目次

1　まとめ 7

2　単回投与毒性試験 12

2.1　マウス単回皮下投与毒性試験 12

3　反復投与毒性試験 13

3.1　マウス反復投与毒性試験 13

3.1.1　マウス 14 日間皮下投与毒性試験 13

3.1.2　マウス 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 14

3.1.3　マウス 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 16

3.1.4　マウス 26 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 19

3.2　ラット反復投与毒性試験 21

3.2.1　ラット 14 日間皮下投与毒性試験 21

3.2.2　Wistar Han ラット、Fischer-344 ラット及び Sprague-Dawley ラット 14 日間皮下投与毒性及び TK 比較試験 23

3.2.3　ラット 13 週間皮下投与毒性試験 25

3.3　サル反復投与毒性試験 27

3.3.1　サル 3 日間皮下投与毒性予備試験 27

3.3.2　サル 14 日間皮下投与毒性試験 27

3.3.3　サル 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 28

3.3.4　サル 13 週間皮下投与毒性試験及び 30 日間回復性試験 31

3.3.5　サル 1 年間皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（27 週間投与中間評価含む） 33

4　遺伝毒性試験 38

4.1　*in vitro* 試験 38

4.1.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 38

4.1.2　哺乳動物細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験 38

4.2　*in vivo* 試験 39

4.2.1　マウス骨髄小核試験 39

5 がん原性試験 40
5.1 長期試験 40
5.1.1 マウス 104 週間皮下投与がん原性試験 40
5.1.2 ラット 104 週間皮下投与がん原性試験 43
6 生殖発生毒性試験 46
6.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 46
6.1.1 ラット受胎能及び初期胚発生試験 46
6.2 胚・胎児発生毒性 46
6.2.1 ラット胚・胎児発生毒性試験 46
6.2.2 ウサギ胚・胎児発生毒性試験 47
6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能 48
6.3.1 ラット出生前／出生後の発生並びに母体機能に関する試験 48
7 幼若動物を用いる試験 50
7.1 幼若ミニブタ 90 日間皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 50
8 局所刺激性試験 53
8.1 ウサギ単回静脈内／静脈周囲／動脈内投与局所刺激性試験 53
8.2 ミニブタ 13 日間皮下投与刺激性試験 53
9 その他の毒性試験 56
9.1 抗原性試験 56
9.1.1 マウス遅延型過敏反応試験 59
9.1.2 ウサギ免疫原性試験 59
9.2 免疫毒性試験 60
9.3 不純物の毒性試験 60
9.4 その他の試験 60
9.4.1 溶血性及び血液適合性試験 60
9.4.2 カニクイザル C 反応性タンパク増加に関する探索的毒性メカニズム試験 61
10 考察及び結論 62

参考文献.....67

表目次

表 2.6.6- 1　テデュグルチドの毒性試験プログラム.....7
表 2.6.6- 2　マウス 14 日間試験の TK パラメータ.....13
表 2.6.6- 3　マウス 4 週間試験の TK パラメータ.....15
表 2.6.6- 4　マウス 13 週間試験の TK パラメータ.....17
表 2.6.6- 5　マウス 26 週間試験の TK パラメータ.....20
表 2.6.6- 6　ラット 14 日間試験の TK パラメータ.....22
表 2.6.6- 7　ラット 14 日間比較試験の TK パラメータ.....24
表 2.6.6- 8　ラット 13 週間試験の TK パラメータ.....26
表 2.6.6- 9　サル 14 日間試験の TK パラメータ.....28
表 2.6.6- 10　サル 28 日間試験の TK パラメータ.....29
表 2.6.6- 11　サル 13 週間試験の TK パラメータ.....32
表 2.6.6- 12　サル 52 週間試験の TK パラメータ.....35
表 2.6.6- 13　マウスがん原性試験の TK パラメータ.....41
表 2.6.6- 14　マウスがん原性試験の胆嚢及び小腸における腫瘍性病変の発現頻度.....42
表 2.6.6- 15　ラットがん原性試験の TK パラメータ.....44
表 2.6.6- 16　ラットがん原性試験での胆管及び小腸における腫瘍性病変発現頻度.....45
表 2.6.6- 17　ラット胚・胎児発生試験の母動物 TK パラメータ.....47
表 2.6.6- 18　ウサギ胚・胎児発生試験の母動物 TK パラメータ.....48
表 2.6.6- 19　幼若ミニブタ 90 日間試験の TK パラメータ.....51
表 2.6.6- 20　ミニブタ皮膚刺激性試験デザイン.....54
表 2.6.6- 21　反復投与試験での抗体発現.....57
表 2.6.6- 22　サル個体別抗体価及び曝露量.....58
表 2.6.6- 23　製剤の規格値に基づく不純物の曝露量比（動物試験／臨床試験）.....60
表 2.6.6- 24　NOEL/NOAEL 及び曝露量比の要約.....66

略号及び用語の説明

略号／用語	日本語	英語
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ	alanine aminotransferase
AOM	アゾキシメタン	azoxymethane
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	aspartate aminotransferase
AUC	濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
AUC_{0-X}	投与後 X 時間までの濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve from time of dosing to X hours postdose
AUC_{0-t}	測定可能であった最終時点までの濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve from time of dosing to the last measurable concentration
C_{max}	最高濃度	maximum concentration
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	chinese hamster ovary
CRP	C 反応性タンパク	c-reactive protein
DMH	ジメチルヒドラジン	dimethylhydrazine
DMSO	ジメチルスルホキシド	dimethylsulfoxide
DSS	デキストラン硫酸ナトリウム	dextran sodium sulphate
DTH	遅延型過敏反応	delayed-type hypersensitivity
ECG	心電図	electrocardiogram
ECP	*Escherichia coli* タンパク質	*Escherichia coli* protein
ELISA	酵素免疫測定法	enzyme linked immunosorbent assay
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practices
GLP-2	グルカゴン様ペプチド-2	glucagon-like peptide-2
GLP-2R	グルカゴン様ペプチド-2 受容体	glucagon-like peptide-2 receptor
Gly-GLP-2	2 番目のアラニンをグリシンに置換した合成 GLP-2	synthesized GLP-2 through substitution of glycine for alanine in position 2
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議	International Conference on Harmonization
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法	liquid chromatography tandem mass spectrometry
NCE	正染性赤血球	normochromatic erythrocytes
NOAEL	無毒性量	no observable adverse effect level
NOEL	無影響量	no observable effect level

