異的なものと考えられた。サイトカイン IL-1α 及び TNF-α は，E7272 曝露したいずれの血管内皮細胞の培養液上清からも検出されなかった。培養液上清中の IL-6 の濃度は，10^{-8} mol/L（576 ng/mL）又は 10^{-9} mol/L（58 ng/mL）において曝露時間とともに増加したが，10^{-7} mol/L（5765 ng/mL）では増加はみられなかった。これらの結果より，E7272 はラット及びサルで達する血中濃度（約 10^{-8} mol/L; 576 ng/mL）において，血管内皮細胞への直接的影響はないと考えられた。

2.6.6.9.2.5 ラットを用いた毛細血管透過性検討（添付資料 4.2.3.7.3.5，報告書番号：[redacted]151 [参考]）

試験では，標的臓器（肝，腎，脾及び肺，及び末梢［耳介］）における E7272 の毛細血管透過性について検討した。

雌 SD ラットを 3 例ずつ，下記の 6 群に分けた。

表 2.6.6-21　本試験における群構成

群番号	被験物質	前処置 [a]	動物数	E7272 投与用量 (μg/kg/日)	投与容量 (mL/kg/日)	投与期間	検査日
1	生理食塩液	なし	3	0	1	1 日間	1
2	E7272	なし	3	25	1	1 日間	1
3	E7272	なし	3	25	1	1～10 日間	10
4	E7272	あり	3	25	1	1 日間	1
5	E7272	あり	3	25	1	1～10 日間	10
6	IL-2	なし	3	NA [b]	NA [b]	1～2 日間	3

NA: 該当せず
a: –21 から–18 日の 4 日間，E7272 を 1 日 1 回，50 μg/例，背部に皮下投与。
b: 400,000 U（20 μg）の IL-2 を，1 日 3 回 2 日間，腹腔内投与（0.2 mL）した。

E7272 あるいは生理食塩液を最終投与した 15 分後，あるいは IL-2 を最終投与した 12 時間後，10 μCi の ^{125}I-ウシ血清アルブミンを各動物の尾静脈より静脈内投与した。投与 2 時間後，肝，腎，脾，肺，及び耳を摘出して重量測定し，湿臓器のグラム当たりの放射活性量を測定した。残った組織は約 110 °C で 48 時間乾燥させ，組織水分量を計算した。

その結果，IL-2 処置した動物で，一般状態に異常はみられなかった。透過性指数（E7272 又は IL-2 を投与した動物の各組織における平均 ^{125}I 活性を生理食塩液投与群の組織の平均 ^{125}I 活性で除した値）は，脾，肺及び耳で 50%～100%高かった。

E7272 を単回あるいは 10 日間静脈内投与した動物（前処置なし）で，一般状態に異常はみられなかったが，E7272 の単回投与後に，脾及び末梢（耳介）の脈管構造では透過性指数が 20%～30%上昇し，腎の透過性指数が 20%低下した。E7272 の 10 日間投与では，全ての内部臓器で軽度の透過性指数上昇（肝，腎，脾が 20%，肺が 30%）がみられた（末梢の耳介では 40%低下）。

E7272 の前処置により高い抗 E7272 抗体レベルを示す動物への E7272 の静脈内投与では，1 日目及び 2 日目の投与直後に重篤な活動性の低下とチアノーゼが観察されたが，残りの試験期間ではみられなかった。しかしながら，透過性指数に明らかな変化はなかった。10 日間の投与で一般状態に明らかな変化はみられず，脾及び肺における透過性指数の軽度な上昇（20%），及び腎における低下（40%）がみられた。すなわち，前処置した動物への E7272 追加投与によって観察された活動性の低下及びチアノーゼは，血管透過性の変化とは関連していないと考えられた。

2.6.6.9.2.6 ラットを用いたサイトカイン放出への影響（添付資料 4.2.3.7.3.6，報告書番号：[redacted]153［参考］）

E7272 投与で引き起こされるサイトカイン放出の可能性について検討した。

雌 SD ラットを 5 例ずつ 4 群に分け，2 つの群には E7272 の 50 μg/kg（1 mL/kg）を単回あるいは 10 日間静脈内投与した。対照群には同量の生理食塩液を 10 日間投与した。また，陽性対照として IL-2 の 500,000 IU（0.2 mL）を 1～3 日目まで 1 日 3 回，4 日目には 2 回腹腔内投与した。血液サンプルは頚静脈より採取し，IL-1β，TNF-α，及び IFNγ（インターフェロン γ）の血漿中レベルを測定した。群構成を下記の表にまとめた。

表 2.6.6-22　本試験における群構成

群番号	被験物質	名称	E7272 投与用量 (μg/kg/日)	E7272 投与容量 (mL/kg/日)	投与期間	動物数
1	生理食塩液	対照群	0	1	1～10 日間	5
2	E7272	単回投与群	50	1	1 日間	5
3	E7272	反復投与群	50	1	1～10 日間	5
4	IL-2	IL-2 対照群	NA	NA	1～4 日間 [a]	5

NA：該当せず。
a:　500,000U の IL-2 を，1 日 3 回 3 日間さらに 4 日目に 2 回腹腔内投与（0.2mL）した

E7272 の 50 μg/kg/日の単回あるいは 10 日間投与によって，TNF-α，IL-1β，あるいは IFNγ の血漿中レベルに明らかな変動はみられなかった。IL-2 の 500,000 IU の 4 日間の投与では，IFNγ レベルの明らかな上昇がみられたが，TNF-α あるいは IL-1β の変動はみられなかった。

2.6.6.9.3 不純物の毒性試験

2.6.6.9.3.1 ラットにおける不純物（変化体A*）の毒性評価（添付資料 4.2.3.7.6.1，報告書番号：[redacted]122［参考］）

E7272 は，有効成分* と複数の変化体A* を含むため，これらの[redacted]を分離し，安全性を評価した。まず，[redacted]（変化体J*）の高濃縮試料，並びに変化体J* に加え　変化体M*　も高濃度含む試料を調製した。　変化体M*　も高濃度で含む試料は，さらに　変化体K*　と　変化体L*　の 2 つに分画した。高純度に精製した有効成分* も調製した。SD 雌ラット（10 例/群）に，媒体（生理食塩液），E7272，有効成分*，変化体J*，変化体K* あるいは　変化体L*　を，1 日 1 回，10 日間静脈内投与した。全ての被験物質の投与量は

＊新薬承認情報提供時に置き換え

75 μg/kg/日とした。11 日目に体重測定後，剖検し，臨床検査及び病理組織学的検査を実施した。

E7272 あるいは有効成分*を投与した群では，一般状態の悪化，体重減少，臨床検査値の変化（グルコース及びコレステロールの低下，並びに，BUN，クレアチニン，総ビリルビン，γ-GT，ALT 及び AST の増加），及び肝・腎における病理組織学的変化がみられた。これらの変化の程度は，両群で同等であった。一方，変化体A*を投与した群では，体重増加抑制のみがみられた。以上より，E7272 の投与後にみられた毒性は，主に製剤の有効成分*含量に関連していると考えられた。なお，変化体A*の血清中濃度は有効成分*と比べて低いことが明らかとなった。

2.6.6.9.3.2 ラットにおける不純物（変化体A*）の免疫原性評価（添付資料 4.2.3.7.6.2，報告書番号：[redacted]092［参考］）

前項（2.6.6.9.3.1 ）で述べた 3 つの変化体A*（変化体J*，変化体K* 及び 変化体L* ）の免疫原性について，E7272 及び有効成分*の免疫原性と比較した。

SD 雌ラット（10 例/群）に，E7272，有効成分*，変化体J*，変化体K* あるいは 変化体L* を，25 μg/kg/日の用量で 2 サイクル（各サイクルは 5 日間投与/3 週間）静脈内投与した。抗体価測定のため 19 日目及び 40 日目に採血し，ELISA による DD 抗体価と in vitro 細胞アッセイによる DD 中和抗体価（40 日目の試料のみ）を測定した。

E7272 投与後の 40 日目に，全てのラットで抗 DD 抗体が認められた。E7272 群のラットでは，中和抗体は認められなかったのに対し有効成分*群は，他の 4 群よりも抗 DD 中和抗体価が有意に高く，有効成分*は，E7272 より免疫原性が強いと考えられた。E7272 にのみポリソルベート 20 が含まれており他の被験物質と異なるが，ポリソルベート 20 の有無が抗原性発現に及ぼす影響は明らかでない。

2.6.6.9.4 その他の試験

2.6.6.9.4.1 In vitro における細胞毒性の種差（添付資料 4.2.3.7.7.1，[redacted]032［参考］）

DD に含まれる IL-2 はヒト型である。本剤の薬理作用の種差を確認するため，ヒト及びサルの末梢血から採取した T リンパ球並びにマウス及びラットの脾から採取した T リンパ球をそれぞれフィトヘマグルチニン（PHA）又はコンカナバリン A（ConA）で活性化し，タンパク質合成能を指標として E7272 の細胞障害性について比較した（表 2.6.6-23）。

表 2.6.6-23 In vitro における薬理作用（リンパ球細胞障害性）の種差

	マウス	ラット	サル	ヒト
使用細胞	Con A 活性化脾 T cells	Con A 活性化脾 T cells	PHA 活性化末梢血 T cells	PHA 活性化末梢血 T cells
IC_{50}	1.2×10^{-11} mol/L =0.012 nmol/L =0.696 ng/mL*	0.85×10^{-11} mol/L =0.009 nmol/L =0.522 ng/mL*	0.77×10^{-11} mol/L =0.008 nmol/L =0.464 ng/mL*	2.8×10^{-11} mol/L =0.028 nmol/L =1.62 ng/mL*

ConA：コンカナバリン A，IC_{50}：50%阻害濃度，PHA：フィトヘマグルチニン。

* 分子量=58kD.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

その結果，IC_{50} はマウス，ラット，サル，ヒトにおいて 0.008～0.028 nmol/L であり，薬理作用の種差はほぼ無いと考えられた。

2.6.6.9.4.2 免疫組織化学によるラットにおける IL-2R の分布（添付資料 4.2.3.7.7.2，[redacted]130［参考］）

抗ラット IL-2R 抗体を用い，ラット正常凍結組織（脾，肝，腎，肺，リンパ節，副腎[各組織 2 個体より採材]）における IL-2R の分布を免疫組織化学的に検討した。その結果，すべての臓器でリンパ球における強い陽性反応がみられ，細胞膜及び細胞の突起部分に IL-2R が局在することが示唆された。また，IL-2R 発現リンパ球は，気管支関連リンパ組織，リンパ節，脾などのリンパ組織内及び周辺組織，並びに，腎及び肝の門脈域における炎症部位で明らかであった。副腎において陽性反応を示した円形細胞がみられたが，細胞の特定には至らなかった。

2.6.6.9.4.3 免疫組織化学によるヒトにおける IL-2R の分布（添付資料 4.2.3.7.7.3，[redacted]131［参考］）

抗ヒト IL-2R 抗体を用い，ヒト正常凍結組織切片（脾，肝，腎，肺，リンパ節，副腎［各組織は 2 個体より採材］）における IL-2R の分布を免疫組織化学的に検討した。その結果，脾，リンパ節などのリンパ組織内のリンパ球，並びに，正常でもリンパ球が集簇している肝の門脈域及び肺の気管支周囲において軽度から中等度の陽性の特異的な反応がみられた。また，これらのリンパ球における陽性反応の分布から，IL-2R はリンパ球の細胞膜及び細胞の突起部分に局在することが示唆された。

2.6.6.9.4.4 ラットにおける [redacted] の毒性の違い（添付資料 4.2.3.7.7.4，報告書番号：[redacted]162［参考］）

E7272 の最終製剤は，2 種類の [redacted]，すなわち 変化体H* ([redacted]）と 変化体C* ([redacted]）をそれぞれ [redacted]%と [redacted]%含む。変化体H* は [redacted] の約 [redacted]%の in vitro 生物活性を示す。E7272，変化体H* 及び 変化体C* のラットにおける PK 及び毒性の違いを調べた。

SD 雌ラットに E7272，変化体H* 又は 変化体C* のそれぞれ 25 又は 75 μg/kg/日を 10 日間静脈内投与した。毎日一般状態観察を行い，投与 1，5 及び 11 日目に体重測定を行った。投与 11 日目に血液生化学的検査及び病理組織学的観察（肝・腎及び肉眼的異常部位）を行った。PK は，SD 雌ラット（3 群，各群 5 例）に 25 μg/kg/日を単回静脈内投与し，投与開始 5，10，20，30，45，60 分後に血液を採取し，生物活性と ELISA により調べた。

