目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.1.1 反復投与毒性試験 4
2.6.6.1.1.1 カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与毒性予備試験 4
2.6.6.1.1.2 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 4
2.6.6.1.1.3 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 4
2.6.6.1.1.4 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 4
2.6.6.1.2 局所刺激性試験 4
2.6.6.1.3 組織交差反応性試験 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.3.1 カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与による毒性予備試験 5
2.6.6.3.2 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 6
2.6.6.3.3 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 7
2.6.6.3.4 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 10
2.6.6.5 がん原性試験 10
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 10
2.6.6.7 局所刺激性試験 10
2.6.6.8 その他の試験 10
2.6.6.8.1 組織交差反応性試験 10
2.6.6.8.1.1 抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性 11
2.6.6.8.1.2 JR-141 のヒト組織交差反応性試験 11
2.6.6.9 考察及び結論 12
2.6.6.10 図表 14
2.6.6.11 参考文献 15

用語の定義

用語	定義・解説
ADA	抗薬物抗体（anti-drug antibody）
ADCC	抗体依存性細胞傷害（antibody-dependent cellular cytotoxicity）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
$AUC_{0\text{-}t}$	投与後最終測定可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable point）
BBB	血液脳関門（blood-brain barrier）
CDC	補体依存性細胞傷害（complement-dependent cytotoxicity）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
CSF	脳脊髄液（cerebrospinal fluid）
DAB	3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩（3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride）
ERT	酵素補充療法（enzyme replace therapy）
Fc	免疫グロブリンの結晶化可能フラグメント（fragment, crystallizable）
FcRn	胎児性 Fc 受容体（neonatal Fc receptor）
FOB	機能観察総合評価法（functional observational battery）
Hb	ヘモグロビン（hemoglobin）
hIDS	ヒトイズロン酸-2-スルファターゼ（human iduronate-2-sulfatase）
HRP	ホースラディッシュペルオキシダーゼ（horseradish peroxidase）
Ht	ヘマトクリット（hematocrit）
hTfR	ヒトトランスフェリン受容体 1（human transferrin receptor 1）
IAR	投与関連反応（infusion-associated reaction）
IDS	イズロン酸-2-スルファターゼ（iduronate-2-sulfatase）
IgG	免疫グロブリン G（immunoglobulin G）
LSD	ライソゾーム病（lysosomal storage disease）
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量（mean corpuscular hemoglobin）
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度（mean corpuscular hemoglobin concentration）
M6P	マンノース-6-リン酸（mannose-6-phosphate）
M6PR	カチオン非依存性マンノース-6-リン酸受容体（cation-independent mannose-6-phosphate receptor）
mAb	モノクローナル抗体（monoclonal antibody）
$PaCO_2$	動脈血二酸化炭素分圧（partial pressure of arterial carbon dioxide）
PaO_2	動脈血酸素分圧（partial pressure of arterial oxygen）
RP-2703	JR-141 の抗体部分に変異を入れることで hTfR とカニクイザル TfR にほぼ同等の結合親和性を持たせた分子
RBC	赤血球（red blood cell）
Ret	網赤血球（reticulocyte）
Tf	トランスフェリン（transferrin）
TfR	トランスフェリン受容体 1（transferrin receptor 1）
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ヒト化抗 hTfR mAb と hIDS の融合タンパク質である JR-141 は、げっ歯類の TfR には結合しないが、カニクイザルの TfR には結合することから、本薬の毒性評価にはカニクイザルを用いた。JR-141 で用いているヒト化抗 hTfR mAb の親抗体は、ヒトとカニクイザル TfR に対しほぼ同等の結合親和性を有するが、ヒト化により hTfR に対する結合親和性に変化はなかったものの、カニクイザル TfR に対しては、親抗体と比べ結合親和性の低下が認められた。このため、カニクイザルで得られた毒性試験成績をヒトへ外挿するに当たり、TfR に対する結合親和性の種差を考慮する必要があった。そこで、親抗体のヒト化において改変したフレームワーク領域のアミノ酸配列の一部を親抗体のアミノ酸に戻すことにより、親抗体と同様にヒトとカニクイザル TfR に対しほぼ同等の結合親和性を有する復帰変異抗体を作製した。この変異抗体に hIDS を融合して作製した RP-2703 のカニクイザル TfR に対する結合親和性は JR-141 の hTfR に対する親和性とほぼ同等であり、かつ、ヒトとカニクイザル TfR に対しほぼ同等の結合親和性を示した（2.6.2.2.1 参照）。JR-141 の非臨床安全性評価においては、本薬のカニクイザルへの投与試験に先立ち、本薬のヒトとカニクイザル TfR への結合親和性の差が、本薬のカニクイザルにおける毒性試験成績に与える影響について考察するため、RP-2703 をカニクイザルへ投与し、その影響を検討した（2.6.6.3.1 参照）。

本薬の適応症であるムコ多糖症 II 型は X 染色体連鎖の劣性遺伝性疾患であり [1]、新生児期から生涯にわたる投与が予想される。このため、本薬の毒性評価には、技術的に使用可能な 3～5 箇月齢（離乳前）の幼若雄カニクイザルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験、2～4 歳齢（ヒトの小児期から思春期に相当 [2]）の雌雄カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験、及び 4～8 歳齢（性成熟）の雌雄カニクイザルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験を実施した。

また、JR-141 がヒトに投与された際に、抗 hTfR 抗体特異的な結合反応を示す組織を評価するため、ヒトの全身組織を用い、JR-141 の組織交差反応性試験を実施した。

表 2.6.6-1 に本申請において添付した毒性試験を示した。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧

試験の種類及び期間	投与方法	試験系/性別/月齢･年齢	被験物質	GLP 適用
反復投与毒性試験				
4 週間反復投与毒性予備試験	静脈内	カニクイザル/雌雄/1~2 歳	RP-2703	適外
4 週間反復投与試験及び 4 週間回復性試験	静脈内	カニクイザル/雌雄/4~8 歳（性成熟）	JR-141	適
4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験	静脈内	幼若カニクイザル/雄/3~5 箇月（離乳前）	JR-141	適
26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験	静脈内	カニクイザル/雌雄 2~4 歳	JR-141	適
その他の毒性試験				
抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性試験	*in vitro*	ヒト及びカニクイザル組織	抗 hTfR mAb	適外
ヒト組織交差反応性試験	*in vitro*	ヒト組織	JR-141	適

2.6.6.1.1 反復投与毒性試験

2.6.6.1.1.1 カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与毒性予備試験

RP-2703 を 30 mg/kg の用量で雌雄各 1 匹のカニクイザル（1～2 歳）に週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、血圧、尿検査、心電図検査、直腸温、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、RP-2703 投与に起因する毒性所見は認められなかった。

2.6.6.1.1.2 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で雌雄各 3 匹（30 mg/kg 投与群は各 5 匹）の性成熟カニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。対照群（雌雄各 5 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹を、投与期間終了後の 4 週間回復性試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、血圧、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、直腸温、呼吸数、血液ガス、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因する変化は認められなかった。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg と推定された。

2.6.6.1.1.3 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で、離乳前（3～5 箇月）の雄の幼若カニクイザル 3 匹/群（30 mg/kg 投与群は 5 匹）に週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（計 5 回）。対照群（雄 5 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の各 2 匹を、投与期間終了後の 4 週間回復性試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、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、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因する毒性所見は認められなかった。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg と推定された。

2.6.6.1.1.4 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

JR-141 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で雌雄各 4 匹/群（30 mg/kg 投与群は各 6 匹）のカニクイザル（2～4 歳）に週 1 回 26 週間反復静脈内投与した（計 27 回）。対照群（雌雄各 6 匹）には媒体を同様に投与した。対照群及び 30 mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹を、投与期間終了後の 8 週間回復性試験に供した。試験期間を通して死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、心電図検査、FOB、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因する変化は認められなかった。また、投与部位における病理組織学的検査の結果、局所刺激性は認められなかった。以上の結果より、本試験における本薬の無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg と推定された。

2.6.6.1.2 局所刺激性試験

JR-141 の投与部位における局所刺激性について、「カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復

静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.1.1.2 参照）」、「幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.1.1.3 参照）」及び「カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（2.6.6.1.1.4 参照）」において評価した。その結果、JR-141 の投与部位における局所刺激性は認められなかった。

2.6.6.1.3　組織交差反応性試験

ヒトとカニクイザルにおける TfR の組織発現プロフィールを比較する目的で、免疫組織化学染色によりマウス抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性を評価した。その結果、抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織結合プロフィールは類似し、ヒトとカニクイザルで TfR の組織発現プロフィールは類似すると考えられた。

