocytes were evaluated by flow cytometry before each dose and 8 and 24 hours after each infusion. Points represent cell counts from individual animals.
Source: Report 103-PCD-0015

図 11　チンパンジーにおけるブリナツモマブ週 1 回投与後の T 細胞数の減少

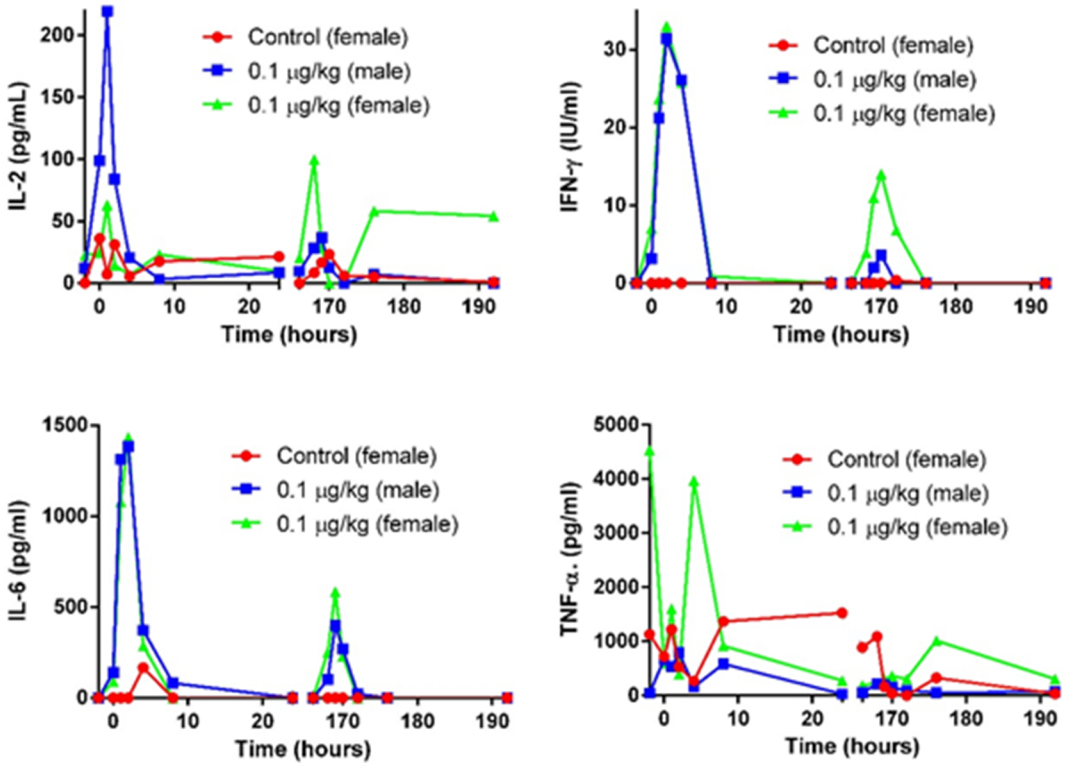


Two chimpanzees (1 male, 1 female) received 5 once weekly 2-hour intravenous infusions of blinatumomab at 0.10 µg/kg. The control received infusions of 0.1% human serum albumin. Peripheral blood lymphocytes were evaluated by flow cytometry before each dose and 8 and 24 hours after each infusion. Points represent cell counts from individual animals.
Source: Report 103-PCD-0015

ブリナツモマブを投与した雌において、投与中に平均血圧が徐々に低下した。特に、投与 4 回目におけるブリナツモマブの投与中、平均血圧が投与終了時点で 5 分間以上、40 mmHg まで低下したが、生理食塩水を非経口で投与したところ血圧は安定し、この後完全に回復した。ブリナツモマブを投与した雄の平均血圧はおおむね安定していたが、5 回目投与後の観察期間終了時で低下した。心拍数は、すべての投与時点でわずかに上昇した。ブリナツモマブの投与に関連した心電図変化はみられなかった。ブリナツモマブに起因した体温の一過性の上昇が、各投与の投与中及び投与終了直後にみられた。

ブリナツモマブの初回及び 2 回目投与後、サイトカイン（IL-6、IL-2 及び IFN-γ）の一過性の上昇がみられ、これらのサイトカインの上昇と比較して軽度ではあったが、TNF-α の上昇も認められた（図 12）。T 細胞活性化マーカー（sCD25、CD69、及び HLA-DR）も増加した。病理組織学的検査でヘマトキシリン・エオジン染色でリンパ節に異常は認められず、生検試料の免疫組織化学的染色では、対照及び試験動物ともに、投与前及び投与後で CD4 陽性、CD10 陽性、CD19 陽性、CD20 陽性及び CD69 陽性の細胞集団に変化は認められなかった。CD8 及び CD25 の免疫組織学的染色は、いずれの試料も陰性であった。

図 12　チンパンジーにおけるブリナツモマブ 2 回投与後のサイトカインの放出



Two chimpanzees (1 male, 1 female) received 5 once weekly 2-hour intravenous infusions of blinatumomab at 0.10 µg/kg. The control received infusions of 0.1% human serum albumin. Cytokine concentrations were analyzed pre-dose and at 1, 2, 4, 8 and 24 hours after each infusion by enzyme-linked immunosorbent assay. Data is shown only for the first 2 infusions as cytokine levels were very low or below the level of detection after the later infusions. Points represent values from individual animals.

Source: Report 103-PCD-0015

以上の結果から、チンパンジーにブリナツモマブの 0.10 µg/kg を週 1 回投与したとき、薬理作用（B 細胞の減少、T 細胞の活性化、及びサイトカインの産生）以外に見られた主な所見は、血圧の一過性の低下及び体温のわずかな上昇であった。

2.3 遺伝毒性

ブリナツモマブは、天然のアミノ酸のみで構成される組換えタンパクであり、無機又は有機合成リンカーあるいはほかの非タンパク質部分を含まない。このことは、ブリナツモマブがデオキシリボ核酸（DNA）、あるいはほかの染色体物質と直接反応する可能性が極めて低いことを示す。そのため、ICH ガイドライン S6「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（ICH S6 [R1], 2011）に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.4 がん原性（TK 評価を含む）

ブリナツモマブの作用機序に基づき、本剤が腫瘍の発生又は増殖を誘発する可能性は極めて低いと考えた。また、本剤は進行性がんを適応症として開発中であることから、ICH ガイドライン S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（ICH S9, 2009）に従い、がん原性試験は実施しなかった。

2.5 生殖発生毒性（用量設定試験及び TK 評価を含む）

2.5.1 マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による胚・胎児発生に関する予備試験

本予備試験は、マウスを用い母体及び胚・胎児発生に対する muS103new の毒性学的影響を予備的に評価すること、母体での免疫原性及び胎児における muS103new の血中濃度を予備的に得ること、並びに胚・胎児発生毒性試験の用量選択のための情報を得ることを目的に実施した（103-PCD-0079 試験）。

Swiss 妊娠雌マウスを用い、muS103new を 5 mg/kg の用量で器官形成期（着床から硬口蓋の閉鎖までの期間である妊娠（GD）6 日から GD15 日）の間、1 日 1 回急速静脈内投与した。母体及び胎児における muS103new の血清中濃度を測定するために、別にサテライト動物を追加して muS103new を GD6 日から GD15 日（ただし、胎児中の血清中濃度測定群は GD6 日から GD18 日）まで投与した。

試験デザインは以下の通りであった（表 9）。

表 9　マウスにおける胚・胎児発生に関する予備試験の群構成（103-PCD-0079 試験）

Group	Treatment	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals (Females)			
			Main Study	Satellite Animals		
				PD	TK [b]	IMM
1	Control [a]	0	10	12	0	0
2	muS103new	5	10	12	24	6

PD = pharmacodynamics; TK = toxicokinetics; IMM = immunogenicity

[a] Control = Vehicle (10 mM citric acid monohydrate, 75 mM L-lysine hydrochloride, 4% (w/v) trehalose, 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7)

[b] Five females were designated for dosing through GD 18 for measurement of maternal serum concentrations and fetal serum concentrations

すべての動物について、死亡の有無及び一般状態を連日観察した。体重及び摂餌量を 2～4 日間隔で記録した。GD18 日に主試験の母体を安楽死させて肉眼的検査を実施した後に子宮を摘出し、着床数、早期吸収胚及び後期吸収胚、並びに生存胎児数及び死亡胎児数を記録した。胎児を摘出後、性を確認し、体重測定を行い、口腔を含む外表異常の有無を確認した。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.7 項に示す。GD18 日に胎児への曝露が確認された。GD16 日（最終投与 24 時間後）の母体血清中に抗 muS103new 抗体は検出されなかった。

muS103new に関連した死亡はみられなかった。主試験の 6 例及びサテライト動物の 1 例で、GD12 日のみ膣の赤色分泌物が観察された（子宮摘出時において関連する所見は認められず）。GD13 日前後において、主試験の 2 例及びサテライト動物の 2 例で、自発運動の低下が投与後 3 時間（±1 時間）未満にわたってみられた。以上の所見は対照群では観察されなかったが、有害作用ではないと判断された。

主試験の妊娠動物は、muS103new 投与群及び対照群ともに 10 例中 7 例であった。母体平均体重、平均体重増加量及び平均摂餌量において、投与の影響は認められなかった。対照群と比較したとき muS103new 投与群の 7 例中 2 例で体重増加量の低値がみられ、7 例中 1 例に体重の低下がみられた。 妊娠子宮摘出後の母体体重に影響はみられなかった。

肉眼的異常はみられず、妊娠子宮重量及び着床後の胚・胎児の子宮内生存性に muS103new の投与と関連した影響は認められなかった。

胎児の性比に対する影響は認められなかったが、対照群と比較したとき、muS103new 群の雌胎児体重は、対照群と比較したとき高値であった（+6%、$p<0.05$）。胎児の外表検査では muS103new の投与に関連する所見はみられなかった。

GD6 及び GD15 日の投与 4 時間後に、muS103new 投与群でリンパ球数の有意な減少がみられた。評価対象としたすべてのリンパ球サブセット（T 細胞［ヘルパー及び細胞傷害性］、B 細胞、及び NK 細胞［GD15 日の NK 細胞以外］）に減少がみられ、マウスにおける muS103new の薬理作用と一致していた。活性化 T 細胞の割合の上昇が GD6 日にみられたが、GD15 日にはみられなかった。

これらの結果から、胚・胎児発生に関する予備試験では、母体の一般状態及び妊娠維持、及び胚・胎児発生に、muS103new の投与による影響は認められなかった。ブリナツモマブの胎盤通過を介する胎児への移行がみられた。

2.5.2 マウスを用いた muS103new の急速静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験

本試験は、マウスを用い、母体及び胚・胎児発生に対する muS103new の毒性学的影響を評価することを目的に実施した（103-PCD-0080 試験）。

妊娠 Swiss 雌マウスに、muS103new を 1 又は 5 mg/kg の用量で器官形成期（着床～硬口蓋の閉鎖［GD6 日から GD15 日］）の間、1 日 1 回急速静脈内投与した。

試験デザインは以下の通りとした（表 10）。

表 10　マウスにおける胚・胎児発生に関する試験の群構成（103-PCD-0080 試験）

			Number of Animals (Females)		
				Satellite Animals	
Group	Treatment	Dose (mg/kg/day)	Main Study	PD	TK
1	Control [a]	0	25	12	6
2	muS103new	1	25	12	18
3	muS103new	5	25	12	18

PD = pharmacodynamics; TK = toxicokinetics

[a] Control = Vehicle (10 mM citric acid monohydrate, 75 mM L-lysine hydrochloride, 4% (w/v) Trehalose, 0.03% (w/v) Tween 80, pH 7)

すべての動物について、死亡の有無及び一般状態を連日観察した。体重及び摂餌量を 2～4 日間隔で測定した。GD18 日に主試験の母体を安楽死させて肉眼的検査を実施した後に子宮を摘出し、着床数、早期吸収胚及び後期吸収胚、並びに生存胎児数及び死亡胎児数を記録した。胎児を摘出後、性を確認し、体重測定、並びに外表、内臓あるいは骨格の形態異常の有無について検討した。