変化体C* の 75 μg/kg/日群一例で，10 日目に一般状態の悪化がみられたため安楽殺したが，その他の動物に死亡はみられなかった。25 μg/kg/日では投与約 8 日から，75 μg/kg/日では 5 日から，粗毛が見られた。変化体H* の 25 μg/kg/日では体重への影響はなかった。75 μg/kg/日では 1～5 日目までは体重増加抑制，投与 5 から 11 日目までは中程度の体重減少がみられた。E7272 と 変化体C* の体重への影響は 変化体H* より強く，25 μg/kg/日では 1～5 日目まで増加抑制，5～11 日目までは体重減少が，75 μg/kg/日では 1～5 日目までは軽度な体重減少，5～11 日目には重篤な体重減少がみられた。

肝障害はいずれの 25 μg/kg/日群でも認められなかったが，75 μg/kg/日では肝細胞の変性・壊死，

＊新薬承認情報提供時に置き換え

細胞質空胞化，有糸分裂の増加，肝細胞肥大が観察された。さらに，胆管上皮細胞の過形成が E7272 の 75 μg/kg/日群でみられた。毒性は E7272 と 変化体C* と比較し，変化体H* がわずかに弱かった。

いずれの投与群でも近位尿細管の変性・壊死（好塩基性尿細管，尿細管拡張及び単細胞壊死）が用量依存的にみられた。傷害の頻度と程度は全体的に 変化体C* が強かった。

PK パラメータに有意な差はなかった。

以上，原薬 E7272 と 2 種類の [redacted] に，軽度な毒性の差が認められたが，臨床上問題とならない程度であると考えられた。毒性は E7272 に比べ 変化体H* は弱く，変化体C* は強かった。PK に差はなかった。

2.6.6.9.4.5 マウスにおける DD 構造変異体における検討（添付資料 4.2.3.7.7.5，報告書番号：[redacted]016［参考］）

E7272 と 2 つの DD 構造変異体 $DA_{glu53}B_{389}$IL-2 及び DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ の毒性プロファイルを，マウスで比較した。$DA_{glu53}B_{389}$IL-2 は，分子中にジフテリア毒素部分の酵素活性を持たず，DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ は IL-2R への結合能を有さない。どちらも，in vitro で IL-2R 発現細胞株におけるタンパク質合成を阻害しない。

ICR マウス（各群雌 10 例）に E7272（82 μg/kg/日），$DA_{glu53}B_{389}$IL-2（74 μg/kg/日），DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$（81 μg/kg/日）又は媒体（リン酸緩衝生理食塩水）を，1 日 1 回，10 日間尾静脈内投与した。投与 11 日に体重測定後に剖検し，血液生化学的検査，病理組織学的検査を実施した。

その結果，E7272 群で体重減少，AST，ALT，LDH の上昇，肝細胞壊死，腎尿細管壊死がみられた。$DA_{glu53}B_{389}$IL-2 群及び DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ 群では，毒性は認められなかった。したがって E7272 による肝毒性の発現には，分子中の酵素活性及び IL-2R への結合領域の両方が必要であることが示唆された。

2.6.6.9.4.6 ラットにおける DD 構造変異体を用いた検討（添付資料 4.2.3.7.7.6，報告書番号：[redacted]093［参考］）

E7272 と 2 つの DD 構造変異体 $DA_{glu53}B_{389}$IL-2 及び DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ の毒性及び血清中濃度推移を，ラットで比較した。

SD ラット（各群雌 10 例）に E7272（50 μg/kg/日），$DA_{glu53}B_{389}$IL-2（200 μg/kg/日），DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$（200 μg/kg/日）又は媒体（生理食塩液）を，1 日 1 回，10 日間尾静脈より急速静脈内投与した。投与期間中，一般状態を観察した。投与 11 日に，体重測定後，採血（血液生化学的検査）及び剖検を行い，肝及び腎の病理組織学的検査を実施した。また，クリアランスの違いを確認するため，ラット（各群雌 5 又は 6 例）に E7272（50 μg/kg/日），$DA_{glu53}B_{389}$IL-2（200 μg/kg/日）又は DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$（200 μg/kg/日）を単回頚静脈投与し，投与 5，10，20，30，45，及び 60 分後に採血（0.5 mL）した。血清中の濃度は DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ は生物活性で，$DA_{glu53}B_{389}$IL-2 は ELISA 法で測定した。

E7272 の 10 日間連続投与群では，著しい体重減少や ALT 及び AST 値の上昇を伴う一般状態の悪化が認められた。また，肝及び腎で病理組織学的変化も確認された。類似の所見は，DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ の 10 日間連続投与群でも認められたものの，その頻度や程度は E7272 群と比較

＊新薬承認情報提供時に置き換え

して極めて軽度であった。媒体群及び$DA_{glu53}B_{389}$IL-2 群では，毒性所見は認められなかった。

いずれの構造改変タンパク質も，E7272 と比較して約 3 倍大きいクリアランスを示した。

以上の結果から，E7272 による毒性は，ジフテリア毒素の酵素及び IL-2R 結合ドメインの両方が必要であることが示唆された。一方で，IL-2R への結合能を有さない DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ の結果から，E7272 による毒性の一部には，非特異的な活性も関与することが考えられた。

2.6.6.9.4.7 ラットにおける DD 構造変異体における検討（添付資料 4.2.3.7.7.7，報告書番号：[redacted]131［参考］）

E7272 と 2 つの DD 構造変異体 $DA_{glu53}B_{389}$IL-2 及び DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ の病理組織学的変化と血液生化学的変化の機序について調べた。

SD ラット（各群雌 10 例）に E7272（25 μg/kg/日），$DA_{glu53}B_{389}$IL-2（170 μg/kg/日），DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$（112 μg/kg/日）又は媒体（20 mmol/L クエン酸ナトリウム，50 μmol/L EDTA，0.5%ポリソルベート 20）を 4 サイクル（各サイクルは 5 日間の投与期間と 2 日間の休薬期間），急速静脈投与し，一般状態の観察を行った。29 日目に，体重測定後剖検し，血液学的検査，血液生化学的検査及び病理組織学的検査（肝，腎，脾，肺及び肉眼的異常部位）を実施した。

その結果，E7272 群において，肝と腎での毒性及び肺における病理組織学的変化が認められた。これらの毒性変化は，$DA_{glu53}B_{389}$IL-2 群及び DAB_{389}IL-$2_{\Delta 8\text{-}19}$ 群では認められなかった。以上より，E7272 による毒性発現には，ジフテリア毒素の酵素及び IL-2R 結合ドメインの両方が，必要であることが確認された。

2.6.6.9.4.8 ウサギにおける高コレステロール食の毒性に及ぼす影響（添付資料 4.2.3.7.7.8，[redacted]068［参考］）

E7272 を雄 NZW ウサギに 7 日間静脈内投与し，その後 14 日間の観察期間において，E7272 の毒性における高コレステロール食の影響を評価した。E7272 は通常食又は高コレステロール食を与えた動物に 27 μg/kg/日（1000 kU/kg/日）投与し，陰性対照群は高コレステロール食を与えた動物にリン酸緩衝生理食塩水を投与した。

試験期間中，E7272 により全身性の顕著な毒性が認められた。死亡に至る経過は通常食と高コレステロール食で同様であった。

E7272 による肝及び腎毒性の程度に，餌による違いはみられなかった。肝障害は一時的な AST 及び ALT の増加，極軽度から軽度の組織学的変化（肝細胞壊死及び小葉中心性水腫性変性）を伴っていた。投与終了後に血清中の尿素窒素及びクレアチニンの増加が見られたが，2 週間の休薬後には，生存した動物ではほぼ正常範囲に戻った。腎においては軽度から中等度の組織学的変化（尿細管性ネフローシス）が見られ，試験終了時まで生存した動物では，これらの腎障害はやや弱かった。

肺の炎症及び出血，副腎の皮髄境界部の壊死は薬物由来の毒性であり，餌による違いは無かった。副腎の変化は死亡等につながる重篤なストレスに伴う典型的な変化であった。

リンパ組織における変化は，薬理作用に伴う変化であり，造血系の変化は 2 次的な変化と考えられた。血液中のリンパ球は投与後減少した。正球性正色素性貧血が両投与群で見られたが，高コレステロール食を与えた動物において変化の発現が早く，重篤だった。

高コレステロール食により悪化がみられた貧血を除いて，全身性並びに薬物投与に伴う毒性は両投与群で同様であった。高コレステロール食が E7272 投与による死亡や瀕死に顕著に影響を及ぼすことは無かった。

2.6.6.10 考察及び結論

本薬の安全性は，米国で既に承認されている旧製剤 E7272 を用いた in vitro 並びに複数の動物種を用いた in vivo 毒性試験，純度を向上させた新製剤である本薬のラットを用いた 3 サイクル並びに 7 サイクル投与毒性試験により評価した。

本薬及び E7272 の活性体 DD を構成する IL-2 はヒト型であるが，各動物種の T リンパ球を用いて E7272 のタンパク質合成に対する IC_{50} を比較すると，マウス，ラット，サル，ヒトにおいて 0.008～0.028 nmol/L であり，薬理作用の種差はほぼ無いと考えられ（添付資料 4.2.3.7.7.1，報告書番号 [redacted]032），ヒトの安全性予測を目的とする安全性試験にこれらの動物種を用いることは適切であると考えられた。なお，ジフテリア毒素部分と IL-2 部分をそれぞれ改変して作製したタンパク質を用いて E7272 と毒性を比較検討した結果，両部分とも毒性発現に必要と考えられた。

IL-2R の組織分布はラット及びヒト組織（脾，肝，腎，肺，リンパ節，副腎）を用いて免疫組織学的に検討した。いずれの種においてもそれぞれの臓器におけるリンパ球の細胞膜に陽性反応が見られた。

E7272 の毒性試験は，マウス，ラット，ウサギ及びサルを用いて行われたが，種並びに試験ごとに投与スケジュールが異なり（マウス：2～4 週間連投又は 5 日間/週の 2～4 週間連投，ラット：10 日間連投，5 日間/週の 2～4 週間連投又は 5 日間/2 週×3 又は 7 サイクル，ウサギ：7 日間連投，サル：2 週間連投，4 週間連投又は 15 日間/月×2 サイクル），中和抗体を含む抗体産生のタイミングも種によって異なることから，毒性発現用量の単純な比較は困難であった。しかしながら，類似の投与スケジュールの毒性試験の最大耐量を比較すると，短期連日反復投与（10～15 日間）においてサル<ラット≦マウスの順であった（表 2.6.6-24）が，1 ヵ月程度の投与においては顕著な差は見られず，臨床と同様の投与スケジュールのラット（試験番号 [redacted]059）とヒト（92-04-01 試験［第 1/2 相試験］）の最大耐量はほぼ同じであった。

表 2.6.6-24 E7272 反復投与毒性試験における最大耐量並びにヒト薬効量の比較

投与方法	試験番号	動物種	投与期間	投与量	最大耐量（μg/kg/日）
連日投与	[redacted]066	マウス	14 日間	0, 19, 38, 77, 164, 327, 653 μg/kg/日	164
	[redacted]015	マウス	14 日間	0, 85 μg/kg/日	>85
	[redacted]002	ラット	10 日間	0, 30, 75, 90 μg/kg/日	>90
	[redacted]067	サル	14 日間	31 μg/kg/日	>31
	[redacted]107	サル	15 日間	0, 2.5, 10, 25 μg/kg/日	10
	[redacted]014	マウス	28 日間	0, 8, 34 μg/kg/日	>34
	[redacted]107	サル	29～30 日間	0, 2.5, 10, 25 μg/kg/日	10

表 2.6.6-25　E7272 反復投与毒性試験における最大耐量並びにヒト薬効量の比較（続き）

投与方法	試験番号	動物種	投与期間	投与量	最大耐量（μg/kg/日）
間歇投与	■164	マウス	5 日間/週の 2/4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	10
	■163	ラット	5 日間/週の 2/4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	<10
	■059	ラット	5 日間/2 週，3 サイクル	0, 2, 10, 40 μg/kg/日	40
	92-04-01（第 1/2 相試験）	ヒト	5 日間/3 週，最大 8 サイクル	3～31 μg/kg/日	27

各動物種の毒性試験における所見を比較すると，その質的特徴は一致しており，毒性プロファイルの種差は無いと考えられた。すなわち，いずれの動物種においても食欲減退，活動性低下，体重減少，白血球及びリンパ球の減少，好中球の増加，アルブミンの低下等の変化がみられた。血液生化学的検査では肝及び腎障害が示唆され，組織学的にも高用量で肝細胞と腎尿細管上皮細胞の壊死等がみられた。また，いずれの動物種においても，特に高用量群で薬理作用に関連すると考えられるリンパ球又は好酸球の浸潤が多くの臓器でみられた。動物種間，試験間で一致していない変化として，血液電解質の増減なども見られたが，いずれも投与スケジュールあるいは MTD に近い高用量において，状態悪化に伴う二次的要因によるものと考えられた。