ヒト組織標本を用いて、JR-141 が結合反応を示す組織を評価した結果、対象としたほとんどの組織で本薬の結合が認められた。また、骨髄（骨髄細胞）、大脳・小脳（血管内皮）、結腸・回腸（粘膜上皮）、眼（角膜及び結膜上皮）、乳房（腺房細胞、乳管上皮）、肺（肺胞上皮、肺胞マクロファージ）、リンパ節（マクロファージ）、脾臓（赤脾髄）、副甲状腺、胎盤（栄養膜細胞）及び子宮内膜（腺上皮）で、TfR 特異的な比較的強い陽性反応が認められた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

該当する試験は実施しなかった。なお、本薬の 3、10 又は 30 mg/kg をカニクイザルに週 1 回 4 週間又は 26 週間反復投与した毒性試験（2.6.6.3 参照）において、初回の投与後に死亡例はなく、一般状態に異常は認められなかった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　カニクイザルにおける RP-2703 の 4 週間反復静脈内投与による毒性予備試験

添付資料 4.2.3.2.1

JR-141 の TfR に対する結合親和性評価より、JR-141 は hTfR と比較してカニクイザル TfR にやや弱い結合親和性を示した（2.6.2.2.1 参照）。このため、カニクイザルを用いた JR-141 の毒性評価に先立ち、カニクイザル TfR に対する結合親和性が JR-141 の hTfR に対する結合親和性とほぼ同等で、かつ、ヒト及びカニクイザル TfR にほぼ同等の結合親和性を有する RP-2703 を用いて、カニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの毒性を検討した（2.6.7.6 参照）。

試験には 1～2 歳齢の雌雄カニクイザルを用いた。RP-2703 の 30 mg/kg を雌雄各 1 匹のカニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（Day 0、7、14、21 及び 28 の計 5 回）。投与は、拘束下で橈側皮静脈内へ 10 mL/kg/時の速度で 1 時間かけて行い、最終投与の翌日に剖検した。

一般毒性試験項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血圧測定、心電図検査、直腸温測定、尿検査、血液学的検査（血液検体は Day 27 に採取）、血液生化学的検査（血漿検体は Day 27 に採取）、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。安全性薬理試験項目として、馴化期間中及び 4 回目投与時に FOB にて中枢神経系に及ぼす影響を評価した。

いずれの投与群においても死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血圧、心電図検査、直腸温、FOB、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、RP-2703 投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、投与部位の病理組織学的検査の結果、投与部位の血管又は血管周囲における炎症性細胞浸潤、フィブリノイド滲出、出血、内

膜下肥厚又は痂皮形成が投与期間終了時に認められたが、投与操作に起因するものと考えられた。

血液学的検査において、Retの高値が雌雄で認められたが、軽度の変化であり、その他の赤血球パラメータの変化を伴わないことから、毒性学的意義は小さいと判断された。その他の血液学的検査値に本薬投与と関連する変化は認められなかった。

以上、RP-2703の30 mg/kgを雌雄各1匹のカニクイザルへ週1回4週間反復静脈内投与した結果、毒性所見は認められなかった。

2.6.6.3.2 カニクイザルにおけるJR-141の4週間反復静脈内投与毒性試験及び4週間回復性試験

添付資料 4.2.3.2.2

本試験では、性成熟した雌雄カニクイザルを用い、JR-141の雌雄受胎能への影響についても評価した。また、安全性薬理コアバッテリー試験を組み入れることにより、本薬の中枢神経系、心血管系及び呼吸系への影響についても評価した（2.6.3.4及び2.6.7.7.1参照）。

1) 試験材料及び試験方法

試験には4～8歳齢の性成熟した雌雄カニクイザルを用いた。JR-141の3及び10 mg/kg群では雌雄各3匹/群、0（媒体対照）及び30 mg/kg群では雌雄各5匹/群のカニクイザルに週1回4週間反復静脈内投与した（Day 0、7、14、21及び28の計5回）。0（媒体対照）及び30 mg/kg群の雌雄各2匹/群については、毒性の回復性を確認する目的で最終投与後4週間の回復期間を設定した。投与は、橈側皮静脈内へ10 mL/kg/時の速度で1時間かけて行った。対照群には媒体（生理食塩液）を同様に投与した。投与期間終了時剖検動物については最終投与の2日後に剖検した。回復動物については4週間の回復期間の後剖検した。

一般毒性試験項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、直腸温測定、尿検査、血液学的検査（血液検体はDay 22、Day 27及び回復期間終了時に採取）、血液生化学的検査（血漿検体はDay 27及び回復期間終了時に採取）、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、馴化期間中、Day 28の投与前及び4週間の回復期間の後採取した血漿検体について抗JR-141抗体検査を実施した。初回及び最終投与時のTK測定については2.6.4.3.1に記載した。

安全性薬理試験項目として、馴化期間中、2又は3回目投与時及び回復期間中に心電図検査（テレメトリー）、血圧測定、呼吸数測定及び動脈血液ガス分析（PaO_2、$PaCO_2$、pH及びヘモグロビン酸素飽和度）を、馴化期間中、4回目投与時及び回復期間中にFOBにて中枢神経系に及ぼす影響を評価した。評価方法及び試験成績の詳細は2.6.2.4に記載した。

2) 試験成績

いずれの投与群においても死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血圧、心電図検査、呼吸数、血液ガス、直腸温、FOB、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

雌雄生殖器官の器官重量測定及び病理組織学的検査の結果、本薬投与の影響は認められず、本薬は雌雄受胎能に影響を及ぼさないと考えられた。

投与部位の病理組織学的検査の結果、本薬投与群の雌雄で、投与部位の血管又は血管周囲における炎症性細胞浸潤、フィブリン滲出、線維化、出血又は内膜下肥厚が投与期間終了時に認められたが、同様の所見は対照群においても認められ、投与操作に起因するものと考えられた。

血液学的検査において、JR-141 の 3 mg/kg 群の雄で Day 22 に対照群と比較し RBC の有意な低値、30 mg/kg 群の雌雄で Day 27 に対照群と比較し Ht の有意な低値が認められた。4 週間の回復期間終了時にはこれらの変化は認められなかった。これらの赤血球パラメータの変化は、軽度であり、投与量との関連性は認められず、また、その他の赤血球パラメータの明らかな変化を伴わないことから、本薬投与との関連性はないと判断された。その他の血液学的検査値に本薬投与と関連する変化は認められなかった。

最終投与時の抗 JR-141 抗体検査において、雄動物では、30 mg/kg 投与群の 1 例を除いた全例が ADA 陽性であり、雌動物では 3 mg/kg 投与群の全例、10 mg/kg 投与群の 2 例及び 30 mg/kg 投与群の 3 例が ADA 陽性であった。これらの抗体陽性例のほぼ全例において、JR-141 の TfR 及び M6PR への結合阻害活性が認められたが、抗体産生の有無にかかわらず本薬投与に関連した変化は認められず、抗体産生による JR-141 の毒性評価に対する影響はないと考えられた。また、抗体産生に伴う IAR は認められなかった。

3) 結論

雌雄カニクイザルにおいて、JR-141 の 30 mg/kg までの週 1 回 4 週間の投与により、毒性所見は認められず、本試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg と推定された。また、雌雄生殖器官への影響も認められず、本薬は 30 mg/kg までの投与により、カニクイザルの雌雄受胎能に影響を及ぼさないと判断された。本試験内で実施した安全性薬理コアバッテリー試験において、本薬は 30 mg/kg までの投与により、雌雄カニクイザルの中枢神経系、心血管系及び呼吸系へ影響を及ぼさなかった。

2.6.6.3.3 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

添付資料 4.2.3.2.3

JR-141 は新生児期から投与される可能性が考えられる。しかし、サル新生児を用いた毒性試験の実施は、技術的及び倫理的に現実的ではないため、本試験では、3～5 箇月齢の離乳前の幼若カニクイザルを用い、本薬の未発達の器官系への影響を評価した。なお、本薬の性成熟サルを用いた反復投与試験（2.6.6.3.2 参照）において雌動物に特異的な影響は認められなかったこと、また、生殖器官の発達に及ぼす影響については、3～5 箇月齢の幼若サルよりも生殖器官の構造的、機能的発達期に相当する 2～4 歳齢の雌雄カニクイザル（ヒトの小児期から思春期に相当[2)]）を用いた 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.4 参照）でより適切に評価可能と考えられることから、本試験では雄動物のみを用いた（2.6.7.7.3 参照）。

4) 試験材料及び試験方法

試験には 3～5 箇月齢の雄カニクイザルを用いた。JR-141 の 3 及び 10 mg/kg 群では雄 3 匹/群、0（媒体対照）及び 30 mg/kg 群では雄 5 匹/群のカニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（Day 0、7、14、21 及び 28 の計 5 回）。0（媒体対照）及び 30 mg/kg 群の雄 2 匹/群については、毒性の回復性を確認する目的で最終投与後 4 週間の回復期間を設定した。投与は、橈側皮静脈内へ 10 mL/kg の容量で約 10 分間かけて行った。対照群には媒体（生理食塩液）を同様に投与した。投与期間終了時剖検動物については最終投与の 2 日後に剖検した。回復動物については 4 週間の回復期間の後剖検した。