略号及び用語の説明（続き）

略号／用語	日本語	英語
PBS	リン酸緩衝食塩水	phosphate-buffered saline
PCE	多染性赤血球	polychromatic erythrocytes
PCNA	増殖細胞核抗原	proliferating cell nuclear antigen
$t_{1/2}$	消失半減期	elimination half-life
テデュグルチド	遺伝子組換えヒトグルカゴン様ペプチド-2（GLP-2）アナログであり、2番目のアラニンがグリシンに置換された33個のアミノ酸残基からなるペプチド（開発コード：ALX-0600）	teduglutide a recombinant human glucagon like peptide-2 (GLP-2) analog in which Ala at position 2 is substituted by Gly, a peptide consisting of 33 amino acid residues (compound code: ALX-0600)
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
T_{max}	最高濃度到達時間	time to reach maximum concentration
TUNEL	-	terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling
類縁物質D*	テデュグルチドの[redacted]～[redacted]番目のアミノ酸残基に相当する断片	a peptide consisting of the amino acid residues from position [redacted] to [redacted] of teduglutide
類縁物質C*	テデュグルチドの[redacted]～[redacted]番目のアミノ酸残基に相当する断片	a peptide consisting of the amino acid residues from position [redacted] to [redacted] of teduglutide

＊新薬承認情報提供時に置き換え

1　まとめ

テデュグルチドは、天然型ヒトグルカゴン様ペプチド-2（GLP-2）の新規遺伝子組換えアナログである。日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに従い、テデュグルチドの毒性を検討するための単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、幼若動物を用いる試験、局所刺激性試験、溶血性試験、抗原性試験及びサルでの毒性メカニズム試験からなる非臨床開発プログラムを実施した（表 2.6.6- 1）。主要な試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。これらの試験では、液剤又は臨床試験で使用される製剤及び市販予定製剤と同等の凍結乾燥粉末を使用した。

テデュグルチドの投与経路は、臨床で使用される投与経路と同じ皮下投与とした。

テデュグルチドは、マウス、ラット、モルモット、フェレット、イヌ、ミニブタ及びカニクイザルを用いた効力を裏付ける試験で活性を示した（2.6.2 項）。主要な反復投与毒性試験はマウス及びサルで実施し、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、ラット及びマウスがん原性試験、ラット及びウサギ生殖発生毒性試験を実施した。幼若動物を用いた毒性試験にはミニブタを使用した（表 2.6.6- 1）。これらの動物種のトキシコキネティクス（TK）プロファイルを包括的に検討し、テデュグルチドの非臨床安全性評価を補完した。血漿中テデュグルチド濃度は、バリデートされた酵素免疫測定法（ELISA）又は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いて測定した。

表 2.6.6- 1　　テデュグルチドの毒性試験プログラム

試験番号	試験の種類	投与期間	投与経路	動物種	GLP
88614	単回投与毒性	1 日	皮下	マウス/CD-1	適
88617	反復投与毒性	14 日	皮下	マウス/CD-1	適
88730	反復投与毒性	4 週	皮下	マウス/CD-1	適
0470MN12.001	反復投与毒性	13 週	皮下	マウス/CD-1	適
7203-112	反復投与毒性	26 週	皮下	マウス/CD-1	適
02-2776	反復投与毒性	14 日	皮下	ラット/Sprague-Dawley	適
800869	反復投与毒性	14 日	皮下	ラット/Wistar Han, Fischer-344, Sprague-Dawley	適
800069	反復投与毒性	13 週	皮下	ラット/Sprague-Dawley	適
88616	反復投与毒性	3 日	皮下	サル/Cynomolgus	適
88619	反復投与毒性	14 日	皮下	サル/Cynomolgus	適
88729	反復投与毒性	28 日	皮下	サル/Cynomolgus	適
7203-100	反復投与毒性	13 週	皮下	サル/Cynomolgus	適
1368-100	反復投与毒性	12 ヵ月	皮下	サル/Cynomolgus	適

表 2.6.6- 1　　テデュグルチドの毒性試験プログラム（続き）

試験番号	試験の種類	投与期間	投与経路	動物種	GLP
88665	遺伝毒性	NA	*In vitro*	*Salmonella typhymurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) *E.Coli* (WP2 *uvr*A)	適
88666	遺伝毒性	NA	*In vitro*	CHO 細胞	適
AA65WK.123.BTL	遺伝毒性	1 日	皮下	マウス/CD-1	適
8214171	がん原性	104 週	皮下	マウス/CD-1	適
800070	がん原性	104 週	皮下	ラット/Wistar Han	適
98357	生殖発生毒性	a)、b)	皮下	ラット/ Sprague-Dawley	適
7203-117	生殖発生毒性	妊娠 6～17 日	皮下	ラット/ Sprague-Dawley	適
[redacted]-487001	生殖発生毒性	妊娠 7～20 日	皮下	ウサギ/ New Zealand White	適
[redacted] 00008	生殖発生毒性	妊娠 7～授乳 20 日	皮下	ラット/ Sprague-Dawley	適
51153	幼若動物を用いる試験	14 日	皮下	ミニブタ/ Gottingen	適
66585	幼若動物を用いる試験	90 日	皮下	ミニブタ/ Gottingen	適
7203-101	局所刺激性	単回	静脈内、静脈周囲、動脈内	ウサギ/ New Zealand White	適
6852-175	局所刺激性	13 日	皮下	ミニブタ/ Gottingen	適
0711XA27.001	抗原性	3 週	皮内	マウス/BALB/cByJ	適
47063	抗原性	6 週	皮下、筋肉内	ウサギ/ New Zealand White	適
7203-102	溶血性	NA	*In vitro*	マウス、ミニブタ、サル、ヒト血清、血漿及び全血	適
519157	毒性メカニズム c)	単回 d)	皮下	サル/Cynomolgus	不適

CHO = チャイニーズハムスター卵巣、NA = 該当せず

[a] 雄：交配前 28 日間、交配期間中及び交配後は剖検時まで（63～66 回投与）

[b] 雌：交配前 14 日間、交配期間中及び妊娠 7 日目まで

[c] 本試験では、サルにおいて、製剤中の *Escherichia coli* タンパク質に関連した C 反応性タンパクの変動の可能性を検討した

[d] 各動物は 7 日間のウォッシュアウト期間を設け、ラテン方格クロスオーバーデザインで各ロットを 1 回、計 4 回投与

マウス単回投与試験では、200 mg/kg/day までの 1 日 2 回皮下投与時のテデュグルチドの忍容性は良好であった。死亡は認められず、概略の致死量は 200 mg/kg/day 超であった。