本薬は E7272 と同一のマスターセルバンクから得られており活性体は同じである。したがって，E7272 及び活性体の純度が高い本薬を用いて十分高い用量で実施した毒性試験結果は，その両製剤の毒性を評価するために相互に利用することができる。これまでに得られている両製剤の毒性所見の違いは，活性体の純度の差に基づく活性の違いを反映するものであると考えられる。以下に本薬と E7272 を直接比較し，そのプロファイルに差がないことを確認したラットの 6 週間間歇投与試験（添付資料 4.2.3.2.8，試験番号 1010-0351）の結果並びに他の E7272 試験結果も踏まえた考察についてまとめた。

表 2.6.6-26　E7777 及び E7272 毒性の比較まとめ

E7777/E7272 で差がみられた代表的項目	E7777 40 μg/kg/日で認められた所見	E7272 40 μg/kg/日で認められた所見	他の E7272 試験結果も踏まえた考察
死亡及び切迫屠殺数	♂：5/15，♀：3/15	♂：0/15，♀：0/15	E7272 の 40 μg/kg/日で明らかな体重減少等が認められ，約 2 倍の活性を持つ E7777 の等量投与は最大耐量を超える投与量（E7272 の 80 μg/kg/日相当）であったと考えられる。

表 2.6.6-26　E7777 及び E7272 毒性の比較まとめ

E7777/E7272 で差がみられた代表的項目	E7777 40 μg/kg/日で認められた所見	E7272 40 μg/kg/日で認められた所見	他の E7272 試験結果も踏まえた考察
一般状態／症状	♂：被毛の汚れの増加，便性状及び排便量の変化，活動性の低下，円背位，触知時冷感等 ♀：被毛の汚れの増加，便性状及び排便量の変化，活動性の低下，円背位等	♂：被毛の汚れの増加， ♀：被毛の汚れの増加，排便量の変化	被毛の汚れ，排便量の変化等は状態悪化に伴うもので，E7272 群でも認められる。その他の所見は過剰投与に伴う極度の状態悪化を反映した所見と考えられ，プロファイルは同等と考えられる。
体重(33 日目*)／摂餌量(29-33 日目*)	↓(♂：-35% / -44%，♀：-24% / -36%)	↓(♂：-20% / -22%，♀：-17% / -23%)	活性の差を反映して E7777 群のほうが強かったが，いずれも減少が認められた。
血液学的検査 （投与期間及び終了後）	♂：↑: 好中球，血小板，赤血球，ヘモグロビン，ヘマトクリット，平均赤血球容積，プロトロンビン時間，活性化部分トロンボプラスチン時間，↓: リンパ球 ♀：↑: 好中球，血小板，↓: 赤血球，ヘモグロビン，ヘマトクリット，平均赤血球容積，リンパ球	♂：↑:好中球，血小板，赤血球，ヘモグロビン，ヘマトクリット，↓:平均赤血球容積，リンパ球 ♀：↑: 好中球，↓: 赤血球，ヘモグロビン，ヘマトクリット，平均赤血球容積，リンパ球	両製剤で同様の毒性プロファイルがみられた。E7777 雄で認められた軽度の PT 又は APTT の延長は，肝障害に伴う変化と考えられた。
E7777/E7272 で差がみられた代表的項目	E7777 40 μg/kg/日で認められた所見	E7272 40 μg/kg/日で認められた所見	他の E7272 試験結果も踏まえた考察
血液生化学的検査 （投与期間及び終了後）	♂：↑: ALT，AST，ALP，γ-GT，尿素窒素，クレアチニン，↓: アルブミン，総コレステロール ♀：↑: ALT，AST，ALP，γ-GT，尿素窒素，クレアチニン ↓: アルブミン，総コレステロール	♂：↑: ALT，AST，γ-GT，↓: アルブミン，総コレステロール ♀：↑: ALT，AST， ↓: アルブミン，総コレステロール	E7777，E7272 いずれも肝毒性関連パラメータの変動が認められた。E7777 40 μg/kg/日でのみ腎毒性パラメータの変動がみられたが，E7272 においても他の毒性試験では高用量で腎への影響が確認されている。E7777 の中間用量（10 μg/kg/日）では E7272 40 μg/kg/日と同様，肝毒性パラメータの変動のみ認められていることから，量的な差のみで質的な違いはない。
病理組織学的検査（投与終了時）	肝，腎を含む各種臓器（♂34 臓器，♀30 臓器）へのリンパ球/好酸球浸潤，副腎：皮質空胞化，肝：クッパー細胞肥大，肝細胞単細胞壊死，腎：尿細管上皮の再生，鉱質沈着（♀）	肝，腎を含む各種臓器（♂28 臓器，♀23 臓器）へのリンパ球/好酸球浸潤，副腎：皮質空胞化，肝：クッパー細胞肥大，腎：尿細管上皮の再生，鉱質沈着（♀）	リンパ球又は好酸球浸潤は E7777 の方がより多くの臓器で，広範囲に，また強く認められているが，質的な差は認められていない。
免疫原性 （投与開始 28 日目の陽性動物	♂：1/14 ♀：1/15	♂：9/15 ♀：7/15	免疫系の細胞に及ぼす強い毒性のため，E7777 高用量群の免疫原性は弱かったと考えられた。

表 2.6.6-26　E7777 及び E7272 毒性の比較まとめ

E7777/E7272 で差がみられた代表的項目	E7777 40 μg/kg/日で認められた所見	E7272 40 μg/kg/日で認められた所見	他の E7272 試験結果も踏まえた考察
数／評価動物数）			E7777 の低用量群(2 μg/kg/日)では免疫原性は高く（83%），E7272 40 μg/kg/日と同等であった。

* 陰性対照群との比較

本薬投与群でより強い毒性が認められたが，純度の違いに基づくタンパク濃度あたりの活性の違いを反映する量的な差，あるいは状態悪化を反映したものと解釈することが妥当と考えられた。すなわち，活性体が同一の 2 製剤において毒性所見の質的な相違は認められず，本質的な毒性学的特徴（質的な毒性プロファイル）は同等であった。

E7272 の毒性に種差は無いことから，ICH ガイドライン（ICH S6 及び S9）に準じ，1 種のみ（ラット）を用いた本薬の 7 サイクル（14 週間間歇）投与毒性試験を行った。7 サイクル投与試験において 3 サイクル投与と同様の毒性が認められたが，長期投与により本薬に起因する変化の増強はみられず，むしろ抗薬物抗体の産生によると考えられる暴露の低下と毒性の減弱が見られた。これらの暴露の低下，毒性の減弱傾向は他の動物種（マウス，サル）を用いた比較的短期の反復投与試験（1～2 ヵ月）においても認められている。

本剤はタンパク質製剤であり，通常遺伝毒性試験は必要とされないが，E7272 で実施した in vitro の遺伝毒性試験は陰性であった。また，重篤かつ致死性の悪性腫瘍を有する患者の治療を目的として開発されるバイオ抗がん剤であることから，がん原性試験は実施していない。

E7272，本薬いずれにおいても胚，胎児に関する毒性試験は実施していない。ICH S9 においては，製造販売承認までに実施すべきとの記載があるが，発生毒性を誘発することが既に知られている系統の医薬品については必須でないとされている。本化合物はジフテリア毒素活性部分を含有する融合タンパク質の抗がん剤であり，その薬理作用も踏まえると，下記のとおり明らかな妊娠障害のリスクが想定された。

DD は IL-2R を発現する Treg を選択的かつ用量依存的に傷害することが in vitro，動物（Litzinger MT, et al., 2007, Knutson KL, et al., 2006），並びにヒト（Rasku MA, et al., 2008）で確認されており，本薬の抗腫瘍活性にも関連していると考えられている。Treg は腫瘍免疫回避に重要であるだけでなく，母体の免疫応答から胎児を守る妊娠時の免疫寛容にも重要な役割を果たすことから（Ruocco MG, et al., 2014; Robertson et al., 2018），Treg 数減少あるいは機能低下は，突発性の不妊，反復流産，子癇前症（preeclampsia），胎児発育遅延，子宮や妊娠組織における過剰な炎症など，胎盤不全による後発性妊娠合併症を起こす（Robertson, et al., 2018; Heitmann, et al., 2017; Ruocco, et al., 2014; Zenclussen, 2006）。加えて，Treg は胎盤形成や母体から胎盤への血流の確保に必須となる母体の血管形成の重要な調節因子としても知られている（Yamashita, et al. 2015）。

動物モデルにおいて，Treg は，炎症抑制，抗胎児アロ抗原 T エフェクター細胞による有害事象抑制，さらに胎盤形成に必要な血管形成等により，胎盤発達と妊娠の維持に必須の役割を果

たすことが知られており（Aluvihare, et al., 2004; Darrasse-Jèze, et al., 2006; Shima, et al., 2010; Zenclussen, et al., 2005; Bizargity, et al., 2009; Li, et al., 2017; Lin, et al., 2014; Care, et al., 2018; Samstein et al., 2012），その欠乏は妊娠損失（pregnancy loss）の原因になると考えられている。

以上のように，本薬の妊娠時の投与では，免疫系を介したリスク（Treg 減少）は明らかであるため，動物を用いた胚胎児毒性試験は実施しなかった。なお，DD の胎盤移行については[^{35}S] DD を用いた実験が行われており，胎児移行はわずか 1%程度で，胎児への蓄積もないことが報告されている（報告書番号[redacted]025）。

本薬において独立した局所刺激性試験は実施していないが，静脈内投与で実施した反復投与毒性試験において投与部位における局所刺激性を評価した。マウスにおいては E7272 の 164 μg/kg/日（41 μg/mL）投与群の病理組織学的検査において血管周囲の出血，炎症が高頻度にみられたが，一般症状，肉眼所見において異常所見はみられなかった。ラットにおいては本薬及び E7272 において 2 μg/kg/日（2 μg/mL）以上の投与群の病理組織学的検査で炎症反応の程度及び頻度の軽度な増加（CTD4.2.3.2.7［報告書番号 [redacted]059］），あるいは，リンパ球／好酸球の浸潤（CTD4.2.3.2.8［報告書番号 1010-0351］）が観察されたが，一般状態や肉眼検査では，いずれも 40 μg/kg（40 μg/mL）まで局所刺激性を示唆する異常所見はみられなかった。サルにおいては病理組織学的検査において E7272 の 10 μg/kg/日（60 μg/mL）以上の投与群で単核細胞／好酸球の浸潤あるいは炎症が観察されたが，一般状態や肉眼検査で異常所見は認められず，25 μg/kg（150 μg/mL）においても異常所見は認められなかった（CTD4.2.3.2.11［報告書番号 [redacted]107］）。一方，サルに E7272 の 31 μg/kg/日（329 μg/mL）を投与した際，紫斑及び血管周囲の出血が認められた（CTD4.2.3.2.10［報告書番号 [redacted]067］）が，病理組織学的検査で炎症性の変化は認められておらず，投与操作に起因したものと考えられた。

病理組織学的検査で見られた変化は，軽微ながら外傷が発生する静脈内投与の投与部位において，薬理作用に起因した炎症性変化がみられたものと考えられた。一方，一般症状あるいは肉眼所見では，マウスの最高濃度 163 μg/mL，ラットの 112 μg/mL，サルの 329 μg/mL においても局所刺激性を示唆する異常所見は認められなかった。

以上，本薬又は E7272 において，外傷が発生する静脈投与の投与部位に薬理作用に伴う炎症性変化が低濃度（2 μg/mL）でも発生する可能性はあるが，その変化は病理組織学的検査で確認される軽微なものであり，重篤な薬物性の局所刺激性は認められない。非臨床試験において，肉眼観察等で確認される明かな局所刺激性が認められない最大用量は 31 μg/kg/日（329 μg/mL）であった。

活性体である DD は組替え融合タンパク質であり，光吸収は一般的なタンパク質と同様 280 nm である。したがって，光反応性を考慮すべき光吸収の領域（290～700 nm）に入らない。また，ラットを用いた DD の組織分布の実験において，眼あるいは皮膚における DD 分布は投与量の 1%以下であった。ICH S10 ガイドラインにおいても光毒性試験はタンパク質に適用されず，E7272 及び本薬の光毒性評価は不要と考えられた。

E7272 は無毒性量において免疫機能の抑制を示さなかった（報告書番号：[redacted]020）。DD は細菌のタンパク質であるジフテリア毒素を含む融合タンパク質であることから，免疫原性はヒトを含めて全ての動物種で認められている。抗体の発現時期は動物種と投与スケジュールに依存し，抗体産生の程度は必ずしも投与量に依存しなかった。マウスでは最も早期から抗体産生がみら