一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査（血液検体は Day 27 及び

回復期間終了時に採取)、血液生化学的検査(血漿検体はDay 27及び回復期間終了時に採取)、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。Day 0及びDay 28の投与前及び4週間の回復期間の後採取した血漿検体について抗JR-141抗体検査を実施した。また、剖検時に採取したCSF及び中枢神経系組織(大脳皮質、小脳、海馬、延髄、脊髄)中の薬物濃度を測定した。初回及び最終投与時のTK測定については2.6.4.3.2に、中枢神経系組織及びCSF中の薬物濃度測定については2.6.4.4.5に記載した。

5) 試験成績

いずれの投与群においても死亡例は認められず、一般状態、体重、眼科学的検査、心電図検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、投与部位の病理組織学的検査の結果、本薬投与群で、投与部位の血管又は血管周囲における炎症性細胞浸潤、フィブリン滲出、線維化、出血又は皮筋線維の再生像が投与期間終了時に認められたが、同様の所見は対照群においても認められ、投与操作に起因するものと考えられた。

血液学的検査において、JR-141の3及び10 mg/kg群では、本薬投与に関連した変化は認められなかったが、30 mg/kg群では、対照群と比較しHb及びMCHCの有意な低値、Retの有意な高値が認められた。4週間の回復期間終了時にはこれらの変化は認められなかった。これらの赤血球パラメータの変化は、軽度であり、その他の赤血球パラメータの変化を伴わないことから、毒性学的意義は小さいと判断された。その他の血液学的検査値に本薬投与と関連する変化は認められなかった。

最終投与時の抗JR-141抗体検査において、30 mg/kg投与群の2例を除いた全例がADA陽性であった。これらのADA陽性例のほぼ全例において、JR-141のTfR及びM6PRへの結合阻害活性が認められたが、抗体産生の有無にかかわらず本薬投与に関連した毒性所見は認められず、抗体産生によるJR-141の毒性評価に対する影響はないと考えられた。また、投与中又は投与後にIARは認められなかった。

6) 結論

雄の幼若カニクイザルにおいて、JR-141の30 mg/kgまでの週1回4週間の投与により、毒性所見は認められず、本試験における本薬の無毒性量は30 mg/kgと推定された。

2.6.6.3.4 カニクイザルにおけるJR-141の26週間反復静脈内投与毒性試験及び8週間回復性試験

添付資料4.2.3.2.4

JR-141は、新生児期から生涯にわたり投与される薬剤である。このため「「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」について」(平成24年3月23日付 薬食審査発0323第1号)を勘案し、本試験では雌雄カニクイザルに本薬を26週間反復投与することにより、本薬の長期間投与の影響について評価した。本試験では、適応疾患の主な対象年齢を考慮し、ヒトの小児期から思春期に相当する2〜4歳齢のカニクイザルを用いた(2.6.7.7.3参照)。

1) 試験材料及び試験方法

試験には2〜4歳齢の雌雄カニクイザルを用いた。JR-141の3及び10 mg/kg群では雌雄各4匹/群、0(媒体対照)及び30 mg/kg群では雌雄各6匹/群のカニクイザルに、週1回26週間反復静脈内投与した(Day 0、7、14、21、28、35、42、49、56、63、70、77、84、91、98、105、112、119、

126、133、140、147、154、161、168、175 及び 182 の計 27 回)。0(媒体対照)及び 30 mg/kg 群の雌雄各 2 匹/群については、毒性の回復性を確認する目的で最終投与後 8 週間の回復期間を設定した。投与は、橈側皮静脈内へ 10 mL/kg/時の速度で 1 時間かけて行った。対照群には媒体(生理食塩液)を同様に投与した。投与期間終了時剖検動物については最終投与の 2 日後に剖検した。回復動物については 8 週間の回復期間の後剖検した。

一般毒性試験項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査(血液検体は Day 90、Day 181 及び回復期間終了時に採取)、血液生化学的検査(血漿検体は Day 90、Day 181 及び回復期間終了時に採取)、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。初回、13 回目及び最終投与日の投与前及び回復期間終了時に採取した血漿検体について抗 JR-141 抗体検査を実施した。また、剖検時に採取した CSF 及び中枢神経系組織(大脳皮質、小脳、海馬、延髄、脊髄)中の薬物濃度を測定した。初回、13 回目及び最終投与時の TK 測定については 2.6.4.3.3 に、中枢神経系組織及び CSF 中の薬物濃度測定については 2.6.4.4.6 に記載した。

安全性薬理試験項目として、馴化期間中、25 回目投与時及び回復期間中に FOB にて中枢神経系に及ぼす影響を評価した。評価方法及び試験成績の詳細は 2.6.2.4.3 項に記載した。

2) 試験成績

いずれの投与群においても死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、FOB、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、JR-141 投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。投与部位の病理組織学的検査の結果、本薬投与群の雌雄で、投与部位の血管又は血管周囲における炎症性細胞浸潤、フィブリン滲出、線維化、出血又は内膜下肥厚が投与期間終了時に認められたが、同様の所見は対照群においても認められ、投与操作に起因するものと考えられた。

血液学的検査において、JR-141 の 3 mg/kg 群の雄で、投与 26 週時点に対照群と比較し RBC、Hb 及び Ht の有意な高値、10 mg/kg 群の雄で、投与 13 週時点に対照群と比較し RBC 及び Ht の有意な高値、30 mg/kg 群の雄で、投与 26 週時点に対照群と比較し RBC の有意な高値、雌で投与 13 週時点に Hb 及び Ht の有意な低値が認められた。また、30 mg/kg の雄では、投与 13 週及び 26 週に MCH 及び MCHC の有意な低値も認められた。8 週間の回復期間終了時にはこれらの変化は認められなかった。これらの赤血球パラメータの変化は軽度であり、また、パラメータによっては増加又は減少と一定の傾向がなく、本薬投与との関連性はないと考えられた。その他の血液学的検査値に本薬投与と関連する変化は認められなかった。

Day 84 の抗 JR-141 抗体検査において、雌動物では 3 mg/kg 投与群の 3 例、10 mg/kg 投与群の全例及び 30 mg/kg 投与群の 4 例が抗体陽性であり、雄動物では全例が抗体陽性であった。Day 182 の抗 JR-141 抗体検査では、雌動物では 3、10 及び 30 mg/kg 群のそれぞれ 3、3 及び 5 例、雄動物では、3 及び 10 mg/kg 群の全例、30 mg/kg 群の 4 例が抗体陽性であった。これらの抗体陽性例のほぼ全例において、JR-141 の TfR 及び M6PR への結合阻害活性が認められたが、抗体産生の有無にかかわらず、いずれの試験項目においても本薬投与に関連した変化は認められず、抗体産生による JR-141 の毒性評価に対する影響はないと考えられた。また、投与中又は投与後に IAR は認められなかった。

3) 結論

雌雄カニクイザルにおいて、JR-141 の 30 mg/kg までの週 1 回 26 週間の投与により、毒性所見は認められず、本試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg と推定された。また、安全性薬理試験項目として、FOB にて本薬の長期間投与による中枢神経系に及ぼす影響を評価した結果、30 mg/kg までの投与量において中枢神経系に影響は認められなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

本薬は、ヒト化抗 hTfR mAb の重鎖 C 末端に hIDS を融合した遺伝子組換えタンパク質であるため、遺伝子の突然変異や染色体異常などの遺伝毒性を示すことは考えにくい。以上の理由から、「「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」について」（平成 24 年 3 月 23 日付　薬食審査発 0323 第 1 号）を勘案し、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

本薬は、ヒト化抗 hTfR mAb の重鎖 C 末端に hIDS を融合した遺伝子組換えタンパク質であり、増殖因子などのように、がん原性が懸念されるような生物活性を有するものではない。また、サルの反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.2、2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4 参照）において、特定の器官・組織に前腫瘍性変化を示唆する所見及び発がん性が懸念されるような所見は認められていない。以上より、本薬が、がん原性を有する可能性は非常に低いと考えられることから、がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

本薬は、妊娠後期カニクイザルへの静脈内投与により胎盤通過性が認められなかったこと（2.6.4.4.8 参照）、また、性成熟した雌雄カニクイザルへの反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.2 参照）において雌雄生殖器官に投与に関連した所見は認められなかったことから、本薬が雌雄の受胎能、胚・胎児発生に影響を及ぼす可能性は非常に低いと考えられる。また、乳汁を介した出生児への影響について、本薬は遺伝子組換えタンパク質であることから、母動物へ投与した際に、仮に乳汁を介して出生児に摂取されたとしても、消化管で分解され、生物活性を保持した状態で吸収されることはないと考えられた。以上の理由から、生殖発生毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