反復投与毒性試験では、主にマウス及びサルを用いてテデュグルチドを評価した。さらに、毒性評価と共に 2 年間がん原性試験の用量及び系統選択のために、ラット反復投与試験を実施した。

マウスにおける主な所見は、腸粘膜肥大及び過形成並びに体重及び摂餌量の軽微な増加であり、腸重量増加に関連した所見であると考えられる。腸管の過形成及び肥大は、腸の絨毛高増大及び陰窩深の拡大として観察された。これらの作用に一致した小腸及び大腸の重量及び長さの増加が認められた。これらの所見は、全試験において認められ、その用量範囲は 0.2 mg/kg/day（4 週間）～25/50 mg/kg/日（26 週間）であった。さらに、胆嚢においても粘膜増殖反応が認められた（細胞質空胞化の減少を伴う上皮肥大及び／又は過形成）。マウス 26 週間投与試験では、特有の所見として、白血球パラメータ増加、脾臓での髄外造血、胸骨骨髄過形成及び胆管過形成が認められた。これらの所見に明らかな有害転帰は認められず、本試験で顕著であった投与部位での反応を反映した所見と考えられた。ほとんどの試験において、脾臓及び肝臓の重量増加が認められたが、これに対応する病理組織学的に関連のある変化は 26 週間投与試験のみでみられた。すなわち、当該試験では、脾臓重量に関連した脾臓の髄外造血及び／又はリンパ球過形成、肝重量に関連した胆嚢上皮肥大及び／又は過形成並びに肝細胞肥大が観察された。検討した全投与量で曝露量（濃度-時間曲線下面積［AUC］）は明らかに用量に比例して増加したにもかかわらず、過形成の程度は増大しなかった。腸への影響（重量増加及び伸長並びに病理組織学的変化）は、休薬期間中に一部消失し、他の器官における変化も、部分的又は完全に消失した。マウスでは投与部位における炎症性病変が顕著であったが、このような投与部位の病変は、対照動物の一部でも認められ、重症度はごく軽微な傾向にあった。マウス 4 週間投与試験において、抗テデュグルチド抗体が低力価で散発的に検出されたが、薬理活性又は曝露量への影響は認められなかった。一方、13 週間又は 26 週間の試験では、抗体産生は認められなかった。

ラットに 13 週間まで連日投与したときに観察された所見は、テデュグルチドの薬理活性に一致した小腸の重量増加及び伸長並びに過形成のみであった。ごく軽微～中等度の投与部位の炎症が認められ、抗テデュグルチド抗体は検出されなかった。

サルで観察された所見はマウスと一致しており、主な所見は、腸の重量増加及び伸長並びに腸粘膜過形成であった。マウスで観察された所見と同様に腸管の変化は腸の絨毛高増大及び陰窩深拡大に関連していた。サル 14 日間、4 週間及び 13 週間試験では、胃の重量増加も認められた。これらの所見は全投薬群に認められ、発現頻度及び重症度はいずれの投与量でも同程度であった。腸の変化は、薬理活性に関連した所見であり、有害な転帰を伴わなかった。同様に、胆嚢上皮、胆管及び膵管に観察された肥大／過形成に起因する有害作用は認められていない。サルの膵管で認められた所見は、マウスの膵管では観察されなかった。サル 1 年間試験で観察された特有の所見として、腹部膨満及び包皮／陰嚢腫脹が認められた。一部の試験で肝臓重量の増加が認められた。これは、胆管上皮肥大に関連する可能性があった。マウスと同様、検討した全投与量で曝露量（AUC）は明らかに用量に比例して増加したが、各種臓器での過形成の重症度は増大しなかった。休薬期間中、観察された所見は、部分的又は完全に消失した。投与部位の炎症性病変は、全てのサルの試験で一貫して観察され、その重症度は、用量の増加に伴い悪化した。これらの病変に対する二次的反応として、白血球パラメータの上昇が認められた（13 週間及び 1 年間試

験）。サルでの投与部位の重症度は、マウスに比べて顕著であった。サルでは、4 週間、13 週間及び 1 年間試験において、テデュグルチド投与により抗体産生が認められた。抗体価及び抗体価が認められた動物数は、用量増加に伴い増加した。13 週間試験においてのみ、5 mg/kg/day 以上の用量で投与 1 日目に比べて投与 90 日目の平均曝露量に低下が認められた。しかし、個々の動物の曝露量低下の程度と抗体反応との間に一貫した関連性は認められなかった。抗テデュグルチド抗体が陽性であったサルでも、腸管において予期される薬理作用が認められた。

このように反復投与後にみられたテデュグルチド投与に関連した所見は、検討した様々な動物種で類似しており、本剤の薬理作用（すなわち、小腸の伸長及び小腸粘膜過形成及び／又は肥大）又は過度の薬理作用（すなわち、非標的臓器の肥大及び／又は過形成）に関連していた。毒性試験における腸の変化の発現頻度及び重症度は、全投薬群で概ね同程度であった。これは、毒性試験において評価された用量（0.2～50 mg/kg/day）が、用量反応曲線のプラトーに達していたため、全投薬群で腸栄養作用が最大に達したことによると考えられる（2.6.2.2.4.1 項参照）。非標的臓器で観察された所見は、本剤の過度の薬理作用によると考えられる。休薬期間後、腸の変化は部分的又は完全に消失した。その他の臓器への影響も休薬期間中に部分的又は完全に消失した。ほとんどの動物種で投与部位の炎症が認められ、サル及び幼若ミニブタで顕著であった。

細菌を用いる復帰変異原性試験及びチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験並びに *in vivo* マウス小核試験で、テデュグルチドの遺伝毒性を検討した。テデュグルチドはこれらの試験で陰性であった。

マウスがん原性試験では、全投薬群で胆嚢の良性腺腫が認められ、その発現は低用量群及び高用量群の雄で統計学的に有意であった。この所見は、本剤の薬理活性に関連した二次的影響及び／又は局所刺激反応であると考えられる。高用量群の雄で空腸腺癌が認められ、これもテデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響と考えられる。雄マウスでは、雌に比べて曝露量が大きい傾向が認められた。2 年間ラットがん原性試験では、高用量群の雄で胆管及び空腸にテデュグルチドの腸栄養活性に関連すると考えられる良性腫瘍の増加が認められた。本試験の曝露量は雌と比較して雄で一貫して高値であった。

テデュグルチドは、ラットの生殖能、初期胚発生又は精子パラメータに影響を及ぼさず、ラット及びウサギにおいて奇形の増加又は発生毒性を引き起こさず、ラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。