れ，中和抗体のレベルも高かった。この結果が，ラットやサルに比較して，マウスでは長期反復投与の際に忍容性が高かった理由と考えられる。また，上記の知見と同様に，サルにおいても抗体の産生の時期と毒性の減弱がみられる時期とは関連があると考えられた。本薬のラットの 3 サイクル試験と 7 サイクル試験の結果を比較すると，7 サイクル投与の投与後期に，一部の動物では本薬を血清中に検出することができず，毒性の減弱も見られた。なお，抗 DD 抗体の毒性に及ぼす影響を調べるために，事前に E7272 を皮下投与（静脈内投与する約 3 週間前に 50 μg/動物を 1 日 1 回，3～4 日間皮下投与して免疫する）したラットの実験（報告書番号[redacted]150，[redacted]151）において，高い抗 DD 抗体レベルを示す動物への E7272 投与により，投与直後に重篤な活動性の低下とチアノーゼが一過性に観察された。同様の投与直後の重篤な活動性の低下とチアノーゼなどは 7 サイクル投与試験を含む他の試験では認められず，臨床においても同様の所見は認められていないことから，皮下投与等による強い免疫化などの特異な実験条件が関与すると考えられた。

反復投与毒性試験において，マウス，ラット，サルに共通した毒性の標的臓器は肝及び腎であり，一部の試験においては肝細胞と腎尿細管上皮細胞の壊死がみられた。肝毒性並びに腎毒性検討のため，E7272 を用いていくつかの検討試験が行われた。ラット肝腎初代培養細胞を用いた実験では，非常に高い暴露量でのみ，非特異的エンドサイトーシスによると考えられるタンパク質合成阻害が認められたが，ヒトの肝，腎スライスを用いた実験ではタンパク質合成に対する影響は認められなかった。また，ヒト各種初代培養細胞（上皮，腎，内皮，平滑筋，ケラチノサイト［角化細胞］及び線維芽細胞）においても細胞毒性は認められなかった。

E7272 並びに本薬の臨床上の重要なリスクとして，毛細血管漏出症候群，infusion reaction，及び視力障害が報告されている。毛細血管漏出症候群においては，臨床において浮腫，低血圧及び，低アルブミン血症を伴う事が知られている。ラット並びにサルの毒性試験においては，血清アルブミンの低値は見られるものの，ヒトで見られるような典型的な浮腫等の症状は見られていない。動物における低アルブミンは，肝障害による可能性も考えられることから，臨床の低アルブミン血症と同様の変化であるかどうかは明らかでない。一般に毛細血管漏出症候群に伴う浮腫はサイトカインの上昇並びに毛細血管の透過性亢進が関連することが知られていることから（Baluna et al., 1997; Druey et al., 2010），ラットを用いたサイトカイン放出並びに毛細血管透過性の検討を行った。これらの試験には，E7272 と同様に臨床において毛細血管漏出症候群を生じることが知られている IL-2 を比較対象とした。IL-2 投与群においては血漿中 IFNγ のレベルの上昇並びに一部の臓器で透過性指数の明かな上昇（+50%～100%）が見られたが，浮腫を含む一般症状の変化はみられなかった。E7272 投与群においては血漿中サイトカインへの明らかな影響はみられず，軽度の透過性指数の変化（+20%～30%）は認められたものの，動物の状態は良好であり，臨床で認められる変化は認められなかった。一連の検討において，毛細血管漏出症候群で見られる一部の変化（血清アルブミンの低値，透過性指数の上昇）は見られたものの，最終診断に至る重篤な一般症状の変化は見られないことから，動物におけるメカニズム解明は困難であった。ヒト特異的な変化の有無を確認するため，ヒト血管内皮細胞を用いた in vitro 実験も行ったが，E7272 の直接作用は認められなかった。

Infusion reaction については，いずれの動物においてもヒトで認められるような症状は認められていない。

E7272 の第 3 相試験において，E7272 投与群における眼に関する有害事象及び重篤な有害事象の発現率はプラセボ群と比較してやや高い傾向にあったが，5%以上発現した有害事象はいずれの群においても認められなかった。しかしながら，2 例（0.8%）で 3 件の重篤な有害事象（失明，黄斑症及び網膜症）が報告され，「関連あり」とされている（添付資料 5.3.5.4.2 の Listing 201 及び添付資料 5.3.5.4.3 の Listing 201 参照）。米国における E7272 の製造販売後情報において，E7272 投与後に視力低下が報告されており，通常は色覚異常を伴い，網膜色素の斑点形成を伴う場合と伴わない場合がある旨が報告されている。E7272 で認められているこれらの眼障害は発生頻度が低く，マウス，ラット及びサルの毒性試験では眼の異常所見は認められていないことから，非臨床試験でその潜在的リスクを確認することは困難と考えられた。

本薬及び E7272 において，変化体N*以上の変化体A*が含まれることから，その毒性並びに免疫原性を E7272 で評価した。その結果，変化体A*も含む E7272 の投与後にみられた毒性は，主に有効成分*含量に関連していると考えられた。なお，変化体A*は有効成分*より免疫原性が低く，血液中からも急速に除去されることも明らかとなり，毒性に関する寄与はごく限定的と考えられた。

DD は[redacted]が一定割合混在しており，本薬の規格として変化体H* が[redacted]%以上，変化体C* が [redacted]%～[redacted]%と規定されている。このそれぞれの変異型のばらつきによって毒性の違いが出るかどうかを確認するためにラットを用いてE7272と，それぞれ精製した変異型の毒性の差を確認した（報告書番号[redacted]162）。その結果，PK に差は無く，毒性はいずれの変異型においても同様だが，比較すると E7272（変化体H*[redacted]%，変化体C*[redacted]%を含む）に比べ 変化体H* が弱く，変化体C* は強かった。上述のように製剤中のばらつきは 変化体C* の変動範囲を [redacted]%～[redacted]%に制御しており，臨床において，この変動による活性並びに毒性に及ぼす影響はないと考えられた。

高コレステロール食は毒性に影響を与えなかった。

以上から，E7272 の毒性プロファイルは本薬と同等であり，また E7272 及び本薬に，毒性の種差は無いと考えられた。主な毒性所見は，高用量では肝及び腎毒性が見られ，薬理作用に関連すると考えられるリンパ球／好酸球の浸潤が各種臓器で見られた。活性体である DD は細菌のタンパク質であるジフテリア毒素を含む融合タンパク質であることから免疫原性が全ての動物種で認められた。いずれの動物においても連投により抗薬物抗体が産生され，暴露量の低下や毒性の減弱が認められた。本薬は Treg を選択的かつ用量依存的に障害し，動物でも人でも妊娠障害あるいは流産を引き起こすことが報告されていることから，生殖発生毒性試験は実施しなかったが，妊婦又は妊娠している可能性のある女性には，投与すべきではないと考えられた。

本薬と同一の DD を有効成分とする E7272 において，臨床上の重要なリスクとして毛細血管漏出症候群，infusion reaction，及び視力障害が報告されているが，いずれも非臨床毒性試験で関連する所見は認められなかった。臨床においてはこれらについて，慎重なモニターが必要と考えられた。

本薬投与による毒性については，E7272 及び本薬を用いた包括的な非臨床安全性試験により適切に評価されたと考えられた。

2.6.6.11 図表

図表は本文中に記載した。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.12 参考文献

Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. Nat Immunol. 2004;5(3):266–71.

Baluna R1, Vitetta ES. Vascular leak syndrome: a side effect of immunotherapy. Immunopharmacology. 1997;37(2-3):117-32.

Bizargity P, Del Rio R, Phillippe M, Teuscher C, Bonney EA. Resistance to lipopolysaccharide-induced preterm delivery mediated by regulatory T cell function in mice. Biol Reprod. 2009;80(5):874–81.

Care AS, Bourque SL, Morton JS, Hjartarson EP, Robertson SA, Davidge ST. Reduction in regulatory T cells in early pregnancy causes uterine artery dysfunction in mice. Hypertension. 2018;72(1):177–87.

Darrasse-Jèze G, Klatzmann D, Charlotte F, Salomon BL, Cohen JL. CD4+CD25+ regulatory/suppressor T cells prevent allogeneic fetus rejection in mice. Immunol Lett. 2006;102(1):106–9.

Druey KM, Greipp PR. Narrative review: the systemic capillary leak syndrome. Ann Intern Med. 2010; 153(2):90-8.

Heitmann RJ, Weitzel RP, Feng Y, Segars JH, Tisdale JF, Wolff EF. Maternal T regulatory cell depletion impairs embryo implantation which can be corrected with adoptive T regulatory cell transfer. Reprod Sci. 2017;24(7):1014-24.

Knutson KL, Dang Y, Lu H, Lukas J, Almand B, Gad E, et al. IL-2 immunotoxin therapy modulates tumor-associated regulatory T cells and leads to lasting immune-mediated rejection of breast cancers in neu-transgenic mice. J Immunol. 2006;177(1):84-91.

Li L, Tu J, Jiang Y, Zhou J, Schust DJ. Regulatory T cells decrease invariant natural killer T cell-mediated pregnancy loss in mice. Mucosal Immunol. 2017;10(3):613–23.

Lin Y, Liu X, Shan B, Wu J, Sharma S, Sun Y. Prevention of CpG-induced pregnancy disruption by adoptive transfer of in vitro-induced regulatory T cells. PLoS One. 2014;9(4):e94702.

Litzinger MT, Fernando R, Curiel TJ, Grosenbach DW, Schlom J, Palena C. IL-2 immunotoxin denileukin diftitox reduces regulatory T cells and enhances vaccine-mediated T-cell immunity. Blood. 2007;110(9):3192-201.

Rasku MA, Clem AL, Telang S, Taft B, Gettings K, Gragg H, et al. Transient T cell depletion causes regression of melanoma metastases. J Transl Med. 2008;6:12.

Robertson SA, Care AS, Moldenhauer LM. Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnancy: J Clin Invest. 2018: 128(10):4224-4235.

Ruocco MG, Chaouat G, Florez L, Bensussan A, Klatzmann D. Regulatory T-cells in pregnancy: historical perspective, state of the art, and burning questions. Front Immunol. 2014;5:Article 389.

Samstein RM, Josefowicz SZ, Arvey A, Treuting PM, Rudensky AY. Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. Cell. 2012;150(1):29-38.

Shima T, Sasaki Y, Itoh M, Nakashima A, Ishii N, Sugamura K, et al. Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance of early pregnancy but not late pregnancy in allogeneic mice. J Reprod Immunol. 2010;85(2):121–29.

Yamashita T, Sasaki N, Kasahara K, Hirata K. Anti-inflammatory and immune-modulatory therapies for preventing atherosclerotic cardiovascular disease. J Cardiol. 2015;66(1):1–8.

Zenclussen AC, Gerlof K, Zenclussen ML, Sollwedel A, Bertoja AZ, Ritter T, et al. Abnormal T-cell reactivity against paternal antigens in spontaneous abortion: adoptive transfer of pregnancy-induced CD4+CD25+ T regulatory cells prevents fetal rejection in a murine abortion model. Am J Pathol. 2005;166(3):811–822.

Zenclussen AC. Regulatory T cells in pregnancy. Springer Semin Immunopathol. 2006;28(1):31-9.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 13
2.6.7.5 単回投与毒性試験 16
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 17
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 21
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 83
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 83
2.6.7.10 がん原性試験 83
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 83
2.6.7.12 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 83
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 83
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 83
2.6.7.15 局所刺激性試験 83
2.6.7.16 光安全性試験 84
2.6.7.17 その他の毒性試験 84

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：E7272 及び E7777[a]

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	報告書/試験番号	CTD における記載箇所
単回投与毒性	マウス/ICR	腹腔内投与	単回投与	0, 7.5, 15, 30 μg/例	非適	[redacted]	[redacted]012[b, c, d]	4.2.3.1.1
	モルモット/Hartley			0, 75, 150, 450 μg/例				
	ラット/SD	皮下投与	単回投与	0, 2430 μg/kg/日	非適[e]	[redacted]	[redacted]093[d]	4.2.3.1.2
反復投与毒性	マウス/ICR	静脈内投与	14 日間	0, 19, 38, 77, 164, 327, 653 μg/kg/日	適[f]	[redacted]	[redacted]066[c]	4.2.3.2.1
	マウス/ICR	静脈内投与	14 日間	0, 85 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]015[d]	4.2.3.2.2
	マウス/ICR	静脈内投与	5 日間/週の 2 又は 4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]164[c]	4.2.3.2.3
	マウス/ICR	静脈内投与	4 週間	0, 8, 34 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]014[d]	4.2.3.2.4
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/週の 2 又は 4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]163[c]	4.2.3.2.5
	ラット/SD	静脈内投与	10 日間	0, 30, 75, 90 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]002[c, d]	4.2.3.2.6
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/2 週間の 3 サイクル	0, 2, 10, 40 μg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]059[c, d]	4.2.3.2.7
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/2 週間の 3 サイクル	0, 2, 10, 40 μg/kg/日	適	[redacted]	57650	—[g]
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/2 週間の 3 サイクル	0, 2, 10, 40 μg/kg/日[h]	適	[redacted]	1010-0351	4.2.3.2.8
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/2 週間の 7 サイクル	0, 2, 10, 20 μg/kg/日	適	[redacted]	B[redacted]0280	4.2.3.2.9
	サル/カニクイ	静脈内投与	2 回（3 日間隔）	25 μg/kg/日	適	[redacted]	57651	—[g]
	サル/カニクイ	静脈内投与	14 日間	31 μg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]067[c, d]	4.2.3.2.10
	サル/カニクイ	静脈内投与	15 日間, 29~30 日間, 44 日間又は, 15 日間投与/14 日間休薬/15 日間投与	0, 2.5, 10, 25 μg/kg/日	適 (非適[i])	[redacted]	[redacted]107[c, d] [redacted]117[c, d, i]	4.2.3.2.11 4.2.3.2.12