本薬の静脈内投与による局所刺激性は、カニクイザルにおける反復静脈内投与毒性試験において評価可能と判断し、独立した局所刺激性試験は実施しなかった。

カニクイザルにおける JR-141 の反復静脈内投与試験では、投与部位の血管又は血管周囲組織における炎症性細胞浸潤、フィブリン滲出、線維化、出血又は内膜下肥厚などが認められたが、その出現頻度及び重症度は対照群と比べ差はなく、本薬投与による刺激性は認められなかった（2.6.6.3.2、2.6.6.3.3 及び 2.6.6.3.4 参照）。以上の結果から、JR-141 の静脈内投与において、安全性上問題になるような刺激性はないと判断された。

2.6.6.8 その他の試験

2.6.6.8.1 組織交差反応性試験

本薬は、ヒト化抗 hTfR mAb に hIDS を融合した遺伝子組換えタンパク質であることから、本薬が循環血液中から組織に移行する際の主な標的分子は TfR である。このため、先ず、ヒト及びカニクイザルにおける TfR の組織発現プロフィールを比較する目的で、抗 hTfR mAb のヒト及びカ

ニクイザル組織結合プロフィールを比較した。次に、ヒト組織に対する本薬の組織交差反応性試験を実施した。本薬では、TfR 以外にも主に M6PR を介した組織移行が考えられる。このため、過剰量の M6P を添加した条件で TfR 特異的結合を評価した。評価には、「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」（FDA/CBER, February 28, 1997）及び「Guideline on development, production, characterization and specification for monoclonal antibodies and related products」（EMA/CHMP, 21 July 2016）で推奨されている全ての組織を含む 38 組織を用いた（2.6.7.17 参照）。

2.6.6.8.1.1 抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性

添付資料 4.2.3.7.7.1

ヒト及びカニクイザルにおける TfR の組織発現プロフィールを検討する目的で、免疫組織化学染色によりマウス抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性を評価した。複数のドナーより採取されたヒト凍結組織及び末梢血塗抹標本（それぞれの器官、組織又は血液塗抹標本は 1 ドナーに由来する）にマウス抗 hTfR mAb 又はマウスアイソタイプ抗体（陰性対照）をそれぞれ反応させた後、HRP 標識抗マウス IgG を反応させ、発色基質 DAB を添加して発色させた後、細胞核をヘマトキシリンにて対比染色した。カニクイザル組織についても同様に試験した。

その結果、ヒト組織では、大動脈の内皮、骨格筋及び血液細胞以外の組織が陽性反応を示した。一方、サル組織では、大動脈の内皮、骨格筋及び血液細胞に加え、腎髄質、肺、膵臓、耳下腺、末梢神経、下垂体、甲状腺及び子宮（子宮頸管）が陰性であったが、その他の全ての組織は陽性反応を示した。ヒト及びサル組織において、BBB の構成要素である大脳、小脳及び脊髄の血管内皮細胞は陽性反応を示した。

以上より、抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織結合プロフィールは類似し、ヒト及びカニクイザルにおける TfR の組織発現プロフィールは類似すると考えられた。

2.6.6.8.1.2 JR-141 のヒト組織交差反応性試験

添付資料 4.2.3.7.7.2

1) 試験材料及び試験方法

免疫組織化学染色により JR-141 のヒト組織交差反応性を評価した。3 名のドナー由来の凍結組織及び末梢血塗抹標本に JR-141 又は陰性対照物質（TfR に結合しないヒトアイソタイプ抗体と hIDS の融合タンパク質）を、過剰量の M6P 存在下及び非存在下でそれぞれ反応させた後、マウス抗 hIDS mAb 及び HRP 標識抗マウス IgG を反応させ、発色基質 DAB を添加して発色させた後、細胞核をヘマトキシリンにて対比染色した。JR-141 による染色結果は、陰性対照物質の染色結果で補正して評価した。

2) 試験成績

対象としたほとんどの組織で JR-141 の結合による染色像が認められ、陰性反応を示した組織は、大動脈の内皮、骨格筋、末梢神経、甲状腺及び血液細胞であった。過剰量の M6P 添加により IDS 領域の修飾糖鎖 M6P に対する受容体を介した結合を抑制し、TfR 特異的な結合を評価した結果、ほとんどの組織が陽性の染色像を示し、その中でも骨髄（骨髄細胞）、大脳・小脳（血管内皮）、結腸・回腸（粘膜上皮）、眼（角膜及び結膜上皮）、乳房（腺房細胞、乳管上皮）、肺（肺胞上皮、肺胞マクロファージ）、リンパ節（マクロファージ）、脾臓（赤脾髄）、副甲状腺、胎盤（栄養膜細胞）

及び子宮内膜（腺上皮）で比較的強い陽性反応が認められた。

3) 結論

対象としたほとんどの組織でJR-141の結合が認められた。また、骨髄（骨髄細胞）、大脳・小脳（血管内皮）、結腸・回腸（粘膜上皮）、眼（角膜及び結膜上皮）、乳房（腺房細胞、乳管上皮）、肺（肺胞上皮、肺胞マクロファージ）、リンパ節（マクロファージ）、脾臓（赤脾髄）、副甲状腺、胎盤（栄養膜細胞）及び子宮内膜（腺上皮）では、TfR特異的な比較的強い陽性反応が認められた。

2.6.6.9 考察及び結論

JR-141の非臨床安全性評価に用いる動物種の選定について、本薬は、げっ歯類のTfRに結合しないため、毒性評価にこれらの動物を用いることは適切ではない。一方、カニクイザルのTfRには結合することから、本薬の毒性評価にはカニクイザルを用いた。しかしながら、本薬のヒト及びカニクイザルTfRに対する結合カイネティクスを解析した結果、それぞれの受容体結合の解離定数には約7倍の差があり、JR-141はカニクイザルTfRに対し、hTfRよりも低い結合親和性を示した（2.6.2.2.1参照）。このため、親抗体のヒト化において改変されたフレームワーク領域のアミノ酸の一部を親抗体のアミノ酸に戻すことにより、親抗体と同様にヒトとカニクイザルTfRに対し同等の高い結合親和性を示す復帰変異抗体を作製した。この変異抗体にhIDSを融合して作製したRP-2703のカニクイザルTfRに対する結合親和性は、JR-141のhTfRに対する親和性と比べ顕著な差はなかった。また、RP-2703はヒトとカニクイザルTfRに対しほぼ同等の結合親和性を示した（2.6.2.2.1参照）。RP-2703をカニクイザルへ投与した際の血中動態、中枢神経系及び末梢組織への分布、ならびに毒性についてJR-141と比較した結果、両者間で明らかな差は認められず、JR-141で認められるヒトとカニクイザルTfRへの結合親和性の差は、本薬の薬物動態及び毒性プロフィールには明らかな影響を与えないと考えられた（2.6.4.4.7及び2.6.6.3.1参照）。また、マウス抗hTfR mAbのヒト及びカニクイザル組織交差反応性を免疫組織化学染色により評価した結果、ヒトとカニクイザルにおけるTfRの組織発現プロフィールは類似すること考えられた。以上の結果より、カニクイザルはJR-141の非臨床安全性評価において薬理学的に適切な唯一の動物種であると考えられ、当該動物種を用いた26週間までの反復静脈内投与毒性試験を実施し本薬の安全性を評価した。

本薬の適応症であるムコ多糖症II型はX染色体連鎖の劣性遺伝性疾患であり[1]、新生児期から生涯にわたる投与が予想される。このため、本薬の毒性評価には、技術的に使用可能な3～5箇月齢（離乳前）の幼若雄カニクイザルを用いた4週間反復静脈内投与試験（3、10及び30 mg/kgを週1回投与）、2～4歳齢（ヒトの小児期から思春期に相当[2]）の雌雄カニクイザルを用いた26週間反復静脈内投与試験（3、10及び30 mg/kgを週1回投与）、及び性成熟した4～8歳齢の雌雄カニクイザルを用いた4週間反復静脈内投与試験（3、10及び30 mg/kgを週1回投与）を実施した。その結果、性成熟サルを用いた4週間反復静脈内投与試験及び2～4歳齢の雌雄カニクイザルを用いた26週間反復投与試験では、投与に関連すると判断された変化は認められなかったが、離乳前の幼若サルを用いた4週間反復投与試験では、投与との関連性が否定できない変化として、30 mg/kg群でHb及びMCHCの有意な低値、Retの有意な高値が認められた。その他の検査項目において投与に関連した変化は認められなかった。性成熟サルを用いた4週間反復投与試験及び2～4歳齢のサルを用いた26週間反復投与試験では、安全性薬理コアバッテリー試験を組入れ、生命維持に