幼若ミニブタを用いた 90 日間投与毒性試験においても、投薬に関連した薬理作用が観察され、成熟動物（マウス、ラット及びサル）で観察された所見と一致した。小児集団における特定のリスクを示唆する新たな又は特有の毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験で報告された投与部位の変化に加えて、ウサギでの単回静脈内、静脈周囲及び動脈内投与後の局所刺激性並びにミニブタでの反復皮下投与後の局所刺激性を評価した。ウサギでは、静脈周囲及び動脈内投与後に血腫形成を伴う一過性の明瞭な紅斑が認められたが、静脈内投与後の投与部位刺激は認められなかった。ミニブタでは、テデュグルチドは濃度依存的かつ投与法依存的に刺激反応を引き起こした。20 mg/mL 投与では、30 及び 50 mg/mL に比べて明らかな作用は認められず、4 日ごとの投与では連日投与に比べて変化が極軽微であった。

テデュグルチドは、ラット及びウサギにおいて抗原性を示さなかった。マウスの短期曝露では抗原性を示さなかったが、より長期の投与では、弱～中等度の抗体反応を、またサルでは、一部の個体で弱い反応を誘発した。マウスがん原性試験では、1 mg/kg/day 以上の 1 日 1 回皮下投与で、13 又は 26 週間以降に抗体が検出された。全投薬群で中和抗体も検出されたが、発現頻度は低かった。サルでは、0.6 mg/kg/day 以上の 1 日 2 回、4 週間以上の皮下投与後、抗体発現を認めたが、投与中止により抗体価が低下した。マウス及びサルにおいて、抗テデュグルチド抗体の発現に伴う腸における薬理活性の低下は認められず、抗体の存在による全身曝露量が減少するという一貫したエビデンスも認められなかった。したがって、マウス及びサルで抗テデュグルチド抗体が発現したが、テデュグルチドの非臨床安全性／毒性試験はこれら動物種で適切に評価されたと考えられる。

TK 評価において、テデュグルチドは、皮下投与後、速やかに吸収されることが示された。最高濃度（C_{max}）及び AUC は概ね投与量に比例して増大し、蓄積性は認められなかった。マウス及びラットでは、雌に比べて雄での曝露量が大きい傾向がみられたが、この影響は顕著ではなく（2 倍未満）、ミニブタやサルでは認められなかった。

2　単回投与毒性試験

2.1　マウス単回皮下投与毒性試験

（試験番号 88614、添付資料番号 4.2.3.1.1、評価資料）

CD-1 マウスにテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与し、急性毒性を評価した。雌雄各 5 匹のマウスに、溶媒（リン酸緩衝食塩水［PBS］）又は 200 mg/kg/day（1 回 100 mg/kg を 2 回）のテデュグルチドを投与した（投与容量：20 mL/kg/回）。全例を 14 日間観察した。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査であった。

試験期間中に死亡は認められず、一般状態観察、体重変動、剖検及び病理組織学的検査に投薬に関連した所見は認められなかった。

結論として、マウスにおいて、200 mg/kg/day（1 回 100 mg/kg を 2 回）を投与したときのテデュグルチドの忍容性は良好であり、有害所見は認められなかった。1 日 2 回皮下投与後に死亡は認められず、概略の致死量は、200 mg/kg/day 超であった。

3　反復投与毒性試験

3.1　マウス反復投与毒性試験

3.1.1　　マウス 14 日間皮下投与毒性試験

（試験番号 88617、添付資料番号 4.2.3.2.1、評価資料）

雄性 CD-1 マウス（10 匹／群）に、0（PBS）、10 及び 20 mg/kg/day のテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、14 日間皮下投与し、毒性を検討した。投与容量は 20（10 mg/kg/day 群）又は 40 mL/kg/回（0 及び 20 mg/kg/day 群）とした。全例を 14 日間の投与期間終了後に計画屠殺した。さらに TK 評価のために各群雄 48 匹のマウスに同様に 1 日 2 回 14 日間皮下投与した。評価項目は、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、TK、剖検、臓器重量、腸管の長さ並びに病理組織学的検査（0 及び 20 mg/kg/day 群は全組織、10 mg/kg/day 群は、投与部位、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）とした。

試験期間中、死亡は認められず、投薬に関連した一般症状も認められなかった。20 mg/kg/day 群の体重は、対照群と比較して有意に高値であった。10 mg/kg/day 群にも同様の所見がみられたがその程度は軽減した。摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査及び血液生化学的検査に投薬に関連した影響は認められなかった。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 2）。

表 2.6.6- 2　　マウス 14 日間試験の TK パラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}1.5}$ (μg•hr/mL)
Day 1			
10	4.8	0.5	4.3
20	7.5	0.75	7.9
Day 14			
10	5.7	0.75	5.1
20	9.1	0.5	9.3

Source: Study 88617

血漿中テデュグルチド濃度は、投与後 30～45 分以内に最高値に達した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}1\,5}$ は、初回及び反復投与後に用量に比例して増大した。投与 14 日目の投与前値は定量下限未満であったため、1 日 2 回 14 日間投与後に定常値に達したか否かは不明である。明らかな蓄積性は認められなかった。

投与終了時の剖検に投薬に関連した所見は認められなかった。全投薬群に小腸及び大腸の重量及び長さに増加が認められた。腸の重量増加及び伸長は、本剤の薬理作用から予期される影響であるため、有害所見とはみなさなかった。

病理組織学的検査では、20 mg/kg/day 群に腸粘膜過形成（十二指腸、回腸、空腸）が認められ、その特徴は絨毛高の増大であった。10 mg/kg/day でも、程度は低いが同様の変化が認められた。さらに、20 mg/kg/day 群の 2 匹の雄マウスにおいて、尿細管上皮過形成が認められた。腸粘

膜過形成は、予期されるテデュグルチドの薬理作用によって生じたため、有害とはみなさなかった。投与部位の病理組織学的所見として、10 及び 20 mg/kg/day 群の全動物に軽微～軽度の線維症並びに 10 及び 20 mg/kg/day 群のそれぞれ雄 1 匹及び雄 2 匹に軽微な炎症が観察された。溶媒対照群の 1 匹にも軽微な線維症が認められた。