本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 1.1.2.8 項に示す。

主試験の妊娠動物数は、0、1、及び 5 mg/kg 群で各々25 例中 20 例、25 例中 22 例、及び 25 例中 18 例であった（5 mg/kg 群の雌 1 例は子宮摘出予定日に分娩した）。途中死亡はみられず、muS103new の投与に関連した全身性及び局所性の一般状態変化はなく、体重、体重増加量、及び摂餌量への影響もみられなかった。妊娠子宮重量、妊娠子宮摘出後の母体体重、及び GD6 日からの体重増加量に muS103new の影響はなかった。GD18 日の帝王切開時に肉眼的異常はみられず、血液検査において薬理作用に起因したリンパ球数の減少以外に muS103new の投与に関連した影響はみられなかった。着床後の胚・胎児生存性に muS103new の投与に関連した影響はみられなかった。

胎児の性比及び平均体重に影響はみられなかった。

外表、内臓及び骨格検査では、muS103new の投与に関連した変異及び異常はみられなかった。

GD6 及び GD15 日（投与後 4 時間）において、リンパ球数の顕著な低下が両 muS103new 投与群にみられた。両採取時点において T 及び B 細胞数が減少しており、NK 細胞数については、対照群と比較し、GD6 日においてのみ両投与群で減少していた。GD6 日で T 細胞活性化マーカーの増加がみられたが、GD15 日にはみられなかった。これらの結果は、マウスにおける muS103new の薬理作用と一致していた。

これらの結果から、妊娠 Swiss マウスに muS103new の 1 又は 5 mg/kg を GD6 日から GD15 日の期間、1 日 1 回急速静脈内投与したとき、母体及び胎児発生に対して muS103new 投与の影響は認められなかった。

2.6 局所刺激性試験

2.6.1 ウサギを用いたブリナツモマブの単回静脈内、筋肉内、動脈内、静脈周囲、及び皮下投与による局所刺激性試験

本試験は、ブリナツモマブの局所刺激性を評価することを目的に実施した（103-PCD-0010 試験）。

雌雄各 3 例の Himalayan ウサギにブリナツモマブを静脈内、筋肉内、動脈内、静脈周囲及び皮下に単回投与した。ブリナツモマブはウサギにおける薬理活性を有さず、臨床適用経路は静脈内投与であるが、投与過誤時の潜在的な影響について情報を得るため、動脈内、筋肉内、静脈周囲、及び皮下の投与経路についても検討した。

ウサギにブリナツモマブを総量 2.53 µg（静脈内に 1.1 µg、動脈内に 1.1 µg、筋肉内、静脈周囲、及び皮下に各 0.11 µg）投与した。0.22 µg/mL のブリナツモマブの投与液は 5% HSA で調製し、静脈内及び動脈内投与では 5.0 mL/動物、筋肉内、静脈周囲、及び皮下投与では 0.5 mL/動物の容量で投与した。各動物の右側を対照とし、同部位に同じ投与経路及び投与容量で 0.9%生理食塩水を投与した。投与後 2 時間、24 時間、48 時間（2 日目）、96 時間（4 日目）及び 14 日後に投与部位の肉眼的検査を、投与後 48 時間（2 日目）、96 時間（4 日目）、及び 14 日目に、それぞれ 1 例／性を安楽死させ、投与部位の病理組織学的検査を行った。

検討したすべての投与経路において、ブリナツモマブの忍容性は良好であった。肉眼的検査では 1 例のブリナツモマブの静脈周囲投与部位に血腫（血塊）が投与後 2、24、及び 48 時間に認められた以外に、いずれの評価時点でも、肉眼的検査で変化はみられなかった。病理組織検査では極軽度～軽度の巣状性のリンパ球及び組織球浸潤又はごく軽度の筋細胞壊死が、筋肉内、静脈周囲、又は皮下によるブリナツモマブの投与後 48 時間あるいは 96 時間に観察されたが、14 日目までに消失した。類似した変化が生理食塩水を投与した部位にもみられた。また、極軽度から中等度の出血及び巣状性の化膿性皮膚炎が、投与後 48 時間あるいは 96 時間に、ブリナツモマブ及び 0.9%生理食塩水を投与した動物における一部の投与部位においてみられた。結果として、本試験でみられたすべての変化は、投与手技そのものに伴い発現すると考えられる組織反応と一致しており、ブリナツモマブに起因すると考えられる変化は観察されなかった。

2.7 その他の毒性試験

2.7.1 免疫原性試験

2.7.1.1 BALB/c マウスを用いた muS103new の皮下又は静脈内反復投与による免疫原性試験

本試験は、muS103new を反復静脈内及び皮下投与後の潜在的な免疫原性を評価することを目的に実施した（103-PCD-0089 試験）。

雌 BALB/c マウスを用い、muS103new の 0.05 mg/kg を 1 日 1 回 42 日間連日静脈内又は皮下投与した。リンパ球サブセット（CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞、並びに CD19 陽性 B 細胞）の分析及び免疫原性を検討するため、muS103new の投与前、並びに投与期間及び休薬期間の規定時点において血液検体を採取した。また、抗 muS103new 抗体の中和能について、抗 muS103new 抗体陽性の動物に

試験 72 から 79 日（休薬 30 日から 8 日間）まで muS103new の 0.05 mg/kg/日を再投与したときの B 細胞の減少を経時的に観察することにより検討した。

BALB/c マウスに muS103new を 1 日 1 回 42 日間連日静脈内及び皮下投与した結果、抗 muS103new 抗体及び中和抗体が産生した。抗 muS103new 抗体は、muS103new 投与 23 日に最初に検出され、静脈内投与した 5 例中 1 例及び皮下投与した 5 例中 1 例の血清中に発現した。投与 29 日では、静脈内投与群の全 5 例及び皮下投群の 5 例中 3 例が、抗 muS103new 抗体陽性を示した。投与期間の進行に伴い、抗 muS103new 抗体の抗体価の上昇がみられ、投与 43 日（休薬開始時）までに、静脈内投与群の全 5 例及び皮下投与群の 5 例中 4 例が抗 muS103new 抗体陽性を示した。また、muS103new 投与により、循環血液中の B 細胞数、CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞数の減少が、投与開始後 10 日以内に認められた。

約 4 週間の休薬により、B 細胞数、並びに CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞数の部分的な回復が観察された。休薬 30 日から 8 日間 muS103new を再投与したとき、抗 muS103new 抗体が高濃度であった個々のマウスで T 及び B 細胞の減少が部分的に抑制されたことから、muS103new の薬理効果の中和が示唆された。一方、血清中の抗 muS103new 抗体が低濃度であったマウスでは、B 及び T 細胞数は休薬期間の終了時（試験 87 日）まで継続して低下した。

これらの結果から、muS103new を BALB/c マウスに反復静脈内及び皮下投与したとき、muS103new 結合抗体の期間依存的な産生及び muS103new 中和抗体の産生が認められた。なお、マウスでは muS103new（ラット抗マウス CD3/CD19 二重特異性代替抗体）に対する強度の免疫反応のため、非臨床の有効性及び安全性を評価する試験に用いることが適当でない可能性があった。この理由から、muS103new を用いたマウスの反復投与試験を計画及び解析するに際して、muS103new に特有の免疫原性について検討した。

2.7.2　組織交差反応性試験

2.7.2.1　ヒト正常組織を用いたブリナツモマブの組織交差反応試験

本試験は、ヒトの正常組織の凍結切片を用いブリナツモマブの交差反応性を評価することを目的に実施した（103-PCD-0041 試験）。

10 及び 50 µg/mL のブリナツモマブを、ヒト正常組織の凍結切片（各組織につきドナー2 例あるいは 3 例）に添加した。

ブリナツモマブ分子のヒスチジン（HIS）タグを標的とした、間接免疫ペルオキシダーゼ法を実施した。ブリナツモマブの標的は CD19 陽性 B 細胞及び CD3 陽性 T 細胞であるため、これらの標的細胞が豊富な扁桃を陽性対照組織として用いたところ、B 及び T 細胞と判断されるリンパ球の細胞膜及び細胞質に強度から非常に強度な染色が観察され、両濃度で染色の程度及び頻度とも類似していたため、高親和性の染色であることが示唆された。また、ブリナツモマブの親抗体（抗 CD19 マウスモノクローナル抗体［HD37］及び抗 CD3 マウスモノクローナル抗体［L2K-07］）を補助的な対照として用いたところ、これら抗体はヒト扁桃の組織と結合し、B 細胞及び T 細胞と判断されるリンパ球に強度から非常に強度な染色性を示したが、ほかの組織構成要素には染色は認められなかった。また、これら親抗体のアイソタイプ対照では、扁桃のいずれの組織構成要素に対する染色も

認められなかった。これらの結果は、ブリナツモマブは予想されたB及びT細胞に結合することを示すものであった。

また、ヒトの胸腺髄質はCD3陽性あるいはCD19陽性リンパ球が豊富であることから、陽性対照としたヒト胸腺（小児ドナー）の組織においても、ブリナツモマブの明らかな結合がみられた。細胞膜及び細胞質に中等度から非常に強度の染色を示す髄質リンパ球が散発的ないし多発的にみられた。検討したブリナツモマブの両濃度で染色の程度及び頻度とも類似していたため、高親和性の染色であることが示唆された。いずれの対照物質（抗HIS又はマウス免疫グロブリンG [IgG]）においても、胸腺組織の構成要素への染色は認められなかった。ブリナツモマブの親抗体（HD37及びL2K-07）を同濃度で検討したところ、皮質及び髄質において多くみられるリンパ球に、強度から非常に強度な染色が認められた。この染色強度及び染色頻度の増強は、ブリナツモマブのCD19及びCD3に対する結合と比較して、親抗体であるHD37及びL2K-07の各々の抗原に対する結合親和性及び結合力が上回ることに起因した可能性が高いと考えられた。したがって、ヒト胸腺の組織において、ブリナツモマブは予想されたようにCD3及びCD19を発現する組織要素に染色性を示したが、ほかの組織要素に対する結合はみられなかった。

ヒト正常組織において、組織学的特性からB細胞及びT細胞と判断されたリンパ球に対しブリナツモマブの結合が認められた。これらの細胞は全般的に、扁桃、脾臓、胸腺、及びリンパ節等のリンパ系組織において多く存在していたが、ほかの組織では、血管内や間質内に少数存在するリンパ球にブリナツモマブによる染色が認められた。これは予想された結果であり、ブリナツモマブに特異的な染色であると判断された。なお、上皮、間（ライディッヒ）細胞、及び卵胞膜内層細胞等の組織要素にも染色がみられたが、これらの組織での染色のパターン、強度、及び頻度については、ブリナツモマブと抗HIS検出抗体間で同等であり、マウスIgG1の検査対照を処置した切片では、上記組織要素の染色は認められなかった。さらに、上記組織要素については、補助的な対照であるマウス親抗体による染色は認められなかった（ただし、上記の組織において染色が予想されたリンパ球についてはブリナツモマブと同様な染色様式を示した）。HD37及びL2K-07によるリンパ球染色の強度及び頻度は、おおむねブリナツモマブよりも上回っていたが、これは親抗体による各々の標的抗原に対する結合親和性及び結合強度が、両標的抗原に対するブリナツモマブの個々の結合部位によるものを上回っていたことによる可能性が高いと考えられた。これらの結果からブリナツモマブは正常ヒト組織パネルにおいてリンパ球のみに特異的に結合し、予想外の組織結合及びブリナツモマブに起因した交差反応性は認められなかったことが示された。

3. 考察及び結論

ブリナツモマブは種の選択性が高く、ヒト及びチンパンジーの CD19 及び CD3 のみを認識する。このため、非臨床における安全性の評価は 2 期に分けて実施した。先ずヒト初回投与試験を支持するため、in vitro での検討、チンパンジーを用いて評価項目を限定した試験及びイヌを用いた心血管系に対する安全性薬理試験を実施した。次に、更に安全性を評価をするため、その作用強度及び親和性においてブリナツモマブと極めて相同性の高い、ラット抗マウス CD3/CD19 二重特異性代替抗体である muS103new を作製し、これを代替抗体として、マウスを用いて毒性を評価した。