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：E7272 及び E7777[a]

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
遺伝毒性[j]	ネズミチフス菌及び大腸菌	In vitro	－	0, 0.9375, 1.875, 3.75, 7.5 15 μg/plate	適[j]	[redacted]	[redacted]110[c,d]	4.2.3.3.1.1
	チャイニーズハムスター卵巣細胞	In vitro	－	0, 1, 2, 3 μg/mL	適[j]	[redacted]	[redacted]109[c,d]	4.2.3.3.1.2
免疫毒性試験	マウス/B6C3F$_1$	静脈内投与	10 日間	0, 36 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]020[c,d]	4.2.3.7.2.1
	マウス/ICR	静脈内投与	10 日間	0, 36, 106 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]013[c,d]	4.2.3.7.2.2
	ラット/SD	静脈内投与	3 又は 14 日間	0, 25, 100 μg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]150[c,d]	4.2.3.7.2.3
毒性発現の機序に関する試験	ラット初代培養肝細胞，クッパー細胞，及び腎近位尿細管上皮細胞	In vitro	－	0.06~11529 ng/mL (1×10^{-12}~2×10^{-7} mol/L)	適[e]	[redacted]	[redacted]111[c,d]	4.2.3.7.3.1
	ヒト肝及び腎スライス	In vitro	－	0.06~576 ng/mL (1×10^{-12}~1×10^{-8} mol/L)	適[e]	[redacted]	[redacted]068[c,d]	4.2.3.7.3.2
	ヒト初代培養細胞	In vitro	－	0.3~576 ng/mL	非適	[redacted]	[redacted]066[c,d]	4.2.3.7.3.3
	ヒト初代培養細胞	In vitro	－	0.6~5765 ng/mL (1×10^{-11}~1×10^{-7} mol/L)	非適	[redacted]	[redacted]114[c,d]	4.2.3.7.3.4
	ラット/SD	静脈内投与	単回・10 日間	0, 25 μg/kg/日	適[e]	[redacted]	[redacted]151[c,d]	4.2.3.7.3.5
	ラット/SD	静脈内投与	単回・10 日間	0, 50 μg/kg/日	適[e]	[redacted]	[redacted]153[c,d]	4.2.3.7.3.6

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：E7272 及び E7777[a]

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
不純物の毒性試験	ラット/SD	静脈内投与	10 日間	0, 75 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]122[d]	4.2.3.7.6.1
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/3 週間の 2 サイクル	25 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]092[d]	4.2.3.7.6.2
その他の試験	マウス，ラット，サル，ヒトの脾臓細胞，又は末梢血単核球細胞	In vitro	－	0.006~576 ng/mL (1×10^{-13}~1×10^{-8} mol/L)	非適	[redacted]	[redacted]032[c,d]	4.2.3.7.7.1
	ラットの種々の臓器・組織	－	－	－	非適	[redacted]	[redacted]130[c,d]	4.2.3.7.7.2
	ヒトの種々の臓器・組織	－	－	－	非適	[redacted]	[redacted]131[c,d]	4.2.3.7.7.3
	ラット/SD	静脈内投与	10 日間	0, 25, 75 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]162[c,d]	4.2.3.7.7.4
	マウス/ICR	静脈内投与	10 日間	0, 82 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]016[c,d]	4.2.3.7.7.5
	ラット/SD	静脈内投与	10 日間	0, 50, 200 μg/kg/日	非適	[redacted]	[redacted]093[c,d]	4.2.3.7.7.6
	ラット/SD	静脈内投与	5 日間/週の 4 週間	0, 25, 112, 170 μg/kg/日	適[e]	[redacted]	[redacted]131[c,d]	4.2.3.7.7.7
	ウサギ/NZW	静脈内投与	7 日間	31μg/kg/日 (1000 kU/kg/日)	適	[redacted]	[redacted]068[c,d,k]	4.2.3.7.7.8

－=該当せず, GLP =医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準, CHO細胞 = チャイニーズハムスター卵巣由来細胞，DD = Denileukin diftitox, IL-2R = インターロイキン-2 受容体，ICR = Institute of Cancer Research，NZW = New Zealand white，SD = Sprague Dawley。

a：添付資料4.2.3.2.8（試験番号：1010-0351）ではE7272及びE7777，添付資料4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）ではE7777を使用した。試験番号57650及び57651では，ライガンド社のE7272改良凍結乾燥製剤を用いた。その他の試験ではE7272を使用した。

b：異常毒性否定試験のための用量設定

c：ONTAK®（E7272）の FDA 米国承認申請時の毒性試験パッケージとして提出された試験

d：ライガンド社において実施された試験で試験資料の所在が確認できなかった試験

e：FDAのGLP認証を受けていない試験施設でGLP試験として行われ，生データ等の資料も所在不明であった。

f：ライガンド社からの委託で実施されたが，実施施設は既に閉鎖されており，試験資料は非GLP施設で保管されている。また，入手した最終報告書に署名等の欠落がある。

g：ONTAK®（E7272）のFDAの迅速承認（1999年）時，完全承認の条件となった製剤の純度の問題を解決するため，ライガンド社で開発された改良凍結乾燥

製剤を用いて20[redacted]年にGLP試験として実施されたが，その試験の投与検体分析で実投与量が著しく低かったことから，報告書は最終化されずに放置されていた。20[redacted]年，試験実施CRO（[redacted]）から弊社への連絡で，試験の存在が明らかとなった。ドラフト報告書の内容を確認したところ，既報と比較して新たな所見は見られないこと，前述のように投与量が不明で報告書も最終化されていないことから，評価の対象としないこととした。

h：E7272投与群は，40 μg/kg/日のみ設定した。

i：サル2週，4週間反復投与及び6週間間歇投与毒性試験（添付資料4.2.3.2.11 [[redacted]107]）で得られた血漿サンプルを用いてGLP適用外でトキシコキネティクス試験を行った。

j：E7272を用いて実施されたが，ICHに基づいて不要であるため評価の対象としない。

k：この試験は外部共同研究者の口頭報告を確認するために行われたが，その影響は確認されなかった。

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：E7272 及び E7777[a]

試験の種類	試験系	投与方法	投与量[a]	GLP 適用	試験番号	CTD における記載箇所
5 日間/週の 2 又は 4 週間投与	マウス	静脈内投与	0, 10, 25 μg/kg/日	非適	[redacted]164	4.2.3.2.3
5 日間/週の 2 又は 4 週間投与	ラット	静脈内投与	0, 10, 25 μg/kg/日	非適	[redacted]163	4.2.3.2.5
10 日間投与[b]	ラット	静脈内投与	25, 75 μg/kg/日	非適	[redacted]002	4.2.3.2.6
5 日間/2 週間の 3 サイクル投与	ラット	静脈内投与	0, 2, 10, 40 μg/kg/日	適	[redacted]059	4.2.3.2.7
5 日間/2 週間の 3 サイクル投与	ラット	静脈内投与	40.53 μg/kg/日	適	DMPKAP20[redacted]-063	4.2.2.2.3
5 日間/2 週間の 7 サイクル投与	ラット	静脈内投与	0, 2, 10, 20 μg/kg/日	適	E[redacted]0280	4.2.3.2.9
14 日間投与	サル	静脈内投与	31 μg/kg/日	適	[redacted]067	4.2.3.2.10
15 日間，29~30 日間，44 日間又は，15 日間投与/14 日間休薬/15 日間投与	サル	静脈内投与	0, 2.5, 10, 25 μg/kg/日	非適	[redacted]117	4.2.3.2.12
10 日間投与毒性[b]（[redacted]）	ラット	静脈内投与	25 μg/kg/日	非適[c]	[redacted]162	4.2.3.7.7.4
10 日間投与[b]（構造変異体）	ラット	静脈内投与	50（E7272），200（構造変異体） μg/kg/日	非適	[redacted]093	4.2.3.7.7.6

a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：E[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。
b：10 日間投与試験内でトキシコキネティクスの評価は単回投与で実施された。
c：FDA の GLP 認証を受けていない試験施設で GLP 試験として行われた。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

C_0, C_{5min} 又は C_{max} 値														
投与量（μg/kg/日）	動物種	マウス[b]			ラット[c]			ラット[d]					ラット[e]		
	性別		雌			雌			雄		雌			雄	雌
	測定法（単位）	投与日	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)	投与日	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)	投与日	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)	投与日	ELISA (ng/mL)	ELISA (ng/mL)
2		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	29.89	29.87
		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	29	37.28	20.47
10		1	70.075	8336	1	232.926	28122	–	–	–	–	–	1	103.2	104.3
		12	56.479	6082	12	155.383	13640						29	20.99	129.2
		26	27.468	5931	26	185.229	14113						–	–	–
25		1	269.054	42936	1	579.129	70646	1	591	64410	526	78052	–	–	–
		12	212.808	37997	12	542.201	76499						–	–	–
		26	119.343	18848	26	436.456	79855						–	–	–
40		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	676.8	519.8
		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	29	233.3	645.6
75		–	–	–	–	–	–	1	2450	276525	2221	220038	–	–	–

– = データなし。

a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。

b：C_{5min}，5 日間/週の 2 又は 4 週間投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.3［試験番号：[redacted]164］）。

c：C_{5min}，5 日間/週の 2 又は 4 週間投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.5［試験番号：[redacted]163］）。

d：C_{max}，10 日間投与毒性試験内でトキシコキネティクスの評価は単回投与で実施された。（添付資料 4.2.3.2.6［試験番号：[redacted]002］）。

e：C_{max}，5 日間/2 週間の 3 サイクル投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.7［試験番号：[redacted]059］）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

C_0，C_{5min} 又は C_{max} 値									
投与量 (μg/kg/日)	動物種	ラット[b]					ラット[c]		
	性別		雄		雌			雄	雌
	測定法 (単位)	投与日	ELISA (ng/mL)	Bioassay (ng/mL)	ELISA (ng/mL)	Bioassay (ng/mL)	投与日	ELISA (ng/mL)	ELISA (ng/mL)
2		–	–	–	–	–	1	34.3	34.5
							29	41.1	37.7
							85	47.4	52.8
10		–	–	–	–	–	1	224	286
							29	158	159
							85	NC	NC
20		–	–	–	–	–	1	551	579
							29	202	218
							85	NC	NC
40.53 (E7272)		1	771	587	1156	875	–	–	–
		5	568	477	981	774	–	–	–
		29	1130	678	1151	354	–	–	–
40.53 (E7777)		1	1165	1463	1248	1357	–	–	–
		5	1189	1568	946	1079	–	–	–
		29	2079	1527	1421	810	–	–	–

–= データなし，NC＝Not calculated.
a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。
b：C_0，5 日間/2 週間の 3 サイクル投与試験（添付資料 4.2.2.2.3［試験番号：DMPKAP20[redacted]-063］）。
c：C_0，5 日間/2 週間の 7 サイクル投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.9［試験番号：B[redacted]0280］）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

C_0，C_{5min} 又は C_{max} 値								
投与量（μg/kg/日）	動物種	サル[b]			サル[c]			
	性別		雄	雌		雄		雌	
	測定法（単位）	投与日	Bioassay (U/mL)	Bioassay (U/mL)	投与日	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)	ELISA (ng/mL)	Bioassay (U/mL)
2.5		–	–	–	1	51	6918	44	6165
					15	49	3407	41	2610
					29	57	–	27	–
10		–	–	–	1	259	24449	257	23106
					15	280	16888	196	13020
					29	270	–	270	22639
25		–	–	–	1	381	39978	464	52957
					15	397	28705	415	57853
					29/30	206	2359	217	–
					44	382	–	443	14642
31		1	119033	70367	–	–	–	–	–

– = データなし。

a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。

b：C_0，14 日間投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.10［試験番号：[redacted]067］）。

c：C_{max}，15 日間，29~30 日間，44 日間又は，15 日間投与/14 日間休薬/15 日間投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.12［試験番号：[redacted]117］）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

AUC，$AUC_{(0-t)}$，$AUC_{(0-inf)}$又は$AUC_{(0-5h)}$値									
投与量（μg/kg/日）	動物種	ラット[b]					ラット[c]		
	性別		雄		雌			雄	雌
	測定法（単位）	投与日	ELISA (ng·min/mL)	Bioassay (U·min/mL)	ELISA (ng·min/mL)	Bioassay (U·min/mL)	投与日	ELISA (ng·h/mL)	ELISA (ng·h/mL)
2		–	–	–	–	–	1	25.71	16.41
							29	18.43	11.14
10		–	–	–	–	–	1	107.5	92.38
							29	15.10	42.98
25		1	32936	2940675	19405	2313144	–	–	–
40		–	–	–	–	–	1	416.9	477.7
							29	49.08	207.5
75		1	119124	11530458	84322	8473450	–	–	–