結論として、CD-1 マウスに 10 及び 20 mg/kg/day のテデュグルチドを 1 日 2 回、14 日間連続皮下投与したときの忍容性は良好であった。観察された影響は、いずれも有害ではないとみなされた。小腸及び大腸で観察された病理組織学的変化は、本剤の予期される薬理学的反応による所見であった。20 mg/kg/day 群の 2 匹のマウスで観察された軽微な尿細管上皮過形成は、おそらく投薬に関連する可能性があったが、この所見は発現頻度が低く、重症度も軽度であったことから、有害ではないと考えられた。無毒性量（NOAEL）は、20 mg/kg/day と判断され、このとき投与 14 日目の $AUC_{0\text{-}15}$ は 9.3 µg•hr/mL であった。

3.1.2　マウス 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（試験番号 88730、添付資料番号 4.2.3.2.2、評価資料）

CD-1 マウス（雌雄各 21 匹／群）に、0（PBS）、0.2、0.6 及び 2 mg/kg/day のテデュグルチド（液剤）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、28 日間皮下投与し、毒性を検討した。低用量は薬理作用を示すと考えられる用量であり、高用量はこの用量の 10 倍とした。各動物には 2 ヵ所の部位に交互に投与し、投与容量は 10 mL/kg/回とした。28 日間の投与期間終了後、1 群雌雄各 15 匹を計画屠殺し、残る 1 群雌雄各 6 匹は 28 日間の休薬期間後、計画屠殺した。さらに TK 評価のために 1 群雌雄各 42 匹に同様に投与した。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、TK、剖検、臓器重量、腸の重量及び長さ並びに病理組織学的検査（0 及び 2 mg/kg/day 群では全組織、0.2 及び 0.6 mg/kg/day 群では標的臓器）であった。さらに、TK 群の血漿を用いて、抗体産生を評価した。

投薬に関連した一般症状及び死亡は認められなかった。2 mg/kg/day 群の体重増加量は、対照群に比べて大きく、それより程度は低いが、0.2 及び 0.6 mg/kg/day 群でも増加が認められた。休薬期間後、体重は対照群と投薬群で同程度となった。投薬群では摂餌量が増加した。休薬期間中、投薬群雄では摂餌量が依然高値であったが、雌では対照群と同程度であった。眼科学的検査、血液学的検査及び血液生化学的検査に、投薬に関連した影響は認められなかった。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 3）。

表 2.6.6- 3　　マウス 4 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-t} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1[a]					
0.2	M	0.110	0.75	0.122	0.47
0.2	F	0.088	0.5	0.091	0.30
0.6	M	0.390	0.5	0.375	0.28
0.6	F	0.248	0.75	0.289	0.47
2	M	1.11	0.75	1.48	0.56
2	F	0.965	0.5	0.991	0.69
Day 28[b]					
0.2	M	0.134	0.5	0.113	0.62
0.2	F	0.087	0.5	0.083	0.33
0.6	M	0.445	0.5	0.471	0.25
0.6	F	0.406	0.5	0.403	0.32
2	M	1.88	0.5	1.88	0.33
2	F	1.56	0.75	1.47	0.35

a: AUC_{0-t}
b: $AUC_{0\ 25-t}$
Source: Study 88730

単回及び反復投与後、血漿中濃度は雌雄いずれも投与後 0.5～0.75 時間で C_{max} に達した。最高濃度到達時間（T_{max}）は、雌雄及び投薬群間で同程度であった。全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は概して雄で高値であり、雌雄いずれにおいても反復投与後に若干増大した。全身曝露量は、用量の増加に伴い線形性に増大した。投与 1 日目は、曝露量の増大は概ね用量の増加に比例したが、投与 28 日目には、曝露量の増大が用量の増加を上回った。単回及び反復投与後、見かけの消失半減期（$t_{1/2}$）は 0.3～0.7 時間であり、雌雄及び投薬群間で明らかな差は認められなかった。

2 mg/kg/day 群の 21 匹中 5 匹の雌で弱い免疫応答が惹起された。抗体価は 128～284 倍であった。腸での薬理活性及び全身曝露量（AUC）に、抗体産生による変化はみられなかった。4 週間の休薬期間後、雌に抗体は検出されず、雄では試験期間を通じて抗体は観察されなかった（本項 9.1）。

投与期間終了時又は休薬期間後の剖検で、投薬に関連した所見は認められなかった。投与期間終了時の脾臓（0.2、0.6 及び 2 mg/kg/day）、肝臓（2 mg/kg/day）及び腎臓（2 mg/kg/day）の重量に増加がみられた。休薬期間後、これらの臓器重量は対照群と同程度となった。投与期間終了時、予期される本剤の薬理作用と一致する腸の重量及び長さの増加が認められた（0.2、0.6 及び 2 mg/kg/day）。休薬期間後の腸重量は概ね対照群と同程度であった。休薬期間後も腸の伸長は、2 mg/kg/day 群の雄で明らかであった。投与期間又は休薬期間後に、毒性学的に意義のあるその他の臓器重量変化は認められなかった。脾臓、肝臓及び腎臓の重量が増加したが、これらの組織に病理組織学的検査所見は認められなかった。

病理組織学的検査では、小腸及び大腸の全区域、胆嚢並びに投与部位に、投薬に関連した変化が観察された。腸の粘膜過形成は全投薬群に広く認められた。過形成の程度は、概して軽微～軽

度であり、ほとんどの動物で腸の 1 区域以上に確認された。このようなびまん性の病理組織学的変化は、対照と比較して、小腸での絨毛高の増大及び陰窩の好塩基性化及び拡大、並びに大腸腺の拡大及び好塩基性化を特徴とした。休薬期間後、全投薬群で小腸及び大腸での粘膜過形成の発現頻度は減少した。小腸及び大腸での病理組織学的変化は、本剤の薬理作用と一致する所見であり、有害ではないとみなされた。投薬群のほとんどのマウスに胆嚢の上皮肥大及び細胞質空胞化の減少が観察された。本所見は、休薬期間後、完全に消失した。胆嚢に認められた病理組織学的変化は、有害ではないとみなされた。投与部位での亜急性～慢性炎症の発現頻度は、対照群（30 匹中雄 3 匹及び雌 6 匹）に比べて、投薬群（全投薬群のほぼ全例）で高かった。重症度は、対照群では軽微、投薬群では軽微～軽度であった。休薬期間後、炎症の発現頻度は、雄では完全に消失し、雌では顕著に低下した（対照群 1 匹及び高用量群 3 匹）。

結論として、0.2、0.6 及び 2 mg/kg/day のテデュグルチドを CD-1 マウスに 1 日 2 回、28 日間連続皮下投与したときの忍容性は良好であった。観察された影響は、いずれも有害ではないとみなされ、腸絨毛高の増大を除いて、全てが 28 日間の休薬期間後には部分的又は完全に消失した。本試験における NOAEL は 2 mg/kg/day と判定された（投与 28 日目の $AUC_{0\ 25\text{-}2\ 5}$ は雌 1.47 µg•hr/mL、雄 1.88 µg•hr/mL）。