チンパンジーを用いた試験では、B 細胞の減少、一過性の血圧低下及び体温上昇、T 細胞の活性化及びサイトカインの放出が認められた。最初の試験では、ブリナツモマブの持続投与を 2 回行った 8 日後に、一般状態の悪化による安楽死 1 例が発生したが、本個体は急性細菌性肺炎に加え、慢性ウイルス性胸膜肺炎の既往があったものと結論付けた。本感染症におけるブリナツモマブの関与については不明であった。その後実施したチンパンジーにおける安全性試験では、ブリナツモマブの忍容性は良好であり、投与に起因した変化として、血圧及び体温に対する一過性の影響、並びに B 細胞数の減少がみられ、血圧低下が用量制限毒性と考えられた。血圧の低下及び体温の上昇の原因として、サイトカインの産生によって誘発された可能性が最も高いと考えられた。また、予想された薬理作用として B 細胞数の減少、T 細胞の活性化、T 細胞の再分布、及びサイトカインの放出が認められた。

代替抗体である muS103new をマウスに投与した際の影響は、予想された薬理作用に関連したもの（B 細胞の減少、T 細胞の活性化及び再分布、及びサイトカインの放出）であった。また、マウス代替抗体では、ヒトで観察された現象とは異なり、投与期間を通じて持続的な T 細胞の減少もみられた。これが代替抗体の薬理作用による違いによるか、あるいは静脈内持続投与ではなく反復急速投与を用いたことによる、投与方法の違いを反映したものかは不明であった。マウス代替抗体を用いた試験では、懸念される毒性学的所見は認められなかった。

ヒト初回投与試験に先立ち、ブリナツモマブの薬理活性を示さない動物種であるイヌを用いて心血管系に対する試験を実施したところ、投与による影響は認められなかった。呼吸系及び中枢神経系への安全性薬理学的評価については、マウスを用いて muS103new で実施したところ、muS103new に関連した影響は認められなかった。チンパンジーにブリナツモマブを反復静脈内投与したところ、サイトカインの産生によって誘発されたと考えられる一過性の血圧低下及び一過性の体温上昇が認められたが、一般状態に変化はみられなかった。臨床試験において神経学的な事象が観察されたことから、追加の非臨床安全性薬理試験として、局所的に曝露量を増加させるため muS103new をマウスの側脳室に直接持続注入したが、神経学的な影響は認められず、muS103new を用いたいずれの一般毒性試験及びブリナツモマブを用いたチンパンジーの試験においても、神経学的な影響は認められなかった。

マウス代替抗体である muS103new はラットに由来する抗体であるため、マウスでは高い免疫原性が発現し、免疫原性を評価するために独立して実施した試験では、muS103new を投与したマウスで薬理作用の低下がみられた。しかし、muS103new を用いた毒性試験では、曝露量あるいは薬力学的評価のいずれに対しても免疫原性による機能的な影響は認められなかった。これは投与量に依存し

たものと考えられ、免疫原性試験におけるマウスへの投与量は 0.05 mg/kg/日であったのに対し、毒性試験で用いた投与量は 0.2～10 mg/kg/日であり、免疫原性試験よりも 4～200 倍高かった。

包括的な毒性試験の成績は、主に代替分子の投与に由来するため、ブリナツモマブの安全性マージンを算出することはできなかった。muS103new を用いた試験成績は、本分子の作用に関連した潜在的な有害作用を検討する上で有用であるものの、ブリナツモマブの臨床用量と関連付けることはできなかった。マウスにおいて最大の薬理作用を示す用量、あるいはそれを上回る用量で muS103new を最長 13 週間反復投与した結果、予測外の標的臓器毒性は観察されなかった。

以上、ブリナツモマブ及びその代替分子による毒性学的プロファイルから、これらの分子の忍容性は良好であり、望ましい薬理作用が得られ、薬理作用に関連した全身的な影響を生じないことが確認された。

4. 参考文献

ICH Harmonized Tripartite Guideline.S6 (R1): Preclinical Safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals (Step 4), 2011. http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html

ICH Harmonized Tripartite Guideline.S9:Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals (Step 4), 2009. http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html

ブリナツモマブは MT103、MEDI-538 又は AMG 103 とも称される。muS103new はブリナツモマブのマウス代替抗体である。別の代替抗体として muS103 があるが、本抗体の CD3 及び CD19 への結合親和性はブリナツモマブの結合親和性と同程度ではなかったことから、検討対象としなかった。

表 1A　毒性試験：一覧表
被験物質：muS103new

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No.
Surrogate Molecule							
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	IV bolus, SC, IP	3 days	muS103new: IV: 0, 0.25 IP: 0.5 SC:1.25 muS103: IV: 0.25	Non-GLP	Micromet GmbH, Munich, Germany	103-PCD-0091
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	IV bolus, SC	5 days	muS103new: IV: 0, 2.04, 10.2, SC: 0, 0.05, 10.2	Non-GLP	Amgen Research (Munich) GmbH, Munich, Germany	103-PCD-0092
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	IV bolus, SC	2 weeks	muS103new: SC: 0, 2, 5, twice a day IV:0, 1, 5	Non-GLP	[redacted], UK	103-PCD-0070
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	IV bolus	4 weeks	muS103new: 0, 0.2, 1, 5	GLP	[redacted], UK	103-PCD-0075
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	SC	4 weeks	muS103new: 0, 0.2, 1, 5 twice a day	GLP	[redacted], UK	103-PCD-0074
Repeat-dose Toxicity	mouse BALB/c	SC	13 weeks	muS103new: 0, 1, 5 twice a day	GLP	[redacted], UK	103-PCD-0082

表 1A　毒性試験：一覧表（続き）
被験物質：muS103new

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No.
Surrogate Molecule (continued)							
Embryo-fetal Development	mouse/ Swiss: Rj/Orl	IV bolus	10-13 days	muS103new: 5	Non-GLP	[redacted], France	103-PCD-0079
Embryo-fetal Development	mouse/ Swiss: Rj/Orl	IV bolus	10 days	muS103new: 1, 5	GLP	[redacted], France	103-PCD-0080
Other Toxicity– Immunogenicity	Mouse/BALB/c	IV bolus or SC	42 days + 8 days re-exposure	0.05	Non-GLP	Amgen Research (GmbH) Munich, Germany	103-PCD-0089

[a] Unless otherwise specified.

表 1B　毒性試験：一覧表
被験物質：ブリナツモマブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No.
Blinatumomab/Irrelevant Species							
Repeat-dose Toxicity	rat Crl:CD (SD)	IV bolus	14 days	0, 25, 250	GLP	[redacted], USA	103-PCD-0044
Local Tolerance	rabbit/ himalayan	IV, IM, IA, PV, SC	Single dose for each route	IV and IA = 1.1 µg each IA, PV, SC = 0.11 µg each	GLP	[redacted], Germany	103-PCD-0010
Blinatumomab/Relevant Species							
Repeat-dose Toxicity	chimpanzee	IV infusion	Dose escalation 2 administrations 2 days apart	Dimer: 0.003, 0.006 µg/kg Monomer: 0.06, 0.12 µg/kg	Non-GLP	[redacted], The Netherlands	103-PCD-0009
Repeat-dose Toxicity	chimpanzee	IV infusion	Dose escalation 5 weekly administrations	0 (2 times, first and last dosing), 0.06, 0.10, 0.12 µg/kg	Non-GLP	[redacted], USA	103-PCD-0016
Repeat-dose Toxicity	chimpanzee	IV infusion	5 weekly administration	0, 0.1 (5 times) µg/kg	GLP	[redacted], USA	103-PCD-0015
Other Studies – Tissue Cross-reactivity	human tissue panel	in vitro	NA	0, 10, 50 µg/mL	GLP	[redacted], USA	103-PCD-0041

[a] Unless otherwise specified.

表 2　トキシコキネティクス試験一覧表
被験物質：ブリナツモマブ及び muS103new

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Amgen Study No.
Surrogate Molecule					
Repeat-dose Toxicity	Mouse/BALB/c	SC	0, 0.4, 2, 2 x 5	Yes	103-PCD-0074
Repeat-dose Toxicity	Mouse/BALB/c	IV bolus	0, 0.2, 1, 5	Yes	103-PCD-0075
Repeat-dose Toxicity	Mouse/BALB/c	SC	0, 2, 2 x 5	Yes	103-PCD-0082
Embryo-fetal Development	Mouse (Swiss: Rj/Orl)	IV bolus	5	No	103-PCD-0079
Embryo-fetal Development	Mouse (Swiss: Rj/Orl)	IV bolus	1, 5	Yes	103-PCD-0080
Other –Immunogenicity	Mouse/BALB/c	IV and SC	0.05	No	103-PCD-0089
Blinatumomab/Irrelevant Species					
Repeat-dose Toxicity	Rat Crl:CD (SD)	IV bolus	0, 25, 250 µg/kg	Yes	103-PCD-0044
Blinatumomab/Relevant Species					
Repeat-dose Toxicity	Chimpanzee	IV infusion	0, 0.06, 0.10, 0.12 µg/kg	No	103-PCD-0016
Repeat-dose Toxicity	Chimpanzee	IV infusion	0, 0.1 µg/kg	Yes	103-PCD-0015

[a] Unless otherwise specified.

表 3A　トキシコキネティクス試験一覧
被験物質：muS103new

Species (Strain)	Dose (mg/kg)	Route	Day	$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)	
				M	F	M	F
Surrogate Molecule							
Mouse (BALB/c)[a]	0.2	IV bolus	1	2150	1860	2340	2140
			28	2300	2730	557	1029
	1	IV bolus	1	8010	10600	6636	12133
			28	4260	7950	1493	4110
	5	IV bolus	1	59200	63400	62158	71888
			28	21700	24100	8604	6053
Mouse (BALB/c)[b]	0.4	SC	1	464	246	166	59
			28	2950	591	664	367
	2	SC	1	2840	2850	710	981
			28	3280	3750	1130	1390
	10	SC	1	17600	11700	5320	4390
			28	9570	9220	2770	2450
Mouse (BALB/c)[c]	2	SC	1	1340	1180	388	378
			92	1600	1700	304	398
	10	SC	1	10900	10400	2760	2400
			92	12600	13200	2770	3010

Footnotes are on the last page of this table

表 3A　トキシコキネティクス試験一覧（続き）
被験物質：muS103new

Species (Strain)	Dose (mg/kg)	Route	Day	$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·h/mL) F	C_{max} (ng/mL) F
Surrogate Molecule (continued)					
Mouse (Swiss: Rj/Orl)[d]	5	IV bolus	6	30648	50988
			15	48822	83823
Mouse (Swiss: Rj/Orl)[e]	1	IV bolus	6	4590	6909
			15	6610	8696
	5	IV bolus	6	28000	42002
			15	38500	42874

Footnotes are on the last page of this table

表 3A　トキシコキネティクス試験一覧（続き）
被験物質：muS103new

Species (Strain)	Dose (mg/kg)	Route	Day	AUC_{0-2hr} (ng·h/mL) M	C_{max} (ng/mL) M
Surrogate Molecule (continued)					
Mouse (BALB/c)[f]	0.2	IV bolus	1	1040	2695
			5	990	1438
	1	IV bolus	1	8350	18083
			5	7030	12766
	5	IV bolus	1	47800	122998
			5	39200	69382

AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve during the time interval; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

[a] Study 103-PCD-0075, repeat-dose toxicity

[b] Study 103-PCD-0074, repeat-dose toxicity

[c] Study 103-PCD-0082, repeat-dose toxicity

[d] Study 103-PCD-0079, embryo-fetal development.

[e] Study 103-PCD-0080, embryo-fetal development.

[f] Study 103-PCD-0078, safety pharmacology.