– = データなし。
a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。
b：AUC，10 日間投与毒性試験内でトキシコキネティクスの評価は単回投与で評価された。（添付資料 4.2.3.2.6［試験番号：[redacted]002］）。
c：AUC_{0-t}，5 日間/2 週間の 3 サイクル投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.7［試験番号：[redacted]059］）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

AUC，$AUC_{(0-t)}$，$AUC_{(0-inf)}$又は$AUC_{(0-5h)}$値									
投与量（μg/kg/日）	動物種	ラット[b]					ラット[c]		
	性別		雄		雌			雄	雌
	測定法（単位）	投与日	ELISA (ng·h/mL)	Bioassay (ng·h/mL)	ELISA (ng·h/mL)	Bioassay (ng·h/mL)	投与日	ELISA (ng·h/mL)	ELISA (ng·h/mL)
2		–	–	–	–	–	1	14.1	13.3
							29	21.7	14.4
							85	27.9	22.9
10		–	–	–	–	–	1	161	164
							29	84.9	66.3
							85	NC	NC
20		–	–	–	–	–	1	392	310
							29	57.4	94.7
							85	NC	NC
40.53 (E7272)		1	760	253	761	297	–	–	–
		5	662	375	850	359	–	–	–
		29	640	233	501	200	–	–	–
40.53 (E7777)		1	852	687	716	516	–	–	–
		5	806	632	645	622	–	–	–
		29	731	665	648	315	–	–	–

–= データなし，　NC＝Not calculated。

a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。

b：AUC_{0-inf}，5 日間/2 週間の 3 サイクル投与試験（添付資料 4.2.2.2.3［試験番号：DMPKAP20[redacted]-063］）。

c：AUC_{0-5h}，5 日間/2 週間の 7 サイクル投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.9［試験番号：B[redacted]0280］）。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

被験物質：E7272 及び E7777[a]

AUC，$AUC_{(0\text{-}t)}$，$AUC_{(0\text{-}inf)}$又は$AUC_{(0\text{-}5h)}$値						
投与量（μg/kg/日）	動物種	サル[b]				
	性別		雄		雌	
	測定法（単位）	投与日	ELISA (ng·min/mL)	Bioassay (U·min/mL)	ELISA (ng·min/mL)	Bioassay (U·min/mL)
2.5		1	2151[c]	243286[c]	2434[d]	291719[d]
		15	2004[c]	173378[c]	1960[c]	184294[c]
		29	691[d]		679[c]	
10		1	13098[c]	1294700[c]	8257[c]	978078[d]
		15	17991[d]	1149960[d]	14211[c]	803796[c]
		29	3502[d]	–	7501[d]	403503[g]
25		1	20812[c]	2507075[c]	23130[f]	2707924[h]
		15	32093[c]	2210642[i]	20021[c]	2711695[f]
		29/30	4906[d]	122682[g]	8511[d]	–
		44	5507[g]	–	9153[g]	914024[g]

–= データなし。
a：添付資料 4.2.3.2.9（試験番号：B[redacted]0280）では E7777 を使用した。その他の試験では E7272 を使用した。
b：AUC，15 日間，29~30 日間，44 日間又は，15 日間投与/15 日間休薬/15 日間投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.12［試験番号：[redacted]117］）。
c：n=3
d：n=2
e：n=6
f：n=7
g：n=1
h：n=8
i：n=4

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：E7272 及び E7777

バッチ（ロット）番号	純度（%）［規格値（%）］	タンパク濃度（μg/mL）［規格値（μg/mL）］	不純物（%）［規格値（%）］	試験番号	試験の種類，動物種
E7272					
[redacted]	[redacted][a] ［–］	[redacted][b] ［–］	– ［–］	[redacted]013	免疫毒性試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]020	免疫毒性試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]032	その他の試験，マウス，ラット，サル，ヒトの脾臓細胞，又は末梢血単核球細胞（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［–］	[redacted][b] ［–］	– ［–］	[redacted]014	28 日間投与毒性試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]066	14 日間投与毒性試験，マウス（GLP 適）
				[redacted]067	14 日間投与毒性試験，サル（GLP 適）
				[redacted]015	14 日間投与毒性試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]032	その他の試験，マウス，ラット，サル，ヒトの脾臓細胞，又は末梢血単核球細胞（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［–］	[redacted][b] ［–］	– ［–］	[redacted]016	その他の試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]032	その他の試験，マウス，ラット，サル，ヒトの脾臓細胞，又は末梢血単核球細胞（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［–］	[redacted][b] ［–］	– ［–］	[redacted]068	その他の試験，ウサギ（GLP 適）
[redacted]	[redacted][a] ［[redacted]～[redacted]］	[redacted][b] ［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]020	免疫毒性試験，マウス（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	[redacted][b] ［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]032	その他の試験，マウス，ラット，サル，ヒトの脾臓細胞，又は末梢血単核球細胞（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	[redacted] ［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]002	10 日間投与毒性試験，ラット（GLP 非適）

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：E7272 及び E7777

バッチ（ロット）番号	純度（%）	タンパク濃度（μg/mL）［規格値（μg/mL）］	不純物（%）［規格値（%）］	試験番号	試験の種類，動物種
E7272（続き）					
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	[redacted] ［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]002	10 日間投与毒性試験，ラット（GLP 非適）
				[redacted]066	毒性発現の機序に関する試験，ヒト初代培養細胞（GLP 非適）
				[redacted]114	毒性発現の機序に関する試験，ヒト初代培養細胞（GLP 非適）
				[redacted]122	不純物の毒性試験，ラット（GLP 非適）
				[redacted]092	不純物の毒性試験，ラット（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	[redacted] ［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]164	5 日間/週の 2 又は 4 週間投与毒性試験，マウス（GLP 非適）
				[redacted]163	5 日間/週の 2 又は 4 週間投与毒性試験，ラット（GLP 非適）
				[redacted]059	5 日間/2 週間の 3 サイクル投与毒性試験，ラット（GLP 適）
				[redacted]107 [redacted]117	15 日間，29~30 日間，44 日間又は，15 日間投与/14 日間休薬/15 日間投与毒性試験，サル（GLP 適；[redacted]117 は非適）
				[redacted]110	遺伝毒性試験，ネズミチフス菌及び大腸菌（GLP 適）
				[redacted]109	遺伝毒性試験，チャイニーズハムスター卵巣細胞（GLP 適）
				[redacted]150	免疫毒性試験，ラット（GLP 適）
				[redacted]066	毒性発現の機序に関する試験，ヒト初代培養細胞（GLP 非適）
				[redacted]114	毒性発現の機序に関する試験，ヒト初代培養細胞（GLP 非適）
				[redacted]111	毒性発現の機序に関する試験，ラット初代培養肝細胞，クッパー細胞，及び腎近位尿細管上皮細胞（GLP 適）

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：E7272 及び E7777

バッチ（ロット）番号	純度（%）	タンパク濃度（μg/mL）［規格値（μg/mL）］	不純物（%）［規格値（%）］	試験番号	試験の種類，動物種
E7272 （続き）					
[redacted]（続き）				[redacted]151	毒性発現の機序に関する試験，ラット（GLP 適）
				[redacted]153	毒性発現の機序に関する試験，ラット（GLP 適）
				[redacted]093	その他の試験，ラット（GLP 非適）
				[redacted]131	その他の試験，ラット（GLP 適）
				[redacted]162	その他の試験，ラット（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]012	単回投与毒性試験，マウス及びモルモット（GLP 非適）
[redacted]	[redacted][a] ［≥[redacted]］	［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	[redacted]012	単回投与毒性試験，マウス及びモルモット（GLP 非適）
[redacted]	– ［–］	– ［–］	– ［–］	[redacted]093	単回投与毒性試験，ラット（GLP 非適）
E7777					
[redacted]P[c]	[redacted][b] ［≥[redacted]］	［[redacted]～[redacted]］	– ［–］	1010-0351	5 日間/2 週間の 3 サイクル投与毒性試験，ラット（GLP 適用）
[redacted]	[redacted][d] ［≥[redacted]］	［[redacted]～[redacted]］	[redacted] ［≤[redacted]］	E[redacted]0280	5 日間/2 週間の 7 サイクル投与毒性試験，ラット（GLP 適用）

–：該当せず。
a：Monomer content。
b：タンパク定量法の変更（BCA protein assay → HPSEC assay）に伴い値が修正された（[redacted]）。
c：最終報告書中では，improved process E7272 と記載されている。
d：RP-HPLC assay。
※ロット番号不明：[redacted]068

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：E7272 及び E7777

動物種/系統	投与方法（媒体）	投与量	性別及び一群の動物数	試験における最大耐量	概略の致死量	特記すべき所見	報告書番号
マウス/ICR	腹腔内（生理食塩液）	0, 7.5, 15, 30 μg/例/日	雌：10	7.5 μg/例	15 μg/例	7.5: 軽度の体重減少 15: 死亡（Lot [redacted], 1 例） ≥15: 被毛の汚れ 30: 死亡（Lot [redacted], 7 例, [redacted], 5 例）	[redacted]012
モルモット/Hartley	腹腔内（生理食塩液）	0, 75, 150, 450 μg/例/日	雌：10	150 μg/例	450 μg/例	≥75: 軽度の体重減少 450: 死亡（Lot [redacted], 8 例, Lot [redacted], 6 例）	
ラット/SD	皮下（クエン酸緩衝液 [a]）	0, 2430 μg/kg/日	雄：10, 雌：10	>2430 μg/kg/日	>2430 μg/kg/日	2430: 軽度の体重減少（投与後 7 日まで） 3 日目：軽度の肝逸脱酵素（AST, ALT, SDH, ALP）の上昇 15 日目：雄 2 例の ALT の高値を除いて異常なし	[redacted]093

a: 100 μmol/L グルタチオン，3 %マンニトール，0.35% ポリソルベート 20 を含む 12 mmol/L クエン酸塩，50 μmol/L EDTA，pH 7.2.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：E7272 及び E7777

動物種/系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	最大耐量	特記すべき所見	報告書番号
マウス/ICR	静脈内(リン酸緩衝生理食塩水)	14 日間	0, 19, 38, 77, 164, 327, 653 μg/kg/日	雌：10	164 μg/kg/日	≥19: 体重増加抑制，肺（出血，急性炎症），リンパ組織（リンパ球減少と過形成） ≥38: 腎間質の炎症 77: 肺（壊死） ≥77: 体重減少，腎（好酸球浸潤，尿細管壊死），肝（壊死，髄外造血の亢進，脂肪変化），副腎（皮髄境界部壊死），脾（リンパ球減少と過形成），胸腺（壊死，胸腺細胞減少），大腿骨（骨髄の造血亢進），AST，ALT の上昇 164: 肺（慢性炎症） ≥164: 活動性の低下 327: 削痩，死亡（2 例），瀕死（8 例） ≥327: 粗毛，姿勢異常，異常呼吸，BUN，クレアチニンの上昇 653: ALP の上昇，死亡（4 例），瀕死（6 例）	[redacted]066
マウス/ICR	静脈内(リン酸緩衝生理食塩水)	14 日間	0, 85 μg/kg/日	**雌**：20	>85 μg/kg/日	85: 粗毛，体重減少，AST，ALT 上昇及び肝細胞壊死 2 週間回復群：1 例は ALT が高かったが，その他の毒性は回復	[redacted]015

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：E7272 及び E7777

動物種/系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	最大耐量	特記すべき所見	報告書番号
マウス/ICR	静脈内（生理食塩液）	5 日間/週の 2 又は 4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	雌： 5（対照群） 60（2 週間投与群） 45（4 週間投与群）	10 μg/kg/日	10: 29 日目（2 週間投与）カリウム, AST, ALT, T-Bil の上昇 ≥10: 肝細胞の空胞化（グリコーゲンの蓄積），脾のリンパ球過形成，肺の肉芽腫性炎症（回復期，25μg/kg/日の 2 週間投与群を除く），抗 DD 抗体，抗 DD 中和抗体の形成（15 日目以降） 25: 死亡（1 例，17 日目），体重減少（22 日目まで），15 日目（2 週間投与）及び 29 日目（4 週間投与）；AST, ALT, T-Bil の上昇，グロブリンの減少（15 日目）又は増加（29 日目）	[redacted]164
マウス/ICR	静脈内（リン酸緩衝生理食塩水）	4 週間	0, 8, 34 μg/kg/日	雌：10	>34 μg/kg/日	34: AST, ALT の上昇（1 例）	[redacted]014