重要な器官系への影響を評価した。その結果、本薬は中枢神経系、呼吸系及び心血管系に対して影響を及ぼさなかったことから、臨床使用において本薬がこれらの器官系に関連した重篤な副作用を発現する可能性は低いと考えられた。

抗 hTfR 抗体は、Fc 領域を介する ADCC や CDC 活性により、又は TfR の内因性リガンドである Tf の結合阻害によって鉄の取込みを阻害することにより、TfR 発現細胞に対して *in vitro* で細胞毒性を発揮することが報告されている[3),4)]。抗 hTfR 抗体投与による *in vivo* での細胞毒性については、BBB 通過能を有する高親和性抗 hTfR 抗体をアカゲザルへ 4 週間反復静脈内投与（3、10 及び 30 mg/kg を週 2 回）することにより、投与量に依存して Ht 及び Ret が減少し、特に 30 mg/kg では明らかな貧血が認められたと報告された[5)]。当該論文で用いられた抗体は Fc 領域を介した ADCC や CDC により hTfR 発現細胞に対して強い細胞毒性を示すことが知られており[4)]、サル試験で認められた貧血は本抗体の赤血球前駆細胞に対する細胞毒性に起因すると考えられている[5)]。一方、JR-141 及びその抗体部分であるヒト化抗 hTfR 抗体について、複数の hTfR 発現細胞をターゲットとして CDC 活性を試験した結果、ヒト化抗 hTfR 抗体が CDC 活性を示したのに対し、JR-141 では CDC 活性が認められなかった（2.6.2.3.3 参照）。本結果より、ヒト化抗 TfR 抗体重鎖 C 末端へ hIDS を融合することにより CDC 活性が失われたと考えられた。ADCC 活性については、JR-141 及びヒト化抗 hTfR 抗体ともに認められなかった（2.6.2.3.2 参照）。また、JR-141 は Tf の TfR への結合を阻害しないことも確認された（2.6.2.3.1 参照）。幼若サルにおける 4 週間反復投与試験の 30 mg/kg 群で認められた Hb 及び MCHC の有意な低値、並びに Ret の有意な高値については、投与との関連性が否定できないものの、その程度は軽く、RBC や Ht の明らかな変化を伴わないことから、毒性学的には意味の小さい変化であると判断された。以上のことから、JR-141 の臨床使用において、本薬の抗体部分の Fc を介したエフェクター機能や TfR への結合そのものが、重篤な副作用を誘発する可能性は非常に低いと考えられる。実際に、本薬の臨床試験において、赤血球パラメータや鉄代謝関連のパラメータに本薬投与との関連性が疑われる所見は認められていない（2.7.4.3 参照）。

以上の反復投与毒性試験における本薬の無毒性量は 30 mg/kg（週 1 回、4 週間又は 26 週間投与）と推定された。サルにおける無毒性量投与時とヒトにおける臨床用量（2 mg/kg、週 1 回投与）投与時の薬物曝露量を比較すると、AUC で約 94～212 倍、C_{max} で約 45～65 倍の安全域が認められた（表 2.6.6-2 参照）。

表 2.6.6-2　JR-141 の安全域（曝露量比）

試験名	使用動物	無毒性量 (mg/kg/週)	C_{max} (μg/mL)[a)]	AUC_{0-t} (μg·h/mL)[a)]	安全域（曝露量比）[b)]	
					$C_{maxcyno}/C_{maxhu}$	AUC_{cyno}/AUC_{hu}
サル 4 週間反復静脈内投与試験	4～8 歳（性成熟）雌雄カニクイザル	30	742	7950	65	212
幼若サル 4 週間反復静脈内投与試験	3～5 箇月（離乳前）雄カニクイザル	30	518	3550	45	94
サル 26 週間反復静脈内投与試験	2～4 歳雌雄カニクイザル	30	557	5640	49	150

$C_{maxcyno}$: カニクイザルの C_{max}、C_{maxhu}: ヒトの C_{max}、AUC_{cyno}: カニクイザルの AUC、AUC_{hu}: ヒトの AUC

a) それぞれの試験の無毒性量における初回投与時の C_{max} 及び AUC_{0-t} の雌雄の平均値

b) 安全域（曝露量比）の算出には、JR-141-101 試験の高用量（2 mg/kg）投与群の初回投与時の C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値（それぞれ 11338.3 ng/mL 及び 37473.8 ng·h/mL、2.7.2.2.1 参照）を用いた。

本薬の免疫原性について、カニクイザルの反復投与毒性試験では、高頻度で ADA 陽性個体が認められたが、投与中又は投与後に IAR は認められなかった。現在までに臨床使用されている LSD 酵素製剤の主要な有害事象は、ADA 産生に関連すると考えられる IAR であり、これは LSD の ERT において通常認められるものである [6)]。本薬は動物に対しては異種タンパク質であることから、本薬の動物試験成績より免疫原性に関連するヒトでの安全性リスクを予測することは困難であるが、JR-141 の臨床使用に際しては、ADA が産生され得ることに留意し、投与中に IAR が認められた際には、投与速度の調節や、投与の中止などの措置が必要と考えられる。また、必要に応じて、適切な薬剤処置（副腎皮質ホルモン剤、抗ヒスタミン剤等）を施すことが重要と考えられる [7)]。

本薬の生殖発生毒性について、性成熟したカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験において、雌雄生殖器官の器官重量及び病理組織学的検査で本薬投与の影響は認められず、本薬は雌雄の受胎能に影響を及ぼさないと考えられた。また、霊長類では、胎盤に FcRn が発現する妊娠後期に母体に投与された抗体医薬品は胎児に移行する可能性が高いことが知られていることから [8)]、妊娠後期（妊娠 139 日）のカニクイザルに本薬を静脈内投与し胎児への移行の有無を試験した。その結果、本薬の胎盤通過性は認められなかったことから（2.6.4.4.8 参照）、本薬投与により胚・胎児発生へ悪影響を及ぼすリスクは非常に低いと判断された。また、乳汁を介した出生児への影響について、本薬は遺伝子組換えタンパク質であることから、母体へ投与した際に、仮に乳汁を介して出生児に摂取されたとしても、消化管で分解され、生物活性を保持した状態で吸収されることはないと考えられた。

以上の安全性試験成績より、本薬の臨床使用に際しては、用法・用量を遵守することにより、重篤な有害事象が発現するリスクは非常に低いと考えられる。しかしながら、抗体が産生された場合には、LSD の ERT において通常認められる IAR が発生する可能性が考えられることから、本薬投与に際しては、抗体検査を定期的に実施し、さらに、IAR の発現が認められた場合には、適切な対処が必要と考えられる。

2.6.6.10　図表

表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1) Wraith JE, Scarpa M, Beck M, Bodamer OA, De Meirleir L, Guffon N, et al. Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy. Eur J Pediatr. 2008; 167(3): 267-77.

2) Beck MJ, Padgett EL, Bowman CJ, Wilson DT, Kaufman LE, Varsho BJ, et al. Nonclinical juvenile toxicity testing. III. Design considerations for nonclinical juvenile toxicity studies. In: Hood RD ed. Developmental and reproductive toxicology: a practical approach. Boca Raton: CRC Press; 2006: 274-80.

3) Trowbridge IS, Lopez F. Monoclonal antibody to transferrin receptor blocks transferrin binding and inhibits human tumor cell growth *in vitro*. Proc Natl Acad Sci USA. 1982; 79: 1175-79.

4) Leoh LS, Daniels-Wells TR, Martinez-Maza O, Penichet ML. Insights into the effector functions of human IgG3 in the context of an antibody targeting transferrin receptor 1. Mol Immunol. 2015; 67(200): 407-15.

5) Pardridge WM, Boado RJ, Patrick DJ, Ka-Wai Hui E, Lu JZ. Blood-brain barrier transport, plasma pharmacokinetics, and neuropathology following chronic treatment of the rhesus monkey with a brain penetrating humanized antibody against the human transferrin receptor. Mol Pharm. 2018; 15(11): 5207-16.

6) Ohashi T. Enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. Pediatr Endocrinol Rev. 2012; 10 Suppl 1: 26-34.

7) Tomatsu S, Montano AM, Molano ACS, Rowan D, Hintze JP, Carvalho CG, et al. Enzyme replacement therapy for lysosomal storage doseases. In: Neurochemistry of metabolic diseases. (Surendran S ed.): Nova Science Publishers, Inc; 2011: 1-31.

8) Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009; 86: 328-44.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（ロット毎）一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 8
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 10
2.6.7.7.1 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 10
2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 13
2.6.7.7.3 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 16
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 19
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 19
2.6.7.10 がん原性試験 19
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 19
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 19
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 19
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 19
2.6.7.15 新生児を用いた試験 19
2.6.7.16 局所刺激性試験 19
2.6.7.17 その他の毒性試験 20
2.6.7.17.1 抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性 20
2.6.7.17.2 JR-141 のヒト組織交差反応性試験 20

用語の定義

用語	定義・解説
ADA	抗薬物抗体（anti-drug antibody）
$AUC_{0\text{-}24h}$	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours）
$AUC_{0\text{-}t}$	投与後最終測定可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable point）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
FOB	機能観察総合評価法（functional observational battery）
Hb	ヘモグロビン（hemoglobin）
Ht	ヘマトクリット（hematocrit）
hTfR	ヒトトランスフェリン受容体 1（human transferrin receptor 1）
M6PR	カチオン非依存性マンノース-6-リン酸受容体（cation-independent mannose-6-phosphate receptor）
mAb	モノクローナル抗体（monoclonal antibody）
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量（mean corpuscular hemoglobin）
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度（mean corpuscular hemoglobin concentration）
MCV	平均赤血球容積（mean corpuscular volume）
RBC	赤血球（red blood cell）
Ret	網赤血球（reticulocyte）
RP-2703	JR-141 の抗体部分に変異を入れることで hTfR とカニクイザル TfR にほぼ同等の結合親和性を持たせた分子
TfR	トランスフェリン受容体 1（transferrin receptor 1）

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test article: JR-141

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing, Frequency of doses, Number of doses	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study site	Study number	Location in CTD
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Intravenous	4 weeks, 1 dose/week, 5 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.2
	Juvenile cynomolgus monkey	Intravenous	4 weeks, 1 dose/week, 5 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.3
	Cynomolgus monkey	Intravenous	26 weeks, 1 dose/week, 27 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.4
Other toxicity studies Tissue cross-reactivity	Human tissue	*in vitro*	NA	NA	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7.2

[redacted]

NA: Not applicable

Test article: RP-2703

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing, Frequency of doses, Number of doses	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study site	Study number	Location in CTD
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Intravenous	4 weeks, 1 dose/week, 5 doses	30	No	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.1

[redacted]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test article: anti-hTfR mAb

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing, Frequency of doses, Number of doses	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study site	Study number	Location in CTD
Other toxicity studies Tissue cross-reactivity	Human / Cynomolgus monkey tissues	*in vitro*	NA	NA	No	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7.1

[redacted]

NA: Not applicable

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

Test article: JR-141

Type of study	Test system	Method of administration	Duration of dosing, Frequency of doses, Number of doses	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study site	Study number	Location in CTD
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Intravenous	4 weeks, 1 dose/week, 5 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.2
	Juvenile cynomolgus monkey	Intravenous	4 weeks, 1 dose/week, 5 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.3
	Cynomolgus monkey	Intravenous	26 weeks, 1 dose/week, 27 doses	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.4
[redacted]								

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test article: JR-141

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)				
	4 week IV monkey		4 week IV juvenile monkey	26 week IV monkey	
	M	F	M	M	F
3	35.0	33.2	34.9	20.7	9.68
10	161	176	158	81.9	97.1
30	662	555	538	432	358

Test article: JR-141

Dose (mg/kg/day)	AUC_{0-t} (μg·h/mL)				
	4 week IV monkey		4 week IV juvenile monkey	26 week IV monkey	
	M	F	M	M	F
3	180	125	91.2	113	23.5
10	994	1110	728	411	599
30	5860	5160	3280	3260	1870

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（ロット毎）一覧

Test article: JR-141

Lot number	Description	pH	Purity (SE-HPLC)	Protein concentration	Study number	Type of study
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.51	100.0%	8.38 mg/mL	[redacted]	4 week IV monkey
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.50	100.0%	8.55 mg/mL	[redacted]	4 week IV monkey 26 week IV monkey
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.50	99.6%	8.58 mg/mL	[redacted]	26 week IV monkey
[redacted]	Clear, colorless liquid	6.50	99.6%	11.61 mg/mL	[redacted]	4 week IV juvenile monkey 26 week IV monkey

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Report title: A preliminary 4-week intermittent intravenous dose toxicity study of RP-2703 in cynomolgus monkeys			Test article: RP-2703
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of dosing: 4 weeks (once weekly)	Study number: [redacted]
Initial age: 1 to 2 years			Location: 4.2.3.2.1
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]		Method of administration: Intravenous (10 mL/kg/h)	GLP compliance: No
Vehicle/Formulation: Physiological saline			
No toxic changes were noted at 30 mg/kg.			
Dose (mg/kg)		30	
Number of animals		M:1	F:1
Toxicokinetics			
C_{max} (μg/mL)	Day 0	605	605
	Day 28	560	505
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	Day 0	4760	4610
	Day 28	4470	3530
Noteworthy findings			
Mortality		0	0
Clinical signs		-	-
General behavior/Neurobehavioral function [a)]		-	-
Body weight/Food consumption		-	-
Electrocardiography		-	-
Blood pressure		-	-
Body temperature		-	-
Urinalysis		-	-
Blood chemistry		-	-
Necropsy		-	-
Organ weights		-	-

-: No test article-related findings

a) Evaluated using an FOB method

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Dose (mg/kg)		30	
Number of animals		M:1	F:1
Hematology			
RBC (10^6/μL)	Pre	5.44	5.78
	Day 27	5.19	5.60
Hb (g/dL)	Pre	13.9	13.1
	Day 27	13.3	12.1
Ht (%)	Pre	43.7	44.7
	Day 27	42.3	42.4
MCV (fL)	Pre	80.4	77.3
	Day 27	81.4	75.8
MCH (pg)	Pre	25.6	22.6
	Day 27	25.6	21.6
MCHC (g/dL)	Pre	31.9	29.2
	Day 27	31.5	28.5
Ret (%)	Pre	1.6	1.0
	Day 27	3.5	3.4
Histopathology			
Injection site (forearm, including cephalic vein, left)			
Thickening, subintima		1	0
Injection site (forearm, including cephalic vein, right)			
Cellular infiltration, inflammatory cell		1	1
Exudate, fibrinoid		0	1
Hemorrhage		0	1
Scab formation		0	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report title: A 4-week intermittent intravenous dose toxicity study of JR-141 in cynomolgus monkeys followed by a 4-week recovery period									Test article: JR-141
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus			Duration of dosing: 4 weeks (once weekly)						Study number: [redacted]
Initial age: 4 to 8 years			Duration of recovery period: 4 weeks						Location: 4.2.3.2.2
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]			Method of administration: Intravenous (10 mL/kg/h)						GLP compliance: Yes
Vehicle/Formulation: Physiological saline									
No-observed-adverse-effect level: 30 mg/kg									
Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
Number of animals		M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Toxicokinetics									
C_{max} (μg/mL)	Day 0	NC	NC	48.4	45.1	252	205	784	699
	Day 28	NC	NC	35.0	33.2	161	176	662	555
AUC_{0-t} (μg·h/mL)	Day 0	NC	NC	418	317	2320	1980	9100	6800
	Day 28	NC	NC	180	125	994	1110	5860	5160
Noteworthy findings									
Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs		-	-	-	-	-	-	-	-
Safety pharmacology									
General behavior/Neurobehavioral function [a)]		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory rate, blood gas		-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight/Food consumption		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology		-	-	-	-	-	-	-	-
Blood pressure		-	-	-	-	-	-	-	-
Body temperature		-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-
Blood chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-
Necropsy		-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights		-	-	-	-	-	-	-	-