表 3B　トキシコキネティクス試験一覧表
被験物質：ブリナツモマブ

Species (Strain)	Dose (µg/kg)	Route	Day	$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·h/mL) M	$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·h/mL) F	C_{max} (ng/mL) M	C_{max} (ng/mL) F
Blinatumomab/Irrelevant Species							
Rat (Crl:CD[SD])[a]	25	IV bolus	1	ND	ND	320	376
			14	ND	ND	399	401
	250	IV bolus	1	ND	ND	3018	3192
			14	ND	ND	3513	3441
Blinatumomab/Relevant Species							
Chimpanzee[b]	0.06	IV infusion	7	ND	1.632	ND	0.424
	0.1	IV infusion	14	ND	2.360	ND	0.718
	0.12	IV infusion	21	ND	2.543	ND	0.750
	0.1	IV infusion	0	2.933	5.109	0.887	1.360

$AUC_{0\text{-}t}$ = area under the concentration-time curve during the time interval; ND = not determined; IV = intravenous.

[a] Study 103-PCD-0044, repeat-dose toxicity.

[b] Studies 103-PCD-0016 and 103-PCD-0015, repeat-dose toxicity

表 4　毒性試験：原薬／製剤
被験物質：ブリナツモマブ及び muS103new

Lot #	Purity (%)	Placebo Lot #	Amgen Study No. (CRO Study No.)	Type of Study
Surrogate Molecules				
[redacted]	99.5	[redacted]	103-PCD-0070	repeat-dose toxicity
[redacted]	98.8	[redacted]	103-PCD-0074	repeat-dose toxicity
[redacted]	98.8	[redacted]	103-PCD-0075	repeat-dose toxicity
[redacted]	98.8	[redacted]	103-PCD-0079	embryo-fetal development
[redacted]	99.0	[redacted]	103-PCD-0080	embryo-fetal development
[redacted]	99.8	[redacted]	103-PCD-0082	repeat-dose toxicity
[redacted]	approx. 99	NA	103-PCD-0091	repeat-dose toxicity
[redacted]	approx. 99	NA	103-PCD-0092	repeat-dose toxicity
[redacted]	99.4	[redacted]	103-PCD-0103	safety pharmacology
[redacted]	[a]	NA	103-PCD-0089	Other - immunogenicity
Blinatumomab/Irrelevant Species				
[redacted]	Not reported[a]	[redacted]	103-PCD-0010	local tolerance
[redacted]	99.1	[redacted]	103-PCD-0044	repeat-dose toxicity

NA = not applicable.

[a] purity data not available

表 4　毒性試験：原薬／製剤（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Lot #	Purity (%)	Placebo Lot #	Amgen Study No. (CRO Study No.)	Type of Study
Blinatumomab/Relevant Species				
[redacted]	90 (monomer) 88 (dimer)	None	103-PCD-0009	repeat-dose toxicity
[redacted]	92.5 (monomer) 7.5 (dimer)	[redacted]	103-PCD-0015	repeat-dose toxicity
[redacted]	92.5 (monomer) 7.5 (dimer)	[redacted]	103-PCD-0016	repeat-dose toxicity
[redacted]	100	None	103-PCD-0041	other studies – tissue cross-reactivity

NA = not applicable.

[a] purity data not available

表 5　単回投与毒性試験
被験物質：ブリナツモマブ

Single-dose toxicity studies using blinatumomab to support this application were not conducted.

表 6A　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験
被験物質：muS103new

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Mouse/ BALB/c	IV bolus, SC, IP (muS103new: 25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 5% glycerol, pH 7 muS103: 10 mM citrate, 75 mM lysine HCl, 0.03% Tween 80, 4% trehalose dihydrate, pH 7)	Daily, 3 days	muS103new: IV: 0, 0.25, IP: 0.5, SC: 1.25 muS103: IV: 0.25	21F	NA	muS103new: B and T cells were decreased similarly after injection by all 3 routes of administration. Maximum reductions were between 2 and 8 hours for B cells and 4 and 8 hours for T cells. Transient cytokine induction was observed for IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, GM-CSF, TNF and IFN-ɣ and was most pronounced after the first injection for most of the cytokines. Results were similar to those observed with muS103, a predecessor construct of muS103new.	103-PCD-0091 (Non-GLP)
Mouse/ BALB/c	IV bolus, SC (25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 5% glycerol, pH 7)	Daily, 5 days[a]	muS103new: IV: 0, 2.04, 10.2 SC: 0, 0.05, 10.2	20F	NA	Lymphocyte populations were depleted in peripheral blood, lymphoid tissues (spleen, bone marrow), liver and lung. This was evident in all IV and SC dose groups except SC at 0.05 mg/kg, where there was no effect on B cells in the lungs. Remaining T cells in the spleen, lung, and liver showed an up-regulation of activation markers. Transient elevation in serum cytokine concentrations were observed after the first dose and, to a minor extent, after the following two doses. Increased spleen weights were observed after the 4th administration and returned to baseline following a three-day recovery period.	103-PCD-0092 (Non-GLP)
Mouse/ BALB/c	IV bolus, SC (10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80, pH 7)	Daily, 14 days[b]	muS103new: SC: 0, 2, 10 IV:0, 1, 5	6M, 6F[c]	NA	Lymphocyte populations were markedly depleted in peripheral blood and lymphoid tissues by both IV and SC routes. Mildly increased eosinophils at 2 and 10 mg/kg SC.	103-PCD-0070 (Non-GLP)

F = female; GLP = Good Laboratory Practices; IMM = immunogenicity; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no observable adverse effect level; PD = pharmacodynamics; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics.

[a] 5/sex/group were euthanized 1 hour and 24 hours after first dose, 24 hours after 4th dose, and 72 hours after last dose.

[b] Doses for the SC route were administered twice daily for a total dose of 0, 2, or 10 mg/kg/day.

[c] Additional groups treated in the same manner were included as follows: PD: 6M, 6F/group; TK: 3M, 3F at 2 mg/kg SC and 5 mg/kg IV, 18M, 18F at 10 mg/kg SC and 1 mg/kg IV; IMM = 5M, 5F at 10 mg/kg SC and 1 mg/kg IV.

表 6B　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験
被験物質：ブリナツモマブ

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (µg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat Crl:CD (Sprague-Dawley)	IV bolus (25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 15% trehalose dihydrate, 0.1% Polysorbate 80, pH 7.0)	Daily, 14 days followed by a 15-day recovery period	0, 25, 250	Dosing 5M, 5F Recovery 5M, 5F	250	Blinatumomab is not pharmacologically active in rats and this study was conducted to assess potential off-target effects. 25 µg/kg: Increased minimal necrosis of thymic lymphocytes. 250 µg/kg: Decreased absolute and relative thymus and liver weights in males. Decreased thymus weights correlated with lymphocyte necrosis of the thymus. Increased minimal necrosis of thymic lymphocytes was in males only at this dose. All changes reversed following the 15-day recovery.	103-PCD-0044 (GLP)
Chimpanzee/ Pan troglodytes	IV infusion (Dulbecco's phosphate buffered saline, 0.1% HSA)	Dose escalation 2 hour infusion with a 1 day washout period between doses	Monomer: 0.06 (to 2M), 0.12 (to 1M) Dimer: 0.003, 0.006 (to 1M)	3M total	NA	1 animal (monomer: 0.06 and 0.12 µg/kg) was euthanized after 8 days of the second dose and was subsequently diagnosed with exudative acute bacterial bronchopneumonia. Investigation determined that this animal had low B cells before treatment and a pre-existing chronic viral pleuropneumonia. The first doses of monomer (0.06 µg/kg) or dimer (0.003 µg/kg) were well-tolerated, with transient, minor clinical observations during or immediately after the infusion. The two animals that received a second dose (0.12 µg/kg monomer or 0.006 µg/kg dimer) exhibited numerous clinical signs, including changes in heart rate and blood pressure, vomiting, and shock. Transient decreases in B cells were observed in blood of the animals treated with blinatumomab monomer but not in the animal treated with dimer. All 3 animals had mild increases in ALT, AST and LDH (one animal) after the first dose and increases in CRP after the first dose and in 2 animals after the second dose. The cytokines TNFα and IL-6 were transiently increased and responses were higher after the first dose of monomer.	103-PCD-0009 (Non-GLP)

ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; CRP = C - reactive protein; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; HSA = human serum albumin; IV = intravenous; LDH = lactate dehydrogenase; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no observable adverse effect level.

表 6B　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験
被験物質：ブリナツモマブ

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Chimpanzee/ Pan troglodytes	IV infusion (isotonic phosphate buffer solution with, 0.1% HSA)	Dose escalation weekly 2 hour infusion followed by a 4 week recovery period	0 (2 times, first and last dosing), 0.06, 0.10, and 0.12	Single F received all doses	NA	Decreased blood pressure was observed during and immediately following treatment with blinatumomab and the effect appeared to be dose dependent. At the highest dose of blinatumomab, mean blood pressure decreased and parenteral fluids and dopamine were administered to stabilize blood pressure. A slight increase in body temperature was observed during blinatumomab treatments. Otherwise, blinatumomab was well tolerated. Minimal to mild increases in total bilirubin were observed 8 hours after blinatumomab dosing. Minimal to mild increases in AST were observed 24 hours post dosing. These changes were transient and returned to baseline before the next dose. A slight increase in CRP was observed after each infusion except for the last control infusion.	103-PCD-0016 (Non-GLP)
Chimpanzee/ Pan troglodytes	IV infusion (with isotonic phosphate buffer solution, 0.1% HSA)	Dose escalation weekly 2 hour infusion followed by a 4 week recovery period	0 (2 times, first and last dosing), 0.06, 0.10, and 0.12	Single F received all doses	NA	During and immediately following blinatumomab treatments, transient increases in serum levels of several cytokines, including IL-6, IL-2, and IFN-γ were observed. The highest cytokine levels were detected following the first blinatumomab dose, with smaller rises following subsequent doses. Blinatumomab administration induced activation of peripheral T cells, as shown by increases in sCD25 and expression of the activation markers CD69 and HLA-DR. B cells were depleted by approximately 50% following blinatumomab treatment, and this depletion was sustained throughout the subsequent 4-week post-treatment monitoring period.	103-PCD-0016 (Non-GLP)

ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; CRP = C - reactive protein; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; HSA = human serum albumin; IV = intravenous; LDH = lactate dehydrogenase; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no observable adverse effect level.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity	Report Title: muS103new: Toxicity Study by Intravenous (bolus) Administration to Balb/c Mice for 4 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period	Test Article: muS103new (murine surrogate) (lot # [redacted])
Species/Strain: Mouse/ BALB/c	Duration of Dosing: 4 weeks	Amgen Study No. 103-PCD-0075
Initial Age: 63 to 69 days	Duration of Postdose: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: IV bolus	
	Vehicle/Formulation: 10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80, pH 7	GLP Compliance: Yes
Special Features: Immunogenicity, Immunophenotyping of lymphocytes (blood, spleen, and lymph nodes)		
No Observed Adverse Effect Level: Not Applicable		

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.2		1		5	
Number of Animals [a]	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Toxicokinetics: $AUC_{(0-8)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	[b]	[b]	2150	1860	8010	10600	59200	63400
Day 28	[b]	[b]	2300	2730	4260	7950	21700	24100
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	[b]	[b]	2340	2140	6636	12133	62158	71888
Day 28	[b]	[b]	557	1029	1493	4110	8604	6053
Anti-muS103new binding antibodies (n/N)	0/6	0/6	6/6	6/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Died or Euthanized Moribund	1/39	0/39	0/51	1/51	0/51	0/51	0/51	1/51

Sham-treated saline control group was not included into table, as muS103new-treated animals were only compared to vehicle control group.