3.1.3　マウス 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（試験番号 0470MN12.001、添付資料番号 4.2.3.2.3、評価資料）

CD-1 マウス（雌雄各 20 匹／群）に、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、2、10 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、90 日間皮下投与し、その後 30 日間の休薬期間を設けた。投与容量は 5 mL/kg/回とした。高用量群は、先の 4 週間投与毒性試験よりも用量を増量し、さらなる用量制限毒性が発現する可能性を検討した。各動物には 2 ヵ所の部位に交互に投与した。90 日間の投与期間終了後、1 群雌雄各 15 匹を計画屠殺した。残る 1 群雌雄各 5 匹は 30 日間の休薬期間後、計画屠殺した。さらに TK 評価のためにマウス（対照群：雌雄各 30 匹、投薬群：雌雄各 84 匹／群）に同様に 1 日 2 回 90 日間皮下投与した。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、臨床検査、TK、剖検、臓器重量、腸の長さ、病理組織学的検査（0 及び 50 mg/kg/day 群は全組織、2 及び 10 mg/kg/day 群では標的器官［胆嚢、小腸及び大腸］）並びに小腸粘膜（絨毛高）及び大腸粘膜（厚み）の組織形態計測所見であった。さらに、TK マウスの血漿を用いて抗体分析を行った。また、TK マウスの組織を用いて増殖細胞核抗原（PCNA）染色及び terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling（TUNEL）法によるアポトーシス細胞の評価を行った。

投薬に関連した一般症状は認められなかった。自然死及び偶発死が認められたが、対照群及び投薬群のいずれにも観察されたことから、投薬に関連した死亡ではないと判断した。投与 90 日目に、対照群と比較して、投薬群の雌雄で体重増加量が増加したが、用量依存性は認められなかった。2 mg/kg/day 以上の雌雄で、体重増加も認められたが、用量依存性はなかった。休薬期間中の投薬群の雌雄における体重及び体重増加量は対照群と概ね同程度であった。摂餌量、眼科学的検査及び血液学的検査に、投薬に関連した影響は認められなかった。血液生化学的検査で、全

投薬群に、唯一の軽微な、用量依存性のない、統計学的に有意な血漿トリグリセリドの低値が認められた。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 4）。

表 2.6.6- 4　　マウス 13 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1 [a]					
2	M	3.0	0.25	2.65	0.312
2	F	2.3	0.25	1.72	0.330
10	M	12.1	0.25	11.4	0.541
10	F	13.2	0.25	10.8	0.527
50	M	53.7	0.50	56.9	0.588
50	F	43.8	0.50	46.0	0.574
Day 30					
2	M	3.1	0.50	2.80	0.374
2	F	3.1	0.25	1.84	0.338
10	M	11.5	0.50	13.6	0.598
10	F	8.6	0.50	10.4	0.615
50	M	47.2	0.50	65.5	0.574
50	F	30.8	0.25	42.7	0.619
Day 90					
2	M	2.4	0.50	3.80	0.787
2	F	2.1	0.25	3.26	NA[b]
10	M	15.2	0.50	18.5	0.628
10	F	8.0	0.50	11.8	0.634
50	M	34.5	0.50	77.1	0.620
50	F	32.2	0.25	41.9	0.664

F=female; M=male; NA=not applicable;
a Values represent parameters after the first daily dose.
b Parameter not calculated due to absence of distinct elimination phase and poor correlation coefficient.
Source: Study 0470MN12.001

いずれの測定時点でも、テデュグルチドの曝露量は、用量の増加に伴い増大した。投与 1、30 及び 90 日目において、同用量投与時の血漿中濃度は概ね同程度であった。血漿中濃度は投与後 0.25～0.50 時間で T_{max} に達した。C_{max} 到達後、血漿中濃度は一相性に低下し、1 回目及び 2 回目の投与 8 時間後には、定量限界未満又は定量限界付近となった。投与 1 日目の $t_{1/2}$ は、1 回目投与後は 0.312～0.588 時間、2 回目投与後は 0.317～0.574 時間であった。投与 30 及び 90 日目における $t_{1/2}$ は、それぞれ 0.338～0.619 時間及び 0.620～0.787 時間であった。$t_{1/2}$ は用量又は時点によって変化しなかった。C_{max} は、雌雄とも 2～10 mg/kg/day 投与では概ね用量に比例して増大したが、10～50 mg/kg/day 投与では、その増加率は用量の増加率を下回った。AUC_{0-8} は、概ね用量に比例して増加した。投与 1、30 及び 90 日目の AUC_{0-8} は同程度であったことから、反復投与後に蓄積はないことが示された。

投与期間終了時及び休薬期間後のいずれにおいても、テデュグルチドに対する抗体は検出されなかった。

投与期間終了時又は休薬期間後の剖検に、投薬に関連した所見は認められず、毒性学的に意義のある臓器重量変化は認められなかった。投与期間終了時の肝臓、腎臓及び心臓の絶対重量は増加したが、体重に対する臓器重量比に増大はみられず、対応する病理組織学的所見も認められなかった。全投薬群において、小腸及び大腸の重量及び長さが対照値に比べて有意に増加したが、用量依存的増加ではなかった（小腸重量の増加は、対照値に対して雄で 213～228%、雌で 264～301%）。休薬期間後においても、小腸の長さ及び大腸の長さ（雄）は、全投薬群で投与期間終了時と同程度に伸長していた。小腸及び大腸の重量増加は部分的に回復したが、休薬期間後、対照と比較して依然として高値であった。腸の重量増加及び伸長は、テデュグルチドの薬理作用と一致しており、有害所見とはみなさなかった。

病理組織学的検査では、投与期間終了時、全投薬群で十二指腸、空腸及び回腸の絨毛、盲腸粘膜並びに胆嚢上皮で投薬に関連した肥大及び過形成が確認された。投薬群間の発現頻度及び重症度は投与量にかかわらず同程度であった。腸の肥大／過形成は、腸の伸長及び重量増加と関連していた。これらは、本剤の薬理作用による所見であり有害ではないとみなされた。胆嚢における所見は、重症度がごく軽微～中等度であり、血液生化学的検査に関連所見が認められなかったことから、有害ではないとみなされた。休薬期間後、全投薬群で依然として空腸及び胆嚢における肥大／過形成の発現頻度が対照群に比べて高かったが、部分的な回復がみられた。腸及び胆嚢における病理組織学的所見に関して、明らかな用量反応性は認められず、全投薬群で、これらの所見の発現頻度及び重症度は同程度であった。