-: No test article-related findings, NC: Not calculated

a) Evaluated using an FOB method

2.6.7.7.1 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
Number of animals		M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Hematology									
RBC (10^6/μL)	Pre	5.622±0.277	5.236±0.398	4.973±0.456*	5.190±0.121	5.297±0.230	5.330±0.078	5.546±0.290	5.328±0.184
	Day 22	5.648±0.272	5.362±0.293	4.903±0.329*	5.123±0.214	5.570±0.387	5.260±0.191	5.418±0.334	5.164±0.219
	Day 27	5.684±0.410	5.406±0.225	5.040±0.399	5.187±0.164	5.423±0.131	5.353±0.225	5.382±0.326	5.182±0.174
	Day 54 recovery [b)]	5.905	5.925	NA	NA	NA	NA	6.440	5.680
Hb (g/dL)	Pre	14.04±0.44	12.64±1.01	13.43±1.08	12.63±0.40	13.00±0.40	13.10±0.60	13.46±0.50	12.82±0.46
	Day 22	14.06±0.96	12.88±0.82	13.00±0.87	12.30±0.44	13.33±0.78	12.63±0.78	12.84±0.56	12.02±0.78
	Day 27	14.08±1.34	13.02±0.65	13.23±0.90	12.40±0.36	12.87±0.21	12.87±0.55	12.48±0.39	12.20±0.76
	Day 54 recovery [b)]	14.35	14.05	NA	NA	NA	NA	14.85	13.50
Ht (%)	Pre	43.42±1.43	39.56±2.56	41.00±2.34	38.87±0.67	39.97±0.45*	41.40±0.66	41.58±0.81	40.52±1.48
	Day 22	44.20±3.26	42.68±1.56	40.83±2.18	40.73±1.53	42.50±2.44	41.77±0.90	40.58±1.80	40.38±2.74
	Day 27	45.58±3.86	42.20±0.87	42.37±3.15	40.27±1.63	41.20±1.91	41.67±0.85	40.26±0.51*	39.48±2.01*
	Day 54 recovery [b)]	44.90	45.10	NA	NA	NA	NA	47.40	43.65
MCV (fL)	Pre	77.38±4.34	75.60±2.11	82.70±3.10	74.87±0.55	75.53±4.10	77.63±2.36	75.16±4.76	76.08±2.66
	Day 22	78.22±3.91	79.64±3.01	83.37±2.40	79.47±0.51	76.37±3.12	79.50±2.72	75.08±4.03	78.10±2.50
	Day 27	80.22±4.58	78.10±2.33	84.13±2.98	77.57±0.83	76.07±3.98	77.97±2.61	75.00±3.90	76.20±2.32
	Day 54 recovery [b)]	76.05	76.20	NA	NA	NA	NA	73.70	76.85
MCH (pg)	Pre	25.02±1.10	24.14±0.40	27.10±0.40*	24.30±0.26	24.57±0.40	24.67±1.52	24.30±1.38	24.04±0.69
	Day 22	24.94±1.12	24.02±0.52	26.57±0.12	23.97±0.15	23.93±0.25	24.03±1.53	23.70±1.09	23.34±0.70
	Day 27	24.78±1.22	24.12±0.62	26.30±0.35	23.90±0.10	23.77±0.21	24.03±1.46	23.22±1.04	23.54±0.72
	Day 54 recovery [b)]	24.30	23.70	NA	NA	NA	NA	23.10	23.75
MCHC (g/dL)	Pre	32.36±0.53	31.94±0.95	32.80±0.75	32.47±0.47	32.57±1.30	31.70±1.00	32.34±1.04	31.58±0.46
	Day 22	31.86±0.28	30.16±1.18	31.87±0.91	30.17±0.06	31.37±1.18	30.20±1.14	31.62±0.68	29.86±0.42
	Day 27	30.88±0.83	30.86±1.25	31.30±0.95	30.80±0.46	31.33±1.55	30.83±0.91	30.94±0.61	30.88±0.66
	Day 54 recovery [b)]	31.95	31.10	NA	NA	NA	NA	31.35	30.95
Ret (%)	Pre	1.04±0.32	1.08±0.65	0.73±0.25	0.80±0.61	0.97±0.23	0.87±0.47	0.84±0.21	0.78±0.24
	Day 22	0.94±0.32	1.46±0.37	0.83±0.15	0.97±0.06	0.93±0.15	1.10±0.20	0.70±0.19	1.20±0.20
	Day 27	1.48±0.94	1.52±0.58	1.13±0.06	1.57±0.72	1.57±0.50	1.73±0.23	1.24±0.55	2.26±0.23
	Day 54 recovery [b)]	0.90	0.95	NA	NA	NA	NA	1.10	1.10

Mean±S.D., multiple comparison (vs Control): *; $p<0.05$, NA: Not applicable

b) Mean, n=2

2.6.7.7.1 カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Histopathology								
Injection site (cephalic vein and perivascular tissue, left, right)								
Cellular infiltration, inflammatory cell	0	1	1	1	1	2	0	0
Thickening, subintima	2	1	1	1	0	2	2	1
Exudate, fibrinoid	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemorrhage	0	1	0	1	0	2	0	1

Dose (mg/kg)		3		10		30	
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Anti-JR-141 antibody							
Day 28	ADA	3	3	3	2	4	3
	Nab (TfR)	3	3	3	2	4	3
	Nab (M6PR)	3	2	2	2	4	3

ADA: anti-JR-141 antibodies, Nab (TfR): TfR-binding inhibitory antibodies, Nab (M6PR): M6PR-binding inhibitory antibodies

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report title: A 4-week intermittent intravenous dose toxicity study of JR-141 in juvenile cynomolgus monkeys followed by a 4-week recovery period					Test article: JR-141
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus			Duration of dosing: 4 weeks (once weekly)		Study number: [redacted]
Initial age: 3 to 5 months			Duration of recovery period: 4 weeks		Location: 4.2.3.2.3
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]			Method of administration: Intravenous (10 mL/kg/10 minutes)		GLP compliance: Yes
Vehicle/Formulation: Physiological saline					
No-observed-adverse-effect level: 30 mg/kg					
Dose (mg/kg)		0 (Control)	3	10	30
Number of animals		M:5	M:3	M:3	M:5
Toxicokinetics					
C_{max} (μg/mL)	Day 0	NC	51.9	166	518
	Day 28	NC	34.9	158	538
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg·h/mL)	Day 0	NC	212	851	3550
	Day 28	NC	91.2	728	3280
Noteworthy findings					
Mortality		0	0	0	0
Clinical signs		-	-	-	-
Body weight		-	-	-	-
Ophthalmology		-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-
Blood chemistry		-	-	-	-
Necropsy		-	-	-	-
Organ weights		-	-	-	-

-: No test article-related findings, NC: Not calculated

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control)	3	10	30
Number of animals		M:5	M:3	M:3	M:5
Hematology					
RBC (10^6/μL)	Pre	6.172±0.274	6.063±0.180	5.960±0.229	6.292±0.695
	Day 27	6.276±0.275	6.050±0.108	5.893±0.305	5.912±0.619
	Day 53 recovery [a)]	5.945	NA	NA	6.065
Hb (g/dL)	Pre	13.70±0.25	13.73±0.65	13.40±1.21	13.88±0.49
	Day 27	14.24±0.26	13.77±0.70	13.27±0.90	12.80±1.08*
	Day 53 recovery [a)]	14.10	NA	NA	13.90
Ht (%)	Pre	46.90±1.15	48.23±2.38	47.10±2.50	49.40±2.59
	Day 27	48.52±2.13	47.93±3.17	46.17±2.54	46.62±4.40
	Day 53 recovery [a)]	47.95	NA	NA	47.90
MCV (fL)	Pre	76.08±3.90	79.53±2.12	79.07±2.77	78.90±4.96
	Day 27	77.48±5.32	79.17±3.86	78.40±2.01	79.12±5.61
	Day 53 recovery [a)]	80.75	NA	NA	79.05
MCH (pg)	Pre	22.28±1.35	22.70±0.61	22.47±1.17	22.20±1.71
	Day 27	22.72±1.27	22.80±0.80	22.57±0.84	21.74±1.52
	Day 53 recovery [a)]	23.75	NA	NA	22.95
MCHC (g/dL)	Pre	29.26±0.93	28.53±0.15	28.47±1.45	28.14±0.69
	Day 27	29.38±0.79	28.80±0.36	28.80±0.40	27.52±0.49**
	Day 53 recovery [a)]	29.45	NA	NA	29.00
Ret (%)	Pre	1.34±0.56	1.37±0.25	1.37±0.51	1.60±0.30
	Day 27	1.14±0.42	1.13±0.31	1.60±0.26	2.76±0.36**
	Day 53 recovery [a)]	0.95	NA	NA	0.65

Mean±S.D., multiple comparison (vs Control): *; $p<0.05$ **; $p<0.01$, NA: Not applicable

a) Mean, n=2

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける JR-141 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Number of animals	M:3	M:3	M:3	M:3
Histopathology				
Injection site (cephalic vein and perivascular tissue, left, right)				
Exudate, fibrin	0	1	2	1
Fibrosis	1	1	0	0
Hemorrhage	2	1	3	2
Infiltrate, inflammatory cell	1	1	3	1
Regeneration, muscle fiber	0	1	0	0

Dose (mg/kg)		3	10	30
Number of animals		M:3	M:3	M:5 [a)]
Anti-JR-141 antibody				
Day 28	ADA	3	3	3
	Nab (TfR)	3	3	3
	Nab (M6PR)	3	2	2

ADA: anti-JR-141 antibodies, Nab (TfR): TfR-binding inhibitory antibodies, Nab (M6PR): M6PR-binding inhibitory antibodies

a) Not applicable in 1 male

2.6.7.7.3 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

Report title: A 26-week intermittent intravenous dose toxicity study of JR-141 in cynomolgus monkeys followed by an 8-week recovery period						Test article: JR-141			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus			Duration of dosing: 26 weeks (once weekly)			Study number: [redacted]			
Initial age: 2 to 4 years			Duration of recovery period: 8 weeks			Location: 4.2.3.2.4			
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]			Method of administration: Intravenous (10 mL/kg/h)			GLP compliance: Yes			
Vehicle/Formulation: Physiological saline									
No-observed-adverse-effect level: 30 mg/kg									
Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
Number of animals		M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics									
C_{max} (μg/mL)	Day 0	NC	NC	44.5	42.2	189	169	540	574
	Day 84	NC	NC	27.6	24.6	104	130	546	442
	Day 182	NC	NC	20.7	9.68	81.9	97.1	432	358
AUC_{0-t} (μg·h/mL)	Day 0	NC	NC	316	256	1640	1210	5900	5380
	Day 84	NC	NC	115	108	526	712	3710	2620
	Day 182	NC	NC	113	23.5	411	599	3260	1870
Noteworthy findings									
Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs		-	-	-	-	-	-	-	-
Safety pharmacology									
General behavior/Neurobehavioral function [a)]		-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight/Food consumption		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-
Blood chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-
Necropsy		-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights		-	-	-	-	-	-	-	-