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0075
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.2		1		5	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Noteworthy Findings								
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [c]								
White Blood Cells (x10^9/L)	3.82	3.46	↓70**	↓67**	↓74**	↓74**	↓65**	↓72**
Lymphocytes (x10^9/L)	2.77	2.78	↓86**	↓85**	↓90**	↓88**	↓90**	↓90**
Large Unstained Cells (x10^9/L)	0.03	0.01	↓100**	↓100*	↓100**	↓100*	↓100**	↓100**
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping [c]								
Peripheral lymphocytes (cells/μL, %)								
Total T Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	1962	1997	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**	↓100**
Day 28 (4 hr)	1949	2234	↓98**	↓98**	↓95**	↓87**	↓100**	↓99**
Total B Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	1945	1648	↓89**	↓93**	↓91**	↓89**	↓88**	↓94**
Day 28 (4 hr)	2189	2143	↓98**	↓93**	↓99**	↓96**	↓91**	↓93**
CD4 T Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	1570	1453	↓99**	↓100**	↓100**	↓100**	↓99**	↓100**
Day 28 (4 hr)	1234	1921	↓98**	↓98**	↓94**	↓89**	↓100**	↓99**
CD8 T Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	550	534	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**
Day 28 (4 hr)	449	663	↓99**	↓99**	↓97**	↓95**	↓100**	↓100**
NK Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	274	247	↓70**	↓82**	↓74**	↓81**	↓76**	↓89**
Day 28 (4 hr)	278	243	↓36*	↓25	↓39*	↓11	↓29*	↓50**
NKT Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	67	41	↓66**	↓78**	↓78**	↓68**	↓69**	↓80**
Day 28 (4 hr)	35	45	↓89**	↓80*	↓89**	↓62*	↓94**	↓89**

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0075
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.2		1		5	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Spleen, Day 29 (cells/spleen [d], %)								
Total T Lymphocytes	9 x 10^6	11 x 10^6	↓94**	↓86**	↓85**	↓83**	↓98**	↓96**
Total B Lymphocytes	10 x 10^6	12 x 10^6	↓94**	↓57	↓92**	↓97**	↓72**	↓83**
NK Lymphocytes	0.9 x 10^6	1.3 x 10^6	↑2	↑57	↑38	↓11	↑25	↑24
NKT Lymphocytes	0.2 x 10^6	0.2 x 10^6	↓84**	↓70*	↓74**	↓73**	↓94**	↓86**
Lymph Nodes, Day 29 (cells/g, %)								
Total T Lymphocytes	212 x 10^6	305 x 10^6	↓100**	↓100**	↓99**	↓95**	↓100**	↓100**
Total B Lymphocytes	37 x 10^6	34 x 10^6	↓99**	↓100*	↓99**	↓96*	↓99**	↓98*
NK Lymphocytes	2.2 x 10^6	2.2 x 10^6	↓95**	↓99**	↓80**	↓47	↓74**	↓79**
NKT Lymphocytes	3.1 x 10^6	1.7 x 10^6	↓81*	↓98**	↓84*	↓87**	↓73*	↓96**
Terminal Procedures, Week 4, Number Evaluated	12	12	12	12	12	12	12	12
Organ Weights								
Spleen (g, %) [c, e]	0.086 g	0.076 g	↓36.0**	↓1.3	↓44.2**	↓34.2**	↓34.9**	↓7.9
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [f]								
Spleen								
White Pulp – Decreased Cellularity								
Minimal	0	0	9	4	3	3	0	4
Slight	0	0	0	5	7	8	8	1
Moderate	0	0	1	0	0	1	3	0
Extramedullary Haemopoiesis								
Minimal	6	4	11	7	3	6	7	7
Slight	1	0	0	0	6	0	4	2
Peyer’s Patches (GALT)								
Decreased Cellularity, generalized								
Minimal	0	0	6	1	2	0	0	1
Slight	0	0	1	3	8	5	10	8
Moderate	0	0	0	1	1	5	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0075
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.2		1		5	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Terminal Procedures, Week 4, Number	12	12	12	12	12	12	12	12
Evaluated								
Histopathology [f]								
Mesenteric Lymph nodes								
Decreased Germinal Center Development	0	0	11	11	12	12	12	12
Present								
Decreased Cellularity, Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	0	2	1	0	1	5
Slight	0	0	0	3	11	12	10	7
Mandibular Lymph nodes								
Decreased Germinal Center Development	0	0	11	12	11	11	10	12
Present								
Decreased Cellularity, Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	1	2	0	0	0	1
Slight	0	0	8	10	9	10	11	11
Moderate	0	0	0	0	3	2	1	0
Axillary Lymph nodes								
Decreased Cellularity, Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	4	2	2	0	0	5
Slight	0	0	7	8	5	7	11	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Left Inguinal Lymph Nodes								
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity								
Minimal	0	0	2	1	3	0	0	4
Slight	0	0	2	7	6	11	10	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Right Inguinal Lymph Nodes								
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	1	0	1	0	0	5
Slight	0	0	3	8	6	11	9	6

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity							Amgen Study No. 103-PCD-0075	
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.2		1		5	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery) , Week 8, Number Evaluated	5	6	6	6	6	6	6	6
Hematology [c]								
White Blood Cells (x10^9/L)	2.50	2.15	↓12	↑30	↑68**	↑47	↑59**	↑17
Lymphocytes (x10^9/L)	1.74	1.70	↓34	↑12	↑52**	↑29	↑54**	0
Large Unstained Cells (x10^9/L)	0.01	0.01	↓90	0	↑100**	0	↑100**	↓100
Immunophenotyping [c]								
Peripheral lymphocytes, Day 56, (cells/μL, %)								
Total T Lymphocytes	2240	2708	↓54**	↓47**	↓66**	↓64**	↓53**	↓61**
Total B Lymphocytes	4187	1806	↓58**	↓24*	↓71**	↓54*	↓56**	↓37**
CD4 T Lymphocytes	1681	2070	↓46**	↓44**	↓62**	↓65**	↓47**	↓56**
CD8 T Lymphocytes	650	631	↓61**	↓52**	↓74**	↓77**	↓63**	↓65**
NKT Lymphocytes	47	93	↓30	↓42*	↓45	↓69**	↓70	↓61**
Spleen, Day 57 (cells/spleen [d], %)								
NK Lymphocytes	0.8 x10^6	1.3 x10^6	↑31	↑1	↑69	↑21	↑67	↑78*
Lymph Nodes, Day 57 (cells/g, %)								
NKT Lymphocytes	1 x10^6	1.9 x10^6	↓50	↓81*	↑8	↓35*	↓42	↓72*
Terminal Procedures, Recovery, Number Evaluated	5	6	6	6	6	6	6	6
Organ Weights								
Spleen (g, %) [c, e]	0.075	0.084	↓26.7*	↓22.6**	↓29.3*	↓13.1**	↓36.0*	↓23.8**

[a] 12/sex/group were euthanized at the end of dosing and remaining 6/sex/group were euthanized after recovery. Satellite groups were treated in a similar manner and consisted of 9/sex/group for pharmacodynamic evaluations, 6/sex/group for immunogenicity evaluations, and 18/sex/group (6/sex/group for controls) for toxicokinetic evaluations.

[b] All samples taken from the control animals were below the lower limit of detection (<0.1 ng/mL).

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Cells/spleen were calculated using the percentages of each cell type from the flow cytometry data and the cell counts obtained during spleen preparation.

[e] Organ weights were adjusted for terminal bodyweight, using the weight recorded before necropsy.

[f] Incidence is presented.

$AUC_{(0-8)}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from 0 to 8 hours; C_{max} = maximum drug concentration measured; GALT = Gut-Associated Lymphoid Tissue.; M = male; F = female; NKT = natural killer T-cell; - No noteworthy findings. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett's test, Shirley's test or Steel's test.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity	Report Title: muS103new: Toxicity Study by Subcutaneous Administration to BALB/c Mice for 4 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period	Test Article: muS103new (murine surrogate) (lot # [redacted])
Species/Strain: Mouse/ BALB/c	Duration of Dosing: 4 weeks	Amgen Study No. 103-PCD-0074
Initial Age: 62 to 90 days	Duration of Postdose: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: SC (twice daily, 8-hour interval)	
	Vehicle/Formulation: 10 mM citrate, 75 mM lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80, pH 7	GLP Compliance: Yes

Special Features: Immunogenicity, Immunophenotyping of lymphocytes (blood, spleen, and lymph nodes)
No Observed Adverse Effect Level: Not Applicable

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals [a]	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Toxicokinetics: $AUC_{(0-8)}$ (ng·h/mL)								
Day 1 (after first daily dose)	[b]	[b]	464	246	2840	2850	17600	11700
Day 28 (after second daily dose)	[b]	[b]	2950	591	3280	3750	9570	9220
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1 (after first daily dose)	[b]	[b]	166	59.1	710	981	5320	4390
Day 28 (after second daily dose)	[b]	[b]	664	367	1130	1390	2770	2450
Anti-muS103new binding antibodies (n/N)	0/6	0/6	6/6	6/6	0/6	0/6	0/6	1/6
Died or Euthanized Moribund (n/N)	0/39	0/39	0/51	0/51	0/51	0/51	0/51	0/51

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0074
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Noteworthy Findings								
Body Weight (n=18)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (n=6)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-						
Hematology [c]								
White Blood Cells (x10^9/L)	4.22	5.46	↓55**	↓65**	↓58**	↓55**	↓56**	↓71**
Lymphocytes (x10^9/L)	2.75	3.95	↓88**	↓89**	↓87**	↓86**	↓89**	↓93**
Eosinophils (x10^9/L)	0.13	0.24	↑246**	↑100**	↑200**	↑88**	↑308**	↑104**
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping [c]								
Peripheral lymphocytes (cells/μL, %)								
Total T Lymphocytes								
Day 1	2613	1651	↓98**	↓90**	↓98**	↓90**	↓98**	↓98**
Day 28	1751	2085	↓95**	↓97**	↓94**	↓89**	↓98**	↓98 [d]
Total B Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	2755	1194	↓93**	↓81**	↓91**	↓81**	↓92**	↓89**
Day 28 (4 hr)	1432	2243	↓98**	↓98**	↓98**	↓99**	↓98**	↓99 [d]
CD4 T Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	1924	1297	↓98**	↓88**	↓98**	↓91**	↓98**	↓99**
Day 28 (4 hr)	1099	1696	↓95**	↓97**	↓92**	↓86**	↓97**	↓99**
CD8 T Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	602	395	↓98**	↓85**	↓98**	↓91**	↓98**	↓98**
Day 28 (4 hr)	362	537	↓98**	↓99**	↓95**	↓89**	↓99**	↓99
NK Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	329	183	↓76**	↓65**	↓77**	↓74**	↓74**	↓75**
Day 28 (4 hr)	159	208	↓14	↓54*	↓46	↓48*	↓20	↓57 [d]
NKT Lymphocytes								
Day 1 (4 hr)	417	239	↓97**	↓91**	↓98**	↓92**	↓98**	↓97**
Day 28 (4 hr)	38	70	↓74**	↓91*	↓79**	↓64*	↓92**	↓90 [d]

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0074
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Immunophenotyping [c]								
Spleen, Day 29/30								
(cells/spleen [e], %)								
Total T Lymphocytes	10×10^6	9×10^6	↓95**	↓84**	↓91**	↓86**	↓99**	↓96**
Total B Lymphocytes	11×10^6	10×10^6	↓98**	↓89**	↓97**	↓96**	↓99**	↓96**
NK Lymphocytes	1×10^6	1.1×10^6	↓49*	↑42	↓30*	↓29	↓60**	↓29
NKT Lymphocytes	0.3×10^6	0.5×10^6	↓90**	↓64**	↓86**	↓79**	↓97**	↓88**
Lymph Nodes Day 29/30								
(cells/g, %)								
Total T Lymphocytes	48×10^6	97×10^6	↓100*	↓99*	↓97*	↓97*	↓99*	↓100**
Total B Lymphocytes	5×10^6	12×10^6	↓99*	↓95*	↓96*	↓90*	↓95*	↓91*
NK Lymphocytes	0.6×10^6	1.2×10^6	↓84	↓79*	↓53	↓69*	↓56	↓73*
Terminal Procedures, Week 4, Number Evaluated	12	12	12	12	12	12	12	12
Organ Weights								
Spleen (g, %) [c,f]	0.074 g	0.081 g	↓30**	↓26**	↓38**	↓11**	↓36**	↓27**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [g]								
Spleen								
Extramedullary Haemopoiesis								
Minimal	0	1	8	8	10	4	6	7
Slight	0	0	3	4	1	7	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
White Pulp – Decreased Cellularity								
Minimal	0	0	11	10	12	10	12	12
Slight	0	0	0	2	0	0	0	0
Peyer’s Patches (GALT)								
Decreased Cellularity								
Minimal	0	0	8	6	11	8	7	4
Slight	0	0	0	0	0	1	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0074
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Terminal Procedures, Week 4, Number Evaluated	12	12	12	12	12	12	12	12
Mesenteric Lymph nodes								
Decreased Germinal Center Development Present	0	0	12	12	12	12	12	12
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	3	4	10	10	12	12
Mandibular Lymph nodes								
Decreased Germinal Center Development Present	0	0	12	11	11	12	12	12
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	9	11	10	11	10	10
Slight	0	0	0	0	0	1	0	1
Left Axillary Lymph nodes								
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	7	10	5	6	11	11
Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
Left Inguinal Lymph nodes								
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	2	8	3	6	8	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Right Inguinal Lymph nodes								
Decreased Cellularity - Cortex/Paracortex								
Minimal	0	0	7	11	10	8	11	10
Injection site								
Treated Sites 1 and 2 -Subcutaneous Inflammation								
Minimal	3	6	9	16	14	19	9	15
Slight	0	0	4	3	6	2	5	5
Moderate	0	0	0	1	1	0	0	0
Dermal Inflammation								
Minimal	1	0	2	2	0	3	0	4
Slight	1	0	0	1	0	0	1	2