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：E7272 及び E7777

動物種/系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	最大耐量	特記すべき所見	報告書番号
ラット/SD	静脈内（生理食塩液）	5 日間/週の 2 又は 4 週間	0, 10, 25 μg/kg/日	雌：5（対照群） 雌：40（2 週間投与群） 35（4 週間投与群）	<10 μg/kg/日	10: 死亡（1 例），瀕死（2 例），体重の増加抑制（4 週間投与群） ≥10: 被毛の汚れ，衰弱，削痩（4 週間投与群），電解質の異常，A／G 比の低下，ALT， LDH，γ-GT の上昇，肺（慢性炎症），脾（リンパ球過形成），肝 CYP 量の減少（4 週間投与群，10 μg/kg/日は 1 例），エリスロマイシン N-脱メチル体活性の誘導（4 週間投与群） 25: 死亡（4 例），瀕死（11 例），体重減少，活動性の低下，AST，BUN の増加，腎（好塩基性尿細管）と肝（多巣性単核細胞浸潤） 休薬後 ≥10: 電解質の異常，γ-GT, LDH の増加，脾，肝，腎，肺の病理変化（脾，肝：回復傾向あり）	[redacted]163

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：E7272 及び E7777

動物種/系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	最大耐量	特記すべき所見	報告書番号
ラット/SD	静脈内（生理食塩液）	10 日間	0, 30, 75, 90 μg/kg/日	雌雄：各 10～15	>90 μg/kg/日	30: 体重の増加抑制 ≥30: 腎（尿細管上皮細胞の壊死及び再生），肝（炎症細胞浸潤，肝細胞壊死［90 は壊死の所見なし］）	[redacted]002
						≥75: 粗毛，削痩，体重減少，AST, ALT の上昇 90: 活動性の低下	
サル	静脈内（生理食塩液）	14 日間	31 μg/kg/日	雌雄：各 3	>31 μg/kg/日	31: 投与部位の紫斑，粘膜蒼白，軽度の脱水，体重減少，白血球及びリンパ球の減少，単球の増加，AST，ALT，クレアチニンの上昇，アルブミンの減少 雌 1 例を 昏睡状態により早期剖検（29 日目），リンパ節（リンパ球減少），肝臓（急性炎症，髄外造血，胆管上皮肥大，微小膿瘍）及び胆嚢（急性炎症），骨髄（赤血球系骨髄細胞及び幼若巨核球の増加），貧血	[redacted]067

CYP = シトクロム P450，DD = Denileukin diftitox，ICR = Institute of Cancer Research，SD = Sprague Dawley，SDH = ソルビトール脱水素酵素。
a: 100 μmol/L グルタチオン，3 %マンニトール，0.35% ポリソルベート 20 を含む 12 mmol/L クエン酸塩，50 μmol/L EDTA，pH 7.2.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験［参考資料］　　被験物質：E7272

種/系統： ラット/SD	投与期間： 33 日間 (間歇投与)	試験番号： [redacted]059
投与開始時週齢： 8 ~9 週齢, 9~11 週齢（TK 群）	休薬期間： 各投与サイクル後 9 日	CTD の場所： 4.2.3.2.7
投与開始日: 19[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日	投与方法： 静脈内	試験施設： [redacted]
NOAEL： ＜2 μg/kg/日	媒体： 注射用生理食塩水	GLP 適否： 適
特記事項： 3 サイクル投与（各サイクルは 5 日間投与後 9 日間休薬）		

群番号	1		2		3		4	
投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40	
動物数 (主試験群/回復群/TK 群)	雄：10/5/0	雌：10/5/0	雄：10/5/37	雌：10/5/37	雄：10/5/37	雌：10/5/37	雄：10/5/37	雌：10/5/37
TK:C_{max}（ng/mL）[a]								
1 日目[b]	NA	NA	29.89	29.87	103.2	104.3	676.8	519.8
29 日目[b]	NA	NA	37.28	20.47	20.99	129.2	233.3	645.6
TK: $AUC_{(0-t)}$（ng·h/mL）[a]								
1 日目[b]	NA	NA	25.71	16.41	107.5[c]	92.38	416.9	477.7
29 日目[b]	NA	NA	18.43	11.14[c]	15.10[c]	42.98	49.08[c]	207.5
瀕死/死亡	0 / 0	0 / 0	0 / 1[d]	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
特記すべき所見								
一般状態								
検査動物数（主試験群）	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
耳介の肥厚	0	0	0	0	0	2	0	1
耳介の発赤	0	0	0	0	0	2	1	1
色素性鼻汁	0	0	1	1	0	0	1	0
紅涙	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7.1　反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）		0（対照群）		2		10		40	
体重 [e]									
検査動物数		雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
	13 日目	337.33 g	223.53 g	+1	+1	0	–2	**–8**	**–7**
	27 日目	382.40 g	254.47 g	+2	0	–1	**–6**	**–10**	**–13**
	32 日目	391.13 g	255.13 g	+2	0	–1	**–6**	**–11**	**–12**
	41 日目	419.60 g	273.00 g	+2	–1	–4	–8	**–9**	**–10**
体重増加量 [e]									
検査動物数		雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
	13 日目	85.33 g	36.27 g	+3	+7	–2	–15	**–33**	**–41**
	27 日目	130.40 g	67.20 g	+6	–1	–4	**–23**	**–31**	**–48**
	32 日目	139.13 g	67.87 g	+4	0	–4	**–23**	**–30**	**–44**
	41 日目	162.00 g	82.60 g	+7	0	–7	–27	**–22**	**–25**
摂餌量（g/例/日）[e]									
検査動物数		雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
	13 日目	23.36 g	16.58 g	+3	+2	–1	+2	**–15**	**–16**
	27 日目	23.26 g	17.25 g	+2	+2	–4	–1	**–14**	**–16**
	32 日目	23.20 g	17.22 g	+2	+1	–3	–2	**–12**	**–14**
	41 日目	23.25 g	17.56 g	+3	–1	–5	–1	**–10**	**–13**
血液学的検査									
検査動物数		雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
白血球数（$\times 10^3/\mu L$）									
	5-6 日目	11.42	9.94	12.87	10.43	10.34	8.38	**7.98**	**6.77**
	19-20 日目	10.70	8.42	11.97	8.59	9.83	7.29	**7.44**	**6.01**
	33-34 日目 [f]	8.93	8.49	10.77	8.14	11.26	7.73	**11.41**	8.57
	42-43 日目	9.02	7.74	11.00	6.95	**14.00**	7.91	**12.19**	10.27

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40	
血液学的検査								
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
リンパ球数（×10³/μL）								
5-6 日目	10.16	8.76	11.28	9.32	8.80	7.30	**5.78**	**5.42**
19-20 日目	9.48	7.44	10.32	7.76	7.46	6.38	**5.82**	**4.60**
33-34 日目 [f]	7.51	6.88	9.17	7.21	9.21	6.49	9.18	7.20
42-43 日目	7.70	6.54	9.72	5.92	**11.94**	6.56	**10.50**	9.04
好中球数（×10³/μL）								
5-6 日目	0.600	0.560	0.760	0.400	0.740	0.520	**1.360**	0.840
19-20 日目	0.540	0.500	0.840	0.280	1.400	0.360	1.220	**0.840**
33-34 日目 [f]	0.790	1.044	0.870	0.433	0.870	0.567	**1.289**	0.600
42-43 日目	0.680	0.660	0.640	0.500	**1.160**	0.760	**0.960**	0.620
血液生化学的検査								
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
AST（IU/L）								
5-6 日目	62.80	60.00	62.60	67.80	66.00	68.80	**84.20**	**80.00**
19-20 日目	60.40	68.80	63.20	66.00	**71.60**	67.40	**88.40**	**86.60**
33-34 日目 [f]	64.6	64.3	60.7	69.0	69.6	70.1	**94.5**	**84.0**
42-43 日目	59.80	63.40	58.80	61.40	66.40	57.40	**68.60**	64.40
ALT（IU/L）								
5-6 日目	26.20	24.20	28.60	25.60	32.60	25.60	**34.80**	27.80
19-20 日目	20.60	21.00	23.20	22.60	**30.00**	25.20	**36.20**	**28.60**
33-34 日目 [f]	23.10	16.70	20.60	16.70	24.90	16.90	**29.70**	**21.70**
42-43 日目	19.80	16.00	19.40	18.80	**23.60**	17.80	**22.20**	20.40
尿検査（7, 21, 35, 41 日目）	—	—	—	—	—	—	—	—
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40	
精子検査（32, 41 日目）								
検査動物数（32 日目/41 日目）	雄：10/5	雌：0	雄：10/5	雌：0	雄：9/5	雌：0	雄：10/5	雌：0
精子濃度	—	NA	—	NA	—	NA	—	NA
精子運動能	—	NA	—	NA	—	NA	—	NA
精子断片化	—	NA	—	NA	—	NA	—	NA
酵素誘導（33 日目）	—	—	—	—	—	—	—	—
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
免疫原性（抗 DD 抗体）								
検査動物数（TK 群）	雄：0	雌：0	雄：37	雌：37	雄：37	雌：37	雄：37	雌：37
陽性動物頻度 [g]								
–1 日目	NA	NA	0/37	0/37	0/37	0/37	0/37	1/37
14 日目 [b]	NA	NA	0/37	0/37	7/37	0/37	11/37	3/37
28 日目 [b]	NA	NA	24/36	22/37	35/37	31/37	37/37	36/37
臓器重量								
検査動物数（34 日目/43 日目）	雄：10/5	雌：10/5	雄：10/5	雌：10/5	雄：10/5	雌：10/5	雄：10/5	雌：10/5
腎臓（相対重量, mg/100g）								
34 日目	668.6	644.6	683.8	673.4	685.4	680.0	**754.3**	**721.0**
43 日目	645.4	652.6	668.4	650.0	670.0	635.8	675.4	688.2
肝臓（相対重量, g/100g）								
34 日目	2.575	2.570	2.679	2.669	**2.826**	2.647	**2.895**	**2.851**
43 日目	2.616	2.632	2.720	2.452	2.636	2.470	2.700	2.740
脾臓（相対重量, mg/100g）								
34 日目	207.1	264.0	217.5	264.9	222.3	304.5	**284.6**	**385.7**
43 日目	182.6	293.0	176.6	264.4	**210.2**	271.8	**212.0**	311.4
副腎（相対重量, mg/100g）								
34 日目	13.24	27.13	12.15	30.44	**10.39**	29.96	**11.76**	26.18
43 日目	12.70	28.36	12.30	24.48	**9.38**	25.98	**10.96**	23.32

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）		0（対照群）		2		10		40	
肉眼検査（34 日目）									
検査動物数		雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
脾臓									
	大型	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺									
	大型	0	0	0	0	0	0	0	1
精巣									
	小型	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
前立腺									
	小型	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
精巣上体									
	小型	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
肉眼検査（43 日目）									
検査動物数		雄：5	雌：0	雄：5	雌：0	雄：5	雌：0	雄：5	雌：0
前立腺									
	小型	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
検査動物数		雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：0	雌：2	雄：0	雌：1
耳介									
	肥厚	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA	1

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日））	0（対照群）		2		10		40	
投与に起因する白血球浸潤の発生頻度								
病理組織学的検査（34 日目）								
検査動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
腎臓	0	0	0	1	4	4	10	8
膀胱	0	0	0	0	0	1	0	1
肝臓	0	0	1	2	7	9	9	9
気管	0	0	0	0	0	0	1	1
肺	3	6	5	5	4	6	9	10
縦隔	0	0	0	0	0	0	0	1
脾臓	0	0	0	0	1	1	5	4
リンパ節	0	0	0	0	1	1	1	2
膵臓	0	0	0	0	0	0	0	1
舌	0	0	0	0	0	0	1	0
胃	0	0	0	0	0	0	2	1
直腸	0	0	0	0	1	0	0	0
子宮頸部	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
精巣上体	0	NA	3	NA	1	NA	9	NA
前立腺	2	NA	4	NA	4	NA	8	NA
精嚢	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
皮膚	0	0	0	0	0	0	1	1
ハーダー腺	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺	0	0	0	0	0	0	1	2
検査動物数	雄：0	雌：1	雄：2	雌：0	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0
腹膜	NA	1	2	NA	NA	NA	NA	NA

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40	
投与に起因する白血球浸潤の発生頻度								
病理組織学的検査（43 日目）								
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
腎臓	0	0	0	0	0	1	3	3
膀胱	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓	0	0	0	0	1	3	2	4
気管	0	0	0	0	0	0	1	0
肺	2	3	0	3	1	3	2	3
脾臓	0	0	0	0	0	1	0	0
舌	0	0	0	0	0	0	1	1
胃	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣上体	0	NA	2	NA	2	NA	4	NA
前立腺	0	NA	4	NA	2	NA	4	NA
大脳	0	0	0	0	0	0	0	1
耳介	0	0	0	0	0	2	0	1
投与に起因するその他の変化と一次的変化に付随する二次的変化の発生頻度								
病理組織学的検査（34 日目）								
検査動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
腎臓								
水腎症	1	0	0	0	0	0	1	0
尿細管の鉱質沈着	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣								
精子発生減少	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
投与部位								
炎症反応	7	6	9	9	10	9	10	9