-: No test article-related findings, NC: Not calculated

a) Evaluated using an FOB method

2.6.7.7.3 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
Number of animals		M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Hematology									
RBC (10^6/μL)	Pre	5.360±0.165	5.522±0.135	5.843±0.330	5.625±0.303	5.663±0.418	5.343±0.072	5.627±0.309	5.353±0.386
	13 weeks	5.118±0.193	5.213±0.174	5.518±0.246	5.380±0.467	5.615±0.464*	5.005±0.172	5.350±0.219	4.988±0.316
	26 weeks	5.427±0.239	5.523±0.276	5.910±0.213**	5.583±0.355	5.670±0.140	5.283±0.245	5.755±0.231*	5.423±0.278
	34 weeks recovery [b]	5.880	5.440	NA	NA	NA	NA	5.975	6.020
Hb (g/dL)	Pre	13.05±0.44	13.43±0.54	14.10±0.78	12.98±0.63	13.65±0.78	13.00±0.37	13.55±0.79	12.90±0.79
	13 weeks	12.27±0.47	12.35±0.52	13.05±0.57	12.38±0.92	12.98±1.05	11.73±0.22	12.20±0.74	11.27±0.31**
	26 weeks	13.13±0.44	13.02±0.59	14.03±0.43*	12.68±0.97	13.30±0.44	12.60±0.26	13.08±0.61	12.35±0.27
	34 weeks recovery [b]	14.10	12.95	NA	NA	NA	NA	13.90	13.40
Ht (%)	Pre	41.68±1.73	42.57±1.40	45.70±3.01*	41.93±1.71	45.23±1.88	41.73±2.10	44.03±2.07	41.35±2.15
	13 weeks	39.77±1.78	40.83±1.59	43.25±2.12	40.95±2.39	43.48±2.61*	38.68±1.71	41.12±2.23	38.03±0.98*
	26 weeks	42.57±1.20	42.72±2.03	46.30±3.23*	42.18±2.85	44.48±1.17	41.38±0.81	43.92±1.91	40.90±1.40
	34 weeks recovery [b]	47.05	43.60	NA	NA	NA	NA	46.00	44.95
MCV (fL)	Pre	77.80±2.21	77.05±1.48	78.28±4.25	74.60±1.96	80.03±3.06	78.10±4.41	78.28±2.22	77.40±3.01
	13 weeks	77.70±1.97	78.35±2.01	78.38±2.29	76.30±3.43	77.58±2.44	77.38±3.69	76.87±1.90	76.38±3.00
	26 weeks	78.53±2.12	77.35±1.38	78.33±3.81	75.50±2.18	78.48±2.47	78.45±3.42	76.35±3.06	75.55±3.13
	34 weeks recovery [b]	80.05	80.10	NA	NA	NA	NA	76.95	74.65
MCH (pg)	Pre	24.38±0.61	24.28±0.71	24.13±0.21	23.08±0.62	24.15±1.13	24.30±0.84	24.12±0.49	24.12±1.19
	13 weeks	23.97±0.77	23.68±0.69	23.65±0.13	23.03±1.11	23.10±0.73	23.45±0.75	22.82±0.71*	22.67±1.20
	26 weeks	24.27±0.78	23.57±0.84	23.73±0.22	22.70±1.06	23.48±0.93	23.88±0.98	22.78±0.89*	22.80±1.14
	34 weeks recovery [b]	24.05	23.85	NA	NA	NA	NA	23.30	22.20
MCHC (g/dL)	Pre	31.35±1.02	31.52±0.52	30.88±1.48	30.93±0.57	30.15±0.70	31.15±0.93	30.82±0.66	31.17±0.78
	13 weeks	30.87±0.69	30.23±0.33	30.18±0.95	30.18±0.54	29.78±0.75	30.33±0.92	29.70±0.41*	29.65±0.69
	26 weeks	30.88±0.58	30.48±0.66	30.30±1.66	30.08±0.56	29.90±0.43	30.40±0.56	29.85±0.47*	30.18±0.67
	34 weeks recovery [b]	30.05	29.75	NA	NA	NA	NA	30.25	29.80
Ret (%)	Pre	1.03±0.31	1.00±0.38	1.05±0.25	0.98±0.17	1.23±0.62	1.10±0.18	0.95±0.25	1.02±0.08
	13 weeks	2.02±0.47	1.85±0.55	2.05±0.54	1.43±0.43	2.58±1.83	1.88±0.57	2.32±0.31	2.38±0.50
	26 weeks	1.08±0.33	0.95±0.38	0.98±0.33	1.03±0.56	1.10±0.35	1.25±0.57	1.07±0.36	0.82±0.24
	34 weeks recovery [b]	1.00	1.05	NA	NA	NA	NA	0.55	0.70

Mean±S.D., multiple comparison (vs Control): *; $p<0.05$ **; $p<0.01$, NA: Not applicable

b) Mean, n=2

2.6.7.7.3 カニクイザルにおける JR-141 の 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Histopathology								
Injection site (cephalic vein and perivascular tissue, left, right)								
Cellular infiltration, inflammatory cell	2	1	1	0	2	0	2	2
Exudate, fibrin	1	0	0	0	0	0	0	2
Fibrosis, perivascular	0	0	0	1	1	1	1	0
Hemorrhage, perivascular	4	0	0	0	1	1	2	2
Thickening, subintima	3	0	2	0	2	0	2	0

Dose (mg/kg)		3		10		30	
Number of animals		M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Anti-JR-141 antibody							
Day 84	ADA	4	3	4	4	6	4
	Nab (TfR)	4	3	4	3	6	4
	Nab (M6PR)	3	3	4	3	5	4
Day 182	ADA	4	3	4	3	4	5
	Nab (TfR)	4	3	4	2	4	5
	Nab (M6PR)	3	3	4	2	4	5

ADA: anti-JR-141 antibodies, Nab (TfR): TfR-binding inhibitory antibodies, Nab (M6PR): M6PR-binding inhibitory antibodies

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 抗 hTfR mAb のヒト及びカニクイザル組織交差反応性

Report title: Tissue cross-reactivity of mouse anti-human transferrin receptor monoclonal antibody with human and cynomolgus monkey tissues *in vitro*		Test article: anti-hTfR mAb
Species: Human and Cynomolgus monkey tissues	Method of administration: *in vitro*	Study number: [redacted]
Number of donors per tissue: 1	Concentration of test article: 10 μg/mL (monkey), 5 μg/mL (human)	Location: 4.2.3.7.7.1
GLP compliance: No		
Noteworthy findings: - The test article showed reactivity to various human tissues other than endothelium (aorta), striated muscle (skeletal muscle) and blood cells. - The monkey tissues showing negative reactions were endothelium (aorta), striated muscle (skeletal muscle), blood cells, renal medulla, lung, pancreas, parotid gland, peripheral nerve, pituitary, thyroid and uterus (cervix) among the examined tissues. - The human and monkey vascular endothelial cells in brain (cerebellum, cerebrum and spinal cord), the main components of blood-brain barrier, were also positive for the anti-hTfR mAb. - These results indicate that TfR expression profile in human tissues was similar to that in monkey tissues.		

2.6.7.17.2 JR-141 のヒト組織交差反応性試験

Report title: Tissue cross-reactivity of JR-141 with human tissues *in vitro*		Test article: JR-141
Species: Human tissues	Method of administration: *in vitro*	Study number: [redacted]
Number of donors per tissue: 3	Concentration of test article: 0.5, 5, and 10 μg/mL	Location: 4.2.3.7.7.2
GLP compliance: Yes		
Noteworthy findings: - TfR-specific positive reactions to the test article were observed in almost all organs and tissues examined. - Moderate to marked TfR-specific reactions were observed in the cytoplasm and/or membrane of the bone marrow (bone marrow cells), brain; cerebellum and cerebrum (vascular endothelia), colon and ileum (mucosal epithelia), eye (corneal and conjunctival epithelia), breast (acinar cells/ductal epithelia), lung (alveolar epithelia/alveolar macrophages), lymph node (sinus macrophages), spleen (red pulp-constituting cells), parathyroid, placenta (trophoblasts) and uterine endometrium (glandular epithelia).		