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0074
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery), Week 8, Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Hematology [a]								
White Blood Cells ($x10^9$/L)	5.36	3.74	↓34**	↓26	↓20**	↓30*	↓41**	↓32*
Lymphocytes ($x10^9$/L)	3.88	2.78	↓47**	↓33*	↓42**	↓34*	↓51**	↓40*
Immunophenotyping [c]								
Peripheral lymphocytes, Day 56 (cells/μL, %)								
Total T Lymphocytes	3482	2220	↓51**	↓55**	↓48**	↓52**	↓65**	↓51**
Total B Lymphocytes	3143	2198	↓34*	↓31	↓28*	↓46*	↓26*	↓30*
CD4 T Lymphocytes	2799	1971	↓54**	↓48**	↓44**	↓53**	↓63**	↓52**
CD8 T Lymphocytes	897	615	↓68**	↓63**	↓60**	↓60**	↓76**	↓70**
NKT Lymphocytes	116	76	↓27	↓22	↓38	↓34	↓52*	↓22
Spleen, Day 57, (cells/spleen [e], %)								
Total T Lymphocytes	10×10^6	10×10^6	↑6	↓6	↓29	↓21	↓22	↑7
Total B Lymphocytes	10×10^6	13×10^6	↑41	↑12	↑17	↓10	↑63	↑64*
NK Lymphocytes	1×10^6	1.7×10^6	↑113*	↑16	↑87*	↓18	↑135**	↑78*

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 103-PCD-0074
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		0.4		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery), Week 8, Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Immunophenotyping [c]								
Lymph Nodes, Day 57, (cells/g, %)								
Total T Lymphocytes	286 x 10^6	243 x 10^6	↓62*	↓53**	↓52*	↓65**	↓72**	↓65**
NKT Lymphocytes	5 x 10^6	7 x 10^6	↓37	↓54	↓56*	↓60	↓70**	↓65*
Terminal Procedures, Recovery, Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Organ Weights								
Spleen [c,f]	0.079 g	0.092 g	↑19	↑14	↑32	↑7	↑13	↑7

[a] 12/sex/group were euthanized at the end of dosing and remaining 6/sex/group were euthanized after recovery. Satellite groups were treated in a similar manner and consisted of 9/sex/group for pharmacodynamic evaluations, 6/sex/group for immunogenicity evaluations, and 18/sex/group (6/sex/group for controls) for toxicokinetic evaluations.

[b] All samples taken from the control animals were below the limit of quantification (<0.49 ng/mL).

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Females at 10 mg/kg/day had only 1 quantifiable observation, therefore were excluded from the analysis.

[e] Cells/spleen were calculated using the percentages of each cell type from the flow cytometry data and the cell counts obtained during spleen preparation.

[f] Organ weights were adjusted for terminal bodyweight, using the weight recorded before necropsy.

[g] Incidence is presented.

NK = natural killer; NKT = natural killer T-cell; $AUC_{(0-8)}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from 0 to 8 hours; C_{max} = maximum drug concentration measured; GALT = gut-associated lymphoid tissue; - No noteworthy findings. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett's test or Shirley's test.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity	Report Title: muS103new: Toxicity Study by Twice-Daily Subcutaneous Administration to BALB/c Mice for 13 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period	Test Article: muS103new (murine surrogate) (lot # [redacted])
Species/Strain: Mouse/ BALB/c	Duration of Dosing: 13 weeks	Amgen Study No. 103-PCD-0082
Initial Age: 63 to 73 days	Duration of Postdose: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: SC (twice daily, 8-hour interval)	
	Vehicle/Formulation: 10 mM citrate, 75 mM L-lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80, pH 7	GLP Compliance: Yes

Special Features: Immunogenicity, Immunophenotyping of lymphocytes (blood, spleen, and lymph nodes)
No Observed Adverse Effect Level: Not Applicable

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals [a]	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Toxicokinetics: $AUC_{(0\text{-}8)}$ (ng·h/mL)						
Day 1 (after first daily dose)	[b]	[b]	1340	1180	10900	10400
Day 92 (after second daily dose)	[b]	[b]	1600	1700	12600	13200
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)						
Day 1 (after first daily dose)	[b]	[b]	388	378	2760	2400
Day 92 (after second daily dose)	[b]	[b]	304	398	2770	3010
Anti-muS103new binding antibodies n/N						
Day 43	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Day 71	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Day 92	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Day 121	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	2/44	0/44	1/62	0/62	2/62	0/62
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Hematology [c]						
Red Blood Cells (x10^{12}/L)	10.90	10.56	↑1	↑3*	↓1	↑3*
Hematocrit (L/L)	0.505	0.489	0	↑1	↓3*	↓1
Hemoglobin (g/dL)	16.2	15.7	↓2	↓1	↓4*	↓2*
Mean Cell Hemoglobin (g/dL)	14.8	14.8	↓3*	↓4*	↓3*	↓4*
Mean Cell Hemoglobin Concentration (g/dL)	32.0	32.0	↓2*	↓2*	↓1*	0
Mean Cell Volume (fL)	46.4	46.3	↓1	↓2*	↓2*	↓4*
White Blood Cells (x10^{9}/L)	7.72	3.80	↓52	↓13	↓75	↓66
Lymphocytes (x10^{9}/L)	6.00	2.72	↓74	↓40	↓93	↓90
Large Unstained Cells (x10^{9}/L)	0.07	0.01	↓86	0	↓100	↓100
Serum Chemistry [c]						
Triglycerides	1.04	1.19	↑6	↓34	↓13	↓41
Immunophenotyping [c]						
Peripheral Lymphocytes, Day 43, (cells/μL, %)						
Total T Lymphocytes	1247	1559	↓67**	↓58**	↓97**	↓96**
Total B Lymphocytes	1778	1829	↓99**	↓99**	↓99**	↓100**
CD4 T Lymphocytes	919	1368	↓56*	↓61**	↓95**	↓95**
CD8 T Lymphocytes	316	461	↓83**	↓84**	↓98**	↓98**
NK Lymphocytes	162	174	↓62**	↓71**	↓44**	↓73**
NKT Lymphocytes	14	9	↓71**	↓67**	↓93**	↓89**
Peripheral Lymphocytes, Day 92, (cells/μL, %)						
Total T Lymphocytes	1686	1516	↓51**	↓17	↓94**	↓94**
Total B Lymphocytes	2927	2187	↓99**	↓99**	↓99**	↓99**
CD4 T Lymphocytes	1563	1653	↓45**	↓7	↓94**	↓95**
CD8 T Lymphocytes	579	533	↓88**	↓75**	↓98**	↓98**
NK Lymphocytes	304	179	↓50	↓52*	↓17	↓21*
NKT Lymphocytes	49	23	↓61**	↓48**	↓86**	↓83**

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Immunophenotyping [c]						
Spleen, Day 93						
(cells/spleen [d], %)						
Total T Lymphocytes	9 x 10^6	12 x 10^6	↓19	↓62**	↓86**	↓94**
Total B Lymphocytes	9 x 10^6	15 x 10^6	↓96**	↓99**	↓93**	↓97**
NK Lymphocytes	1 x 10^6	1.6 x 10^6	↑23	↓66**	↑98**	↓26*
NKT Lymphocytes	0.1 x 10^6	0.2 x 10^6	↓22	↓73**	↓51	↓84**
Lymph Nodes, Day 93						
(cells/g, %)						
Total T Lymphocytes	59 x 10^6	63 x 10^6	↓75**	↑4	↓98**	↓98**
Total B Lymphocytes	10 x 10^6	10 x 10^6	↓100**	↓98**	↓100**	↓99**
NK Lymphocytes	0.4 x 10^6	0.6 x 10^6	↓47*	↓21	↓82**	↓61
NKT Lymphocytes	0.3 x 10^6	0.5 x 10^6	↓83**	↓46	↓97**	↓96**
Terminal Procedures, Week 13, Number Evaluated	12	12	12	12	11	12
Organ Weights						
Spleen (g, %) [c, e]	0.082 g	0.087 g	↓45.1**	↓33.3**	↓37.8**	↓28.7**
Gross Pathology [f]						
Lymph Nodes						
Left axillary, small	0	0	4	3	7	7
Left inguinal, small	0	0	11	2	8	10
Right inguinal, small	0	0	10	3	7	10
Histopathology [f]						
Spleen						
White Pulp – Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	6	5	0	0
Slight	0	0	4	2	10	10
Moderate	0	0	0	0	1	2
Extramedullary Hemopoiesis						
Minimal	0	0	3	7	4	6
Slight	0	0	0	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Terminal Procedures, Week 13, Number Evaluated	12	12	12	12	11	12
Histopathology [f]						
Peyer's Patches (GALT)						
Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	4	4	8	7
Slight	0	0	1	2	0	2
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0
Moderate	0	0	0	2	0	0
Marked	0	0	4	4	6	8
Mesenteric Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	7	6	0	1
Slight	0	0	2	3	10	11
Decreased Germinal Center Development						
Moderate	0	0	6	2	0	0
Marked	0	0	6	10	10	12
Mandibular Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	5	2	0	0
Slight	0	0	3	6	10	12
Decreased Germinal Center Development						
Moderate	0	0	0	1	0	0
Marked	0	0	9	10	10	12

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Terminal Procedures, Week 13, Number Evaluated	12	12	12	12	11	12
Histopathology [f]						
Left Axillary Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	3	5	7	8
Slight	0	0	1	3	1	2
Decreased Germinal Center Development						
Slight	0	0	3	0	0	0
Moderate	0	0	2	2	0	0
Marked	0	0	5	8	10	11
Left Inguinal Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	8	4	10	10
Slight	0	0	0	0	0	1
Decreased Germinal Center Development						
Moderate	0	0	0	2	0	0
Marked	0	0	8	9	10	9
Right Inguinal Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	8	5	9	7
Slight	0	0	0	0	0	3
Decreased Germinal Center Development						
Moderate	0	0	0	2	0	0
Marked	0	0	9	7	9	12
Injection site						
Treated Sites 1 and 2						
Dermal Inflammation						
Minimal	3	3	6	6	6	3
Slight	0	1	0	3	3	6
Subcutis/Panniculus Inflammation						
Minimal	6	13	15	9	13	10
Slight	0	1	2	8	4	7

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Terminal Procedures, Week 13, Number Evaluated	12	12	12	12	11	12
Histopathology [f]						
Skin – Mammary						
Subcutis/Panniculus Inflammation						
Minimal	2	3	6	6	7	5
Slight	1	0	0	1	1	0
Postdose Evaluation (Recovery), Week 17, Number Evaluated	7	8	8	8	8	8
Hematology [c]						
Red Blood Cells ($x10^{12}$/L)	9.92	10.03	↑4	↑3	↑6*	↑4*
Mean Cell Hemoglobin (g/dL)	14.9	15.1	↓3*	↓5*	↓4*	↓6*
Mean Cell Volume (fL)	47.3	47.3	↓4*	↓4*	↓5*	↓6*
Immunophenotyping [c]						
Peripheral lymphocytes, Day 120, (cells/µL, %)						
Total T Lymphocytes	1665	2015	↓60**	↓28**	↓70**	↓65**
Total B Lymphocytes	3042	2841	↓65**	↓70**	↓58**	↓71**
CD4 T Lymphocytes	1532	1960	↓44**	↓11	↓67**	↓63**
CD8 T Lymphocytes	553	645	↓75**	↓69**	↓80**	↓80**
NK Lymphocytes	382	346	↓55*	↓47**	↓42*	↓38**
Spleen, Day 121, (cells/spleen [d], %)						
Total T Lymphocytes	5×10^6	12×10^6	↓7	↑21	↓37	↓32
Total B Lymphocytes	8×10^6	14×10^6	↓28	↓4	↓11	↓12