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：E7272：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7272

投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40	
投与に起因するその他の変化と一次的変化に付随する二次的変化の発生頻度								
病理組織学的検査（34 日目）								
検査動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
副腎								
皮質，空胞化	0	0	1	0	2	0	9	7
眼								
全眼球炎	0	0	1	0	0	0	0	0
投与に起因するその他の変化と一次的変化に付随する二次的変化の発生頻度								
病理組織学的検査（43 日目）								
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
気管								
硝子滴沈着	0	0	0	0	0	0	1	0
肺								
出血	0	0	0	0	1	0	0	0
精巣上体								
精子肉芽腫	0	NA	0	NA	2	NA	0	NA
投与部位								
炎症	3	2	3	2	4	4	2	3
副腎								
皮質，空胞化	0	0	0	0	2	0	3	1

AUC = area under the concentration-time curve from zero time to the last time of quantifiable concentration，C_0 = concentration at zero time，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準，NA = 該当せず，SD = Sprague Dawley，TK = トキシコキネティクス，“—” = 特記すべき所見なし。
一元配置分散分析後の多重比較検定（Turkey の検定）において対照群との比較で有意差が認められた数値を太字で表記
a: 1 時点 3 例の平均値を示す。
b: 最終報告書では投与初日を雄では 0 日目，雌では 2 日目としているため，見かけ上の日付が異なる。
c: $AUC_{(0.08\text{-}t)}$ を示す。
d: 13 日目の抗体価測定用の採血直後に TK 群の 1 例が死亡し別の動物と差し替えた。
e: 対照群は実測値を表記。投与群に関しては対照群からの変化率を%で表記。
f: 33-34 日目の検査動物数は 9～10 例の平均値を示す。
g: 抗体価 3（1：125）以上を陽性とした。

2.6.7.7.2 **反復投与毒性試験：E7777：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験**　　**被験物質**：E7777 (E7272)

種/系統： ラット/SD	投与期間： 33 日間（間歇投与）	試験番号： 1010-0351
投与開始時週齢： 8～9 週齢	休薬期間： 各投与サイクル後 9 日	CTD の場所： 4.2.3.2.8
投与開始日： 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日	投与方法： 静脈内	試験施設： [redacted]
NOAEL： ＜2 μg/kg/日	媒体： 注射用生理食塩水	GLP 適否： 適
特記事項： 3 サイクル投与（各サイクルは 5 日間投与後 9 日間休薬）		

群番号	1		2		3		4		5	
被験物質	－		E7777		E7777		E7777		E7272	
投与量（μg/kg/日）	0（対照群）		2		10		40		40	
検査動物数（主試験群/回復群）	雄：10 /5	雌：10 / 5	雄：10 / 5	雌：10 / 5	雄：10 /5	雌：10 / 5	雄：10 /5	雌：10 / 5	雄：10 /5	雌：10 / 5
瀕死/死亡	0	0	0	0	0	0	5[a]	3[a]	0	0
特記すべき所見（投与期間）										
一般状態										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
自発運動の低下	0	1	0	0	1	1	2	3	0	0
触知時冷感	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
部分閉眼	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
糞変色（黄色）	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
糞量の減少	0	0	0	0	0	2	8	5	0	7
被毛の汚れ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
被毛の濡れ	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0
円背位	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
ポルフィリンによる汚れ	5	12	9	9	10	14	15	13	10	14

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：E7777：ラットにおける6週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7777 (E7272)

被験物質	－		E7777		E7777		E7777		E7272	
投与量(μg/kg/日)	0（対照群）		2		10		40		40	
特記すべき所見（投与期間　続き）										
一般状態										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
不安定な呼吸数	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
皮膚緊張度の低下	0	0	0	0	0	0	5	3	0	0
削痩	0	0	0	0	0	0	7	3	0	0
振戦	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
つま先歩行	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
特記すべき所見（回復期間）										
一般状態										
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
自発運動の低下	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0
触知時冷感	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0
部分閉眼	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
糞変色（黄色）	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
糞量の減少	0	0	0	0	0	0	5	3	0	0
被毛の濡れ	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0
円背位	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
ポルフィリンによる汚れ	1	2	1	3	4	5	5	4	2	4
皮膚緊張度の低下	0	0	0	0	0	0	4	3	0	0
削痩	0	0	0	0	0	0	4	3	0	0

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：E7777：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7777 (E7272)

被験物質		―		E7777		E7777		E7777		E7272	
投与量(μg/kg/日)		0（対照群）		2		10		40		40	
体重（g）[b]											
検査動物数		雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
	5 日目	344	229	1	0	–1	–1	–4	–7 t	–3	–4
	14 日目	416	262	0	–1	–4	–6	**–17** t	**–11** t	–11 t	–11
	19 日目	442	269	0	–2	**–7** t	**–8** t	**–24** t	**–19** t	–15 t	–16
	28 日目	501	293	–2	–2	**–9** t	**–9** t	**–30** t	**–17** t	–19 t	–14
	33 日目	506	297	–2	–3	**–9** t	**–10** t	**–35** t	**–24** t	–20 t	–16
検査動物数		雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：2	雌：3	雄：5	雌：5
	42 日目	535	311	–3	–1	–8	–8	–43	**–28** t	–16	–18
摂餌量（g/例/日）[b]											
検査動物数		雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
	1 - 5 日目	34.2	23.4	2.3	–4.3	–4.7	**–10.3** t	**–16.4** t	**–29.5** t	–12.0	–19.7 t
	6 - 15 日目	37.4	26.8	1.1	–4.1	**–9.6**	**–15.7** t	**–32.4** t	**–27.6** t	–18.4 t	–24.3
	15 -19 日目	35.7	24.8	–1.1	–9.7 t	**–12.6** t	**–18.5** t	**–39.5** t	**–43.5** t	–26.6 t	–35.5
	20 - 29 日目	38.3	26.3	0.0	–2.7	**–9.4** t	**–14.1** t	**–31.1** t	**–18.3** t	–23.5	–22.8
	29 - 33 日目	34.9	24.9	2.0	–8.4	–9.5	**–17.7** t	**–44.1** t	**–36.1** t	–21.5 t	–22.9
検査動物数		雄：4	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：4	雌：4	雄：5	雌：5
	34 - 37 日目	35.7	25.9	2.2	0.4	–3.4	–17.8	**–89.4** t	**–49.4**	–9.0 t	–26.3

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：E7777：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7777 (E7272)

被験物質	−		E7777		E7777		E7777		E7272	
投与量(μg/kg/**日**)	0（対照群）		2		10		40		40	
血液学的検査（6 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：14	雌：14	雄：15	雌：15
白血球数（×10⁹/L）	12.74	9.28	**10.06**	8.05	**8.08** t	**6.57** t	**7.61** t	**6.17** t	7.90	5.26
好中球数（×10⁹/L）	1.03	0.62	0.93	0.45	**0.55** t	0.50	1.06	0.89	0.83	0.59
リンパ球数（×10⁹/L）	11.27	8.35	**8.74**	7.33	**7.20** t	**5.82** t	**6.12** t	**4.93** t	6.65	4.40
単球数（×10⁹/L）	0.19	0.11	0.19	0.09	0.16	0.09	0.23	**0.17** t	0.22	0.10 t
好酸球数（×10⁹/L）	0.09	0.10	0.10	0.09	0.07	0.08	0.08	0.09	0.08	0.08
好塩基球数（×10⁹/L）	0.07	0.04	0.05	0.04	**0.04** t	0.04	0.07	0.04	0.05	0.03
血液学的検査（20 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：14	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：14	雌：14	雄：14	雌：15
白血球数（×10⁹/L）	11.43	8.37	10.36	7.87	**7.66** t	**5.72** t	**8.75** t	**6.32**	7.05	4.71
好中球数（×10⁹/L）	1.12	0.61	1.05	0.72	0.74 t	0.56	**2.43** t	**1.75** t	1.05 t	0.61 t
リンパ球数（×10⁹/L）	9.86	7.47	8.92	6.85	**6.56** t	**4.90** t	**5.61** t	**3.95** t	5.42	3.78
単球数（×10⁹/L）	0.23	0.12	0.19	0.12	0.16	0.12	**0.40** t	**0.36** t	0.29	0.14 t
好塩基球数（×10⁹/L）	0.06	0.03	0.05	0.04	0.04	0.03	**0.11** t	**0.06** t	0.09	0.04
網赤血球数（×10⁹/L）	287.9	221.1	307.3	242.8	330.7	225.8	**216.0** t	180.5	342.6 t	200.2
血液学的検査（34 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：14	雄：15	雌：14	雄：13	雌：10	雄：15	雌：14
赤血球数（×10¹²/L）	8.41	7.87	8.44	8.11	8.28	8.08	8.10	7.39	7.97	7.68
ヘモグロビン濃度（g/dL）	15.5	14.9	15.5	15.2	15.0	15.1	**14.4**	**13.4** t	14.3	14.2
ヘマトクリット値（L/L）	0.46	0.44	0.46	0.45	0.45	0.44	**0.43**	**0.39** t	0.43	0.42
平均赤血球容積（fL）	55.6	55.8	54.9	55.8	54.6	55.1	**52.8** t	**53.2** t	54.0	54.3
血小板数（×10⁹/L）	1057	1178	1224	1328	1179	1199	**1500** t	1629	1327	1317
白血球数（×10⁹/L）	12.07	6.86	11.26	7.62	9.93	5.39	14.30	8.48	11.28	7.29
好中球数（×10⁹/L）	1.01	0.63	0.96	0.42	0.89	0.40	**4.28** t	**2.76** t	1.48 t	1.03 t
単球数（×10⁹/L）	0.23	0.13	0.24	0.14	0.32	0.13	**0.88** t	**0.59** t	0.44 t	0.27
好酸球数（×10⁹/L）	0.10	0.10	0.13	0.10	0.17	0.11	**0.40** t	0.16	0.28	0.23
好塩基球数（×10⁹/L）	0.06	0.02	0.05	0.03	0.08	0.04	**0.21**	**0.07** t	0.12	0.07

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：E7777：ラットにおける 6 週間間歇反復投与毒性試験　　**被験物質**：E7777 (E7272)

被験物質	－		E7777		E7777		E7777		E7272	
投与量(μg/kg/**日**)	0（対照群）		2		10		40		40	
血液学的検査（34 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：14	雄：15	雌：14	雄：13	雌：10	雄：15	雌：14
網赤血球数（×10^9/L）	263.1	193.7	263.8	247.4	**329.6** t	260.3 t	206.0	237.5	367.7 t	301.8
血液学的検査（43 日目）										
検査動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：2	雌：3	雄：5	雌：5
ヘモグロビン濃度（g/dL）	14.6	14.5	14.7	14.3	14.7	14.4	14.3	**11.6**	14.0	13.5
ヘマトクリット値（L/L）	0.43	0.43	0.45	0.42	0.44	0.42	0.43	**0.34**	0.42	0.40
平均赤血球容積（fL）	53.1	55.4	53.8	56.7	53.5	54.4	53.0	51.7 t	53.8	55.3 t
血液凝固検査（34 日目）										
検査動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：9	雄：10	雌：8	雄：7	雌：9	雄：10	雌：9
プロトロンビン時間（Sec）	18.9	18.5	18.8	19.0	19.1	19.3	**19.9**	19.5 t	19.8	19.4
活性化部分トロンボプラスチン時間（Sec）	21.1	21.1	22.2	20.6	21.6	22.1	**25.2** t	21.0	21.2 t	20.9
血液生化学的検査（6 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：14	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
ナトリウム（mmol/L）	146	146	147	146	146	146	**147** t	146	147	145
カリウム（mmol/L）	5.64	5.27	5.85	5.35	5.62	5.24	5.36	5.01	5.43	5.15
クロール（mmol/L）	104	105	105	105	104	105	105	105	105	106
カルシウム（mmol/L）	2.69	2.65	2.70	2.61	2.68	2.61	**2.53** t	**2.48** t	2.59	2.54 t
無機リン（mmol/L）	3.24	2.78	3.25	2.67	**3.03** t	2.62	**2.60** t	**2.25** t	2.83 t	2.33
AST（U/L）	142	137	146	146	164	**173** t	**284** t	**252** t	182 t	214 t
ALT（U/L）	36	30	36	29	40	**37** t	**72** t	**48** t	48 t	40 t
ALP（U/L）	259	136	243	138	277	158	**313**	**195** t	254	168
血液生化学的検査（20 日目）										
検査動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
ナトリウム（mmol/L）	146	145	147	146	146	145	**147**	146	147	146
カリウム（mmol/L）	5.60	5.04	5.77	5.15	5.34	5.15	5.32	4.89	5.42	5.26
クロール（mmol/L）	103	103	103	103	102	104	**105** t	105	104	105