投与期間終了時の組織形態計測では、全投薬群で絨毛高（十二指腸、空腸及び回腸）の増大が認められた。これは空腸において最も顕著であり、絨毛高は対照群のほぼ 2 倍であった。盲腸の粘膜厚も、全投薬群において増大した。絨毛高及び粘膜厚に関して、明らかな用量―反応関係は認められなかった。休薬期間後、絨毛高及び陰窩深は、対照群と投薬群で概ね同程度であった。腸管における組織形態計測的変化は、これらの器官で観察された病理組織学的変化及び剖検所見と関連していた。これらの変化はテデュグルチドの薬理作用と一致する所見であるため、有害ではないとみなされた。

投与期間終了時及び休薬期間後、投与部位に可逆性の炎症が認められた。炎症の発現頻度は、雄では対照群と比較して 50 mg/kg/day 群で高値であったが、雌では同程度であった。重症度は、高用量群の雌 3 匹が中等度であった以外、群間で同程度であった（ごく軽微～軽微／軽度）。休薬期間後の炎症の発現頻度は低下し、ごく軽微又は軽微／軽度であった。

細胞増殖マーカーの PCNA 染色及び TUNEL 法でのアポトーシス細胞の評価では、時間的変動、検体数の少なさ及び測定値のばらつきのため、意義のあるデータは得られなかった。

結論として、2、10 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチドを CD-1 マウスに 1 日 2 回、90 日間皮下投与したときの忍容性は良好であった。観察された所見は、いずれも有害ではないとみなされ、全てが 30 日の休薬期間後には部分的に又は完全に回復した。NOAEL は 50 mg/kg/day と判定された（投与 90 日目の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌 41.9 μg•hr/mL、雄 77.1 μg•hr/mL）。

3.1.4　　マウス 26 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

（試験番号 7203-112、添付資料番号 4.2.3.2.4、評価資料）

CD-1 マウスに、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、2、10 及び 25/50 mg/kg/day のテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、26 週間皮下投与した。0 及び 25/50 mg/kg/day 群では 1 群雌雄各 31 匹に、2 及び 10 mg/kg/day 群では 1 群雌雄各 21 匹にそれぞれ投与した。投与容量は 1.25 mL/kg/回とし、4 ヵ所の部位に交互に投与した。高用量群では、最初の 2 週間に 25 mg/kg/day を投与し、残りの期間は 50 mg/kg/day を投与した。投与期間終了後、1 群雌雄各 21 匹を計画屠殺した。さらに 0 及び 50 mg/kg/day 群では、8 週間の休薬期間後に 1 群雌雄各 10 匹を計画屠殺した。また、TK 評価のためにマウス（投薬群：雌雄各 39 匹／群）に主試験と同じスケジュールでテデュグルチドを 26 週間投与した。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、TK、抗体産生、剖検、臓器重量、腸管の長さ及び病理組織学的検査（0 及び 50 mg/kg/day 群では全組織、2 及び 10 mg/kg/day 群では、小腸、大腸及び標的臓器［肝臓、胆嚢、胸骨骨髄、脾臓、皮膚及び投与部位］並びに病変が認められた臓器）であった。

投薬に関連した一般症状は認められなかった。試験期間中に 4 匹が死亡した。その内訳は、対照群の雌 1 匹、TK 群の雄 1 匹（25/50 mg/kg/day）及び雌 2 匹（10 及び 25/50 mg/kg/day で各 1 匹）であった。これらの死亡がテデュグルチドに関連することを示す所見は認められなかった。全投薬群に用量関連性のない体重及び体重増加量の軽微な増加がみられた。投薬群における体重増加は、対照群の 113%を超えることはなく、有害ではないとみなされた。休薬期間後の体重は、対照群と投薬群で同程度であった。全投薬群で用量関連性のない摂餌量増加が認められた。休薬期間中には、明らかな摂餌量増加は認められなかった。眼科学的検査又は血液生化学的検査に、投薬に関連した影響は認められなかった。血液学的検査では、全投薬群に投薬に関連した血球数増加（白血球、リンパ球絶対数、好酸球絶対数及び好中球絶対数）並びに平均赤血球容積の増加が観察され、ほとんどが統計学的に有意であった。これらの所見は比較的軽度で用量依存性がなく、いずれも有害ではないとみなされた。TK パラメータの要約を表 2.6.6- 5 に示す。

表 2.6.6- 5　　マウス 26 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
2	M	3.5	0.25	2.6	0.276
2	F	2.5	0.25	1.4	0.304
10	M	10.9	0.25	12.2	0.547
10	F	10.3	0.25	9.1	0.528
25	M	23.6	0.50	34.2	0.563
25	F	17.3	0.25	22.2	0.565
Week 26					
2	M	4.3	0.50	5.1	NA
2	F	2.1	1.00	5.2	2.36
10	M	13.5	0.50	22.4	0.876
10	F	5.4	0.25	14.6	1.22
50	M	42.0	0.50	84.5	0.928
50	F	24.6	1.00	58.4	0.873

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; NA=not applicable (parameter not calculated); $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 7203-112

テデュグルチドの曝露量は、用量 2～25 mg/kg/day（投与 1 日目）及び 2～50 mg/kg/day（投与 26 週時）で、用量増加に伴い増大した。2 及び 10 mg/kg/day 群において、投与 26 週の血漿中濃度は、概して投与 1 日よりも高値であった。T_{max} は、投与 1 日目は 0.25～0.5 時間、投与 26 週時は 0.25～1 時間であり、吸収は速やかであることが示された。平均 $t_{1/2}$ は、投与 1 日目は 0.28～0.57 時間であり、反復投与後（投与 26 週時）には 0.87～2.36 時間に延長した。$t_{1/2}$ に明らかな性差は認められなかった。雄での曝露量は、概して雌に比べて大きかった。投与 26 週時の AUC は、投与 1 日目に比べて明らかに高値であった。投与 26 週時の投与前検体は、定量限界（0.5 ng/mL）未満であった。概して、投与 1 日目の C_{max} の増加率は用量の増加率を下回り、AUC は概ね用量に比例して増加したが、投与 26 週時の曝露量の増加率は用量の増加率を下回った。投与 13 週及び 26 週のいずれの検査時点でも抗体は検出されなかった。