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 103-PCD-0082	
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery), Week 17, Number Evaluated	7	8	8	8	8	8
Terminal Procedures, Recovery, Number Evaluated	7	8	8	8	8	8
Gross Pathology [f]						
Lymph Nodes						
Left axillary, small	0	0	0	3	4	6
Left inguinal, small	0	0	0	2	6	5
Right inguinal, small	0	0	0	3	2	3
Histopathology [f]						
Spleen						
Extramedullary Hemopoiesis						
Minimal	0	0	1	1	2	0
Moderate	1	0	0	0	1	0
Mesenteric Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	0	1	3	4
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	3	0	2	1
Slight	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	2	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 103-PCD-0082	
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery), Week 17, Number Evaluated	7	8	8	8	8	8
Histopathology [f]						
Mandibular Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	1	0	3	4
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	1	0	3	1
Moderate	0	0	0	0	1	2
Marked	0	0	1	0	0	0
Left Axillary Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Slight	0	0	0	0	1	0
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	0	0	4	0
Marked	0	0	0	0	1	0
Left Inguinal Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	1	1	5	1
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	1	0	4	1
Moderate	0	0	0	0	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0082
Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		2		10	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 11	F: 12
Postdose Evaluation (Recovery), Week 17, Number Evaluated	7	8	8	8	8	8
Histopathology [f]						
Right Inguinal Lymph nodes						
Cortex/Paracortex - Decreased Cellularity						
Minimal	0	0	1	0	0	1
Decreased Germinal Center Development						
Minimal	0	0	0	0	2	1
Slight	0	0	0	0	0	1

[a] 12/sex/group were euthanized at the end of dosing and remaining 8/sex/group were euthanized after recovery. Satellite groups were treated in a similar manner and consisted of 18/sex/group for pharmacodynamic evaluations, 6/sex/group for immunogenicity evaluations (no control animals), and 18/sex/group (6/sex/group for controls) for toxicokinetic evaluations.

[b] All samples taken from the control animals were below the limit of quantification (< 0.49 ng/mL).

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Cells/spleen were calculated using the percentages of each cell type from the flow cytometry data and the cell counts obtained during spleen preparation

[e] Organ weights were adjusted for terminal bodyweight, using the weight recorded before necropsy.

[f] Incidence is presented.

NK = natural killer; NKT = natural killer T-cell; $AUC_{(0\text{-}8)}$ = area under the plasma drug concentration-time curve; C_{max} = maximum drug concentration measured; GALT = gut-associated lymphoid tissue. - No noteworthy findings. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett's test, Shirley's test or Steel's test.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: Multiple Dose Study for the Bispecific Single Chain Monoclonal Antibody MT103 (CD19xCD3) in Chimpanzees	Test Article: blinatumomab (MT103) (lot # [redacted])
Species/Strain: Chimpanzee (*Pan troglodytes*)	Duration of Dosing: 28 days (5 weekly doses)	Amgen Study No. 103-PCD-0015 (MT103-PE-006)
Initial Age: 10 to 13 years Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Duration of Postdose: 4 weeks Method of Administration: IV infusion over a 2 hour period on days 0, 7, 14, 21, and 28	
	Vehicle/Formulation: 0.1% human serum albumin, sodium chloride, disodium monohydrogen phosphate, potassium dihydrogen phosphate, potassium chloride in water for injection	GLP Compliance: Yes
Special Features: Immunophenotyping, T cell activation markers, and blood cytokines		
No Observed Adverse Effect Level: Not Applicable		

Dose (µg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F: 1	M: 1	F: 1
Toxicokinetics: AUC $_{(0\text{-}10)}$ (ng·h/mL)			
Day 0	[a]	2.933	5.109
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)			
Day 0	[a]	0.887	1.360
Noteworthy Findings			
Died or Euthanized Moribund	0	0	0
Body Weight	-	-	-
Food Consumption	-	-	-

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle		0.1			
Number of Animals	F:1		M:1		F:1	
Clinical Observations	-		-		-	
Ophthalmoscopy	-		-		-	
Vital Signs						
Mean arterial pressure[b] mm Hg (%)	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr
Day 0	56 - 92 (41.5)	51 - 83 (↓26.1)	76 - 97 (21.3)	62 - 90 (↓30.3)	54 - 106 (96.3)	58 - 98 (↓40.8)
Day 7	59 - 100 (↓41)	37 - 90 (↓49.3)	75 - 90 (11.1)	50 - 97 (↓43.8)	71 - 121 (61.3)	51 - 71 (↓20.3)
Day 14	56 - 78 (21.9)	63 - 83 (↓17.1)	70 - 101 (26.3)	68 - 87 (↓20)	61 - 102 (59.4)	54 - 108 (47.9)
Day 21	47 - 69 (27.8)	45 - 80 (33.3)	51 - 90 (↓40)	52 - 92 (70.4)	55 - 97 (44.8)	4 - 77 (51)
Day 28	54 - 79 (↓25)	54 - 76 (20.6)	72 - 114 (25.3)	51 - 80 (↓22.7)	54 – 101 (↓34.1)	50 - 95 (90)
Heart Rate[b] bpm, (%)	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr
Day 0	100 - 119 (13.3)	105 - 111 (↓2.8)	73 - 98 (34.2)	98 - 107 (7)	79-118 (49.4)	113-126 (10.5)
Day 7	120 - 138 (15)	125 - 140 (↓10.7)	92 - 111 (19.4)	104 - 116 (↓6.4)	111 – 129 (16.2)	112 - 128 (↓10.4)

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle		0.1			
Number of Animals	F:1		M:1		F:1	
Vital Signs						
Heart Rate [b] bpm, (%)	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr
Day 14	98 - 120 (22.4)	108 - 117 (↓5.3)	92 - 108 (17.4)	108 – 113 (4.6)	94 - 121 (28.7)	122 - 138 (12.2)
Day 21	96 - 106 (8.2)	104 - 111 (5.7)	94 - 107 (7)	99 - 117 (17)	91 – 138 (51.6)	107 – 132 (11.9)
Day 28	106 - 126 (10.5)	111 - 115 (↓3.5)	109 - 126 (15.6)	117 - 122 (↓3.3)	108 - 127 (17.6)	120 - 125 (3.3)
Body Temperature [b] °F (%)	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr	During infusion 2hr	Post infusion 2hr
Day 0	95.4 - 97.3 (↓2)	93.9 - 95.3 (↓1.5)	97.2 - 97.9 (↓0.7)	98.0 - 99.9 (1.9)	96.6 - 97.9 (1.3)	98.0 - 99.4 (1.4)
Day 7	97.1 - 98.5 (↓1.4)	96.1 - 97.1 (↓1)	99.6 - 100.1 (0.3)	100.2 - 101.0 (0.8)	98.9 - 99.5 (↓0.6)	98.8 - 99.0 (↓0.2)
Day 14	96.5 - 98.0 (↓1.5)	95.7 - 96.5 (↓0.8)	98.8 - 99.0 (0.1)	99.0 - 99.4 (0.4)	97.4 - 98.2 (0.7)	98.2 - 100.0 (1.8)
Day 21	96.5 - 97.5 (↓1)	95.9 - 96.5 (↓0.6)	97.2 - 97.9 (↓0.7)	97.2 - 97.6 (0.4)	98.3 - 99.4 (0.8)	99.0 - 100.2 (0.7)
Day 28	96.5 - 97.3 (↓0.8)	96.2 - 96.5 (↓0.3)	97.0 - 97.7 (↓0.7)	97.5 - 98.2 (0.7)	97.0 - 97.7 (↓0.7)	97.4 - 98.6 (1.1)

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 103-PCD-0015		
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Hematology			
Lymphocytes (× 10^3/mm^3)			
Day 0			
Pre-dose	3.5	3.9	4.7
8 hr	0.9	1.4	0.2
Day 7			
Pre-dose	1.5	2.6	5.5
8 hr	2.1	0.4	0.2
Day 14			
Pre-dose	3.2	2.5	4.5
8 hr	3.5	0.3	2.8
Day 21			
Pre-dose	2.5	3.0	5.2
8 hr	2.2	0.3	0.4
Day 28			
Pre-dose	2.3	3.4	5.9
8 hr	2.1	0.3	0.4
Day 49	2.7	4.8	2.6
Day 56	1.2	3.4	6.9
Coagulation	-	-	-

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle		0.1
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Serum Chemistry			
Total Bilirubin (mg/dL)			
Day 0			
Pre-dose	0.3	0.5	0.4
8 hour	0.5	0.8	0.7
Day 7			
Pre-dose	0.5	0.5	0.3
8 hour	0.5	0.7	0.8
Day 14			
Pre-dose	0.3	0.4	0.3
8 hour	0.3	0.6	0.9
Day 21			
Pre-dose	0.3	0.4	0.5
8 hour	0.4	0.3	1.0
Day 28			
Pre-dose	0.4	0.4	0.4
8 hour	0.4	0.5	0.6

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (µg/kg)	Vehicle		0.1
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Serum Chemistry			
Alanine Aminotransferase (U/L)			
Day 0			
Pre-dose	26	30	31
8 hour	40	63	46
24 hour	70	122	66
Day 7			
Pre-dose	50	91	42
8 hour	83	96	45
24 hour	106	97	61
Day 14			
Pre-dose	51	62	39
8 hour	65	68	47
24 hour	74	79	57
Day 21			
Pre-dose	43	61	32
8 hour	55	67	35
24 hour	68	80	38

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle		0.1
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Serum Chemistry			
Alanine Aminotransferase (U/L)			
Day 28			
Pre-dose	50	54	30
8 hour	52	73	34
24 hour	59	93	36
Aspartate Aminotransferase (U/L)			
Day 0			
Pre-dose	18	37	19
8 hour	89	201	80
24 hour	160	424	137
Day 7			
Pre-dose	25	135	27
8 hour	181	170	50
24 hour	227	206	115
Day 14			
Pre-dose	22	45	24
8 hour	89	141	58
24 hour	125	230	115
Day 21			
Pre-dose	19	41	13
8 hour	98	137	30
24 hour	125	191	51
Day 28			
Pre-dose	19	43	15
8 hour	61	232	46
24 hour	97	372	54
Lactate Dehydrogenase (U/L)			
Day 0			
Pre-dose	211	233	249
8 hour	382	745	566
24 hour	506	1137	684

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Serum Chemistry			
Lactate Dehydrogenase (U/L)			
Day 7			
Pre-dose	276	326	259
8 hour	1205	451	406
24 hour	792	445	582
Day 14			
Pre-dose	251	233	262
8 hour	574	478	382
24 hour	432	455	455
Day 21			
Pre-dose	233	227	284
8 hour	599	444	354
24 hour	457	409	355
Day 28			
Pre-dose	254	222	268
8 hour	408	670	334
24 hour	402	519	340

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 103-PCD-0015		
Daily Dose (µg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Serum Chemistry			
C-reactive Protein (mg/dL)			
Day 0			
Pre-dose	0.8	5.3	3.9
8 hour	1.8	7.3	5.2
24 hour	8.5	15.1	9.7
Day 7			
Pre-dose	<0.3	7.8	<0.3
8 hour	1.2	12.2	1.4
24 hour	4.2	2.2	5.6
Day 14			
Pre-dose	<0.3	0.7	9.3
8 hour	0.6	2.5	10.8
24 hour	3.6	7.1	15.1
Day 21			
Pre-dose	<0.3	0.4	5.7
8 hour	0.5	1.7	7.6
24 hour	3.0	6.9	12
Day 28			
Pre-dose	1.3	<3	1.2
8 hour	1.8	1.2	3.2
24 hour	3.5	5.7	7.3

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (µg/kg)	Vehicle		0.1
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
Urinalysis	-	-	-
Blood Cytokines			
IL-2 (pg/mL)			
Day 0			
1 hr	7.2	219.6	63.2
8 hr	17.7	3.4	23.1
Day 28			
1 hr	< 5.0	8.5	114.4
8 hr	1.1	15.0	20.5
IL-6 (pg/mL)			
Day 0			
2 hr	< 12.3	1384.9	1433.7
8 hr	< 12.3	81.5	< 12.3
Day 28			
2 hr	< 12.3	277.4	42.9
8 hr	< 12.3	< 12.3	271.7
IFN-ɣ (IU/mL)			
Day 0			
2 hr	< 0.39	31.4	33.0
8 hr	< 0.39	< 0.39	0.9
Day 28			
2 hr	< 0.39	< 0.39	11.1
8 hr	< 0.39	< 0.39	< 0.39
T-cell Activation Markers			
sCD25 (pM)			
Day 0			
Predose	27.3	13.4	18.1
24 hr	34.1	144.6	87.1
Day 28			
Predose	8.3	32.7	67.5
24 hr	29.7	105.6	574.1

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 103-PCD-0015		
Daily Dose (µg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
T-cell Activation Markers			
CD69 positive cells (%) [c]			
Day 0			
Pre-dose	6.6	3.7	3.2
8 hr	21.2	60.2	60.4
Day 28			
Pre-dose	18.6	12.2	4.0
8 hr	10.9	36.2	74.0
Total Lymphcytes (absolute)			
Day 0			
Pre-dose	3432	3927	4712
8hr	825	298	244
Day 7			
Pre-dose	1560	2601	5488
8hr	2040	326	208
Day 14			
Pre-dose	3219	2438	2808
8hr	3600	432	312
Day 21			
Pre-dose	2580	2938	5117
8hr	2223	358	489
Day 28			
Pre-dose	2346	3424	5838
8hr	2085	416	398
Day 49	2754	4770	2625
Day 56	1188	3317	6684

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 103-PCD-0015		
Daily Dose (µg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
B Cell markers			
CD19 (absolute)			
Day 0			
Pre-dose	185	758	490
8hr	49	46	24
Day 7			
Pre-dose	103	486	631
8hr	108	35	27
Day 14			
Pre-dose	174	485	154
8hr	277	72	218
Day 21			
Pre-dose	243	408	276
8hr	185	58	27
Day 28			
Pre-dose	113	479	269
8hr	156	49	6
Day 49	80	510	92
Day 56	63	318	241

Footnotes are on the last page of this table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）
被験物質：ブリナツモマブ

Repeat-dose Toxicity			Amgen Study No. 103-PCD-0015
Daily Dose (μg/kg)	Vehicle	0.1	
Number of Animals	F:1	M:1	F:1
CD20 (absolute)			
Day 0			
Predose	151	310	401
8hr	43	22	13
Day 7			
Pre-dose	94	177	423
8hr	124	1	9
Day 14			
Pre-dose	103	151	121
8hr	238	10	131
Day 21			
Pre-dose	108	209	200
8hr	151	33	21
Day 28			
Predose	99	175	117
8hr	111	30	6
Day 49	74	95	74
Day 56	53	166	147

[a] Samples were not collected from the control chimpanzee.

[b] Range of parameter during each time period (during infusion or post-infusion). The % change during the infusion period is the maximal change (high or low of the range) compared to baseline (pre-infusion, t = -2 hours). The % change during the post-infusion time period is the maximal change (high or low of the range) compared to the end of infusion (t=0).

[c] Percentage of white blood cells

$AUC_{(0\text{-}10)}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from 0 to 10 hours; C_{max} = maximum drug concentration measured. - No noteworthy findings.

表 8　遺伝毒性試験：In vitro 試験
被験物質：ブリナツモマブ

In vitro genotoxicity studies using blinatumomab were not conducted.

表 9　遺伝毒性試験：In vivo 試験
被験物質：ブリナツモマブ

In vivo genotoxicity studies using blinatumomab were not conducted.

表 10　がん原性試験
被験物質：ブリナツモマブ

Carcinogenicity studies using blinatumomab were not conducted.

表 11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験
被験物質：muS103new

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Mouse/Swiss: Rj/Orl	IV bolus (10 mM citric acid monohydrate, 75 mM L-lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80, pH 7.0)	Daily - 10 days (gestation days 6 to 15)	muS103new: 0, 5	Toxicity: 10F 0, 5 mg/kg PD: 12F 0, 5 mg/kg TK: 24F 5 mg/kg IMM: 6F 5 mg/kg	No muS103new-related reproductive findings were observed. Decreased net body weight gains (2 of 7) and a net body weight loss (1 of 7) were observed. Significant depletions in lymphocyte counts, due to decreases in all lymphocyte subsets assessed (T cells [helper and cytotoxic], B cells, and NK cells). Increased mean body weights in females (6%) were observed in fetal exams.	103-PCD-0079 (Non-GLP)

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IMM = immunogenicity; IV = intravenous; NK = natural killer; PD = pharmacodynamics; TK = toxicokinetics.

表 12　生殖発生毒性試験 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：重要な試験
被験物質：ブリナツモマブ

Fertility and early embryonic development to implantation studies using blinatumomab were not conducted.

表 13　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験
被験物質：muS103new

Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-fetal Development Species/Strain: Mouse/Swiss: RjOrl Initial Age: 11 weeks old Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (gestation day 6) Special Features: Immunophenotyping of lymphocytes in maternal blood No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: Not Applicable F_1 Litters: Not Applicable		Report Title: Study for Effects on Embryo-fetal Development by Intravenous Route (bolus) in Mice Duration of Dosing: Once daily for 10 days (gestation days 6 to 15) Day of Mating: [redacted] 20[redacted] (gestation day 0) Day of hysterectomy: [redacted] 20[redacted] (gestation day 18) Method of Administration: IV (bolus) Vehicle/Formulation: 10 mM citrate, 75 mM L-lysine hydrochloride, 4% trehalose, 0.03% Tween 80 at pH 7.0 (lot: 110606JaR01)		Test Article: muS103new (lot#: [redacted]) Amgen Study No. 103-PCD-0080 GLP Compliance: Yes
Dose (mg/kg/day)			Control	1	5
Dams:	Toxicokinetics[a]: $AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·h/mL)				
	Gestation day 6		[b]	4590	28000
	Gestation day 15		[b]	6610	38500
	Toxicokinetics[a]: C_{max} (ng/mL)				
	Gestation day 6		[b]	6909	42002
	Gestation day 15		[b]	8696	42874
	No. Mated		25	25	25
	No. Pregnant		20	22	18
	No. Died or Euthanized		0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter		0 litters	0 litters	0 litters
	Clinical Observations		-	-	-

Footnotes are on the last page of this table.

表 13　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Reproductive and Developmental Toxicity				Amgen Study No. 103-PCD-0080
Dose (mg/kg/day)		Control	1	5
Dams:	Necropsy Observations	-	-	-
	Body Weight (%)	-	-	-
	Food Consumption (%)	-	-	-
	Hematology (mean values)			
	Lymphocytes and Large Unstained Cells[a, c]			
	Gestation day 6 (x10^6/L)	5.17	↓96**	↓94**
	Gestation day 15 (x10^6/L)	4.40	↓83*	↓82*
	Immunophenotyping[a, c] (mean values, %)			
	Gestation day 6			
	Total T cells (cells/µL)	1658	↓100**	↓100**
	T helper (cells/µL)	1018	↓100**	↓100**
	T cytotoxic (cells/µL)	374	↓100**	↓100**
	Total B cells (cells/µL)	1532	↓96**	↓93**
	Gestation day 15			
	Total T cells (cells/µL)	1838	↓98*	↓99*
	T helper (cells/µL)	1082	↓98	↓99**
	T cytotoxic (cells/µL)	416	↓99	↓100**
	Total B cells (cells/µL)	1473	↓98*	↓97*

Footnotes are on the last page of this table.

表 13　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験（続き）
被験物質：muS103new

Reproductive and Developmental Toxicity				Amgen Study No. 103-PCD-0080
Dose (mg/kg/day)		Control	1	5
Dams:	Mean No. Implantations	14.6	15.4	14.2
Litters:	No. Litters Evaluated	20	22	18
	Mean No. Live Fetuses	13.9	14.9	13.9
	Mean No. Early Resorptions	0.4	0.4	0.1
	No. of Dead Fetuses	2	1	1
	Mean % Postimplantation Loss/Animal	5.2	3.3	1.9
	Mean Fetal Body Weight (g)			
	Male	1.42	1.40	1.47
	Female	1.36	1.38	1.42
	Fetal Sex Ratios (% males)	48.0	51.6	48.5
	Fetal Examinations (% of fetuses)[d]			
	Gross External Examination	-	-	-
	Visceral Anomalies	-	-	-
	Skeletal Anomalies	-	-	-

[a] Additional satellite groups were included as follows : toxicokinetic: 18/dose, 6/control; pharmacodynamic: 12/dose and control. Satellite groups were dosed in the same manner as the main study animals, but were not included in the maternal and fetal evaluations.

[b] All samples taken from the control animals were below the lower limit of quantification (< 0.96 ng/mL).

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Low incidences of developmental variations (< 1%) and visceral (< 1%) and skeletal (< 5%) anomalies were observed in fetuses; however, these changes were not related to muS103new.

$AUC_{0\text{-}8hr}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from 0 to 8 hours after dosing; C_{max} = maximum drug concentration measured; GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; - No noteworthy findings, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett test.

表 14　生殖発生毒性試験 出生前及び出生後の発達並びに母体の機能に関する試験：重要な試験
被験物質：ブリナツモマブ

Effects on pre- and postnatal development including maternal function studies using blinatumomab were not conducted.

表 15　幼若動物を用いた試験
被験物質：ブリナツモマブ

Studies using blinatumomab in juvenile animals were not conducted.

表 16　局所刺激性試験：In vivo 試験
被験物質：ブリナツモマブ

Species/ Strain	Method of Administration	Doses (µg/site/animal)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rabbit/Himalayan	Intravenous Intramuscular Intra-arterial Paravenous Subcutaneous Single dose each route [a]	IV: 0, 1.1 IM: 0, 0.11 IA: 0, 1.1 PV: 0, 0.11 SC: 0, 0.11	3M, 3F – all 5 routes of administration were tested in each animal	Blinatumomab was well-tolerated by all tested routes of administration. All changes at injection sites were consistent with tissue responses inherent to the injection procedures. No changes attributable to blinatumomab were observed.	103-PCD-0010 (GLP)

[a] Control article (0.9% sodium chloride solution) was administered by each route to all animals.

M = male; F = female; IV = Intravenous; IM = Intramuscular; IA = Intra-arterial; PV = Paravenous; SC = Subcutaneous; GLP = Good Laboratory Practice

表 17A　その他の試験：免疫原性試験
被験物質：muS103new

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Mouse/ BALB/c	IV bolus, SC (25 mM citrate, 200 mM lysine hydrochloride, 5% glycerol, pH 7)	Daily, 42 days, 28 day recovery followed by 8 day re-exposure	0.05 IV or SC	10F	Consecutive daily IV or SC injections of muS103new at low doses resulted in formation of anti-muS103new antibodies, detectable at 23 days in some animals. Most animals developed antibodies by day 43 with no difference between routes of administration. B and T cell depletion were impaired in mice with high anti-muS103new titers during the second exposure period, suggesting the development of neutralizing antibodies.	103-PCD-0089 (Non-GLP)

GLP = Good Laboratory Practices; F = female; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

表 17B　その他の試験：種及び組織交差反応性試験
被験物質：ブリナツモマブ

Species/Strain	Test Model	Concentration (µg/mL)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
Human	Tissue cross-reactivity using a human tissue panel	10 and 50	3 different human donors	Blinatumomab stained only lymphocytes in the normal human tissues. Generally, these lymphocytes were abundant in lymphoid tissues such as tonsil, spleen, thymus, and lymph node. In other tissues, very rare to occasional intravascular, migrating, or interstitial lymphocytes were stained by blinatumomab.	103-PCD-0041 (GLP)

GLP = Good Laboratory Practices.