投与終了時又は休薬期間後の剖検に、投薬に関連した所見は認められなかった。全投薬群で脾臓重量が増加した。これに対応する病理組織学的検査所見として、投薬群の一部のマウスにおいて、髄外造血又はリンパ球過形成が認められた。全投薬群で投薬に関連した小腸及び大腸の重量増加が認められた。この増加は、明らかに用量依存的ではなかったが、病理組織学的検査では、これらに対応して多くの動物で上皮又は絨毛の肥大及び／又は過形成が認められた。全投薬群で投薬に関連した肝臓／胆嚢の重量増加が認められた。これらの増加に用量反応性は認められなかったが、病理組織学的検査では、対応する胆嚢上皮の肥大及び／又は過形成並びに肝細胞肥大が認められた。全投薬群で小腸及び大腸の平均長の増加が認められ、これは本剤の薬理活性から予期される結果であった。休薬期間後の剖検では、25/50 mg/kg/day 群で対照群と比較して、依然と

して小腸の伸長及び重量増加が確認された。休薬期間後、その他の臓器に重量変化は認められなかった。

投薬に関連した病理組織学的変化が観察された組織は、小腸及び大腸、肝臓／胆嚢、胸骨骨髄、脾臓、皮膚並びに投与部位であった。小腸及び大腸では、全投薬群で絨毛／上皮の肥大及び／又は過形成が観察された。これらはテデュグルチドの薬理作用による所見であり、有害とはみなさなかった。胆嚢／肝臓では、全投薬群で投薬に関連した変化が確認された。胆嚢における所見は、細胞質分泌物の増加、リンパ組織球性浸潤、亜急性炎症を伴う上皮の肥大及び／又は過形成、胆嚢管内化膿性滲出液及び粘膜下組織浮腫であった。胆管において、まれに過形成／肥大、亜急性炎症及び分泌物増加が確認された。胆嚢又は腸における上皮又は繊毛の肥大／過形成に、明らかな用量反応性は認められなかった。小腸及び大腸における病理組織学的検査所見は、本剤の薬理活性に基づき予想される変化であったため、有害ではないとみなされた。投薬に関連した肝臓所見として、全投薬群で肝細胞肥大が観察されたが、発現頻度及び重症度は低かった。本所見は、被験物質に対する適応反応であり、発現頻度及び重症度は低かったことから、有害ではないとみなされた。胸骨骨髄では、全投薬群で投薬に関連した骨髄過形成が確認された。脾臓では、全投薬群で髄外造血増加及びリンパ球過形成の増加が認められた。投与部位病変として、全投薬群に皮下組織の溶解性壊死、炎症及び線維症が確認され、対照群では炎症及び線維症が認められた。これらの所見の発現頻度及び重症度は対照群の方が低かった。さらに、皮膚（投与部位とは別の部位）に炎症及び線維症の所見が認められた。

休薬期間後、小腸及び大腸並びに胆嚢及び骨髄における投薬に関連した病理組織学的検査所見は概して回復したが、肝臓及び脾臓の病理組織学的検査所見は持続した。投与部位の所見は、休薬期間中も持続した。皮膚に関連するその他の所見は、対照群と投薬群で同様であった。

結論として、2、10 及び 25/50 mg/kg/day（25 mg/kg/day は最初の 2 週間のみ投与）のテデュグルチドを CD-1 マウスに 1 日 2 回、26 週間皮下投与したときの忍容性は良好であった。全投薬群に病理組織学的変化を含む投薬に関連した所見が観察されたが、これらの所見はマウスの全般的な健康状態に影響を及ぼさなかったため、有害ではないとみなされた。NOAEL は 50 mg/kg/day と判断した（投与 26 週時の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌 58.4 µg•hr/mL、雄 84.5 µg•hr/mL）。

3.2　ラット反復投与毒性試験

3.2.1　　ラット 14 日間皮下投与毒性試験

（試験番号 02-2776、添付資料番号 4.2.3.2.5、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 10 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、10、25 及び 50 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回、14 日間皮下投与した。各動物において 6 ヵ所の投与部位を定めた。投与容量は、1.25 mL/kg/回とした。さらに TK 評価のためにラット（投薬群：雌雄各 9 匹／群）に同様に投与した。評価項目は、一般状態観察、体重及び摂餌量、臨床検査、TK、抗体産生、剖検及び臓器重量並びに病理組織学的検査（0 及び 50 mg/kg/day 群では全組織、10 及び 25 mg/kg/day 群では胃腸管）であった。

死亡及び投薬に関連した一般症状、体重又は摂餌量変化及び血液学的検査所見は認められなかった。全投薬群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、血中尿素窒素（BUN）及びコレステロールに軽微な増加がみられた。25 及び 50 mg/kg/day 群で、ナトリウム及び塩化物に軽微な増加がみられた。これらの血液生化学的検査値の変化に伴う病理組織学的検査所見は認められなかったことから、これらは有害ではないとみなされた。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 6）。

表 2.6.6- 6　　ラット 14 日間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
10	M	2.4	1.00	5.5	0.837
10	F	2.8	0.500	4.6	0.705
25	M	6.4	1.00	15.6	0.979
25	F	5.5	1.00	13.4	0.648
50	M	9.3	1.00	29.7	1.15
50	F	11.1	1.00	28.9	0.779
Day 13					
10	M	3.2	1.00	8.2	0.720
10	F	3.3	0.500	6.0	0.770
25	M	6.5	0.500	23.8	0.782
25	F	6.3	0.250	20.2	0.613
50	M	13.5	2.00	53.4	1.11
50	F	11.7	1.00	43.9	0.893

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 02-2776

血漿中濃度は投与後 0.25～2 時間に T_{max} に達した。単回及び反復投与後、C_{max} 及び AUC_{0-8} は、用量増加にほぼ比例して増大した。顕著な性差は認められなかった。投与 1 日目と 13 日目の $t_{1/2}$ は、同程度であった。投与 13 日目の C_{max} 及び AUC_{0-8} は、投与 1 日目よりも高値であった。

剖検では、投薬群において小腸膨満が認められたが、発現頻度は非常に低かった。全投薬群に、小腸及び大腸の重量増加が認められた。腸重量増加に対応する病理組織学的検査所見として、小腸及び大腸における粘膜上皮の肥大／過形成が認められた。腸の重量増加及び粘膜過形成は、本剤の薬理作用よる所見と考えられたため、有害所見とはみなさなかった。そのほかには、投薬に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、10、25 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチドを Sprague-Dawley ラットに 1 日 2 回、14 日間連続皮下投与したときの忍容性は良好であった。いくつかの血液生化学的検査値に軽微な増加がみられたが、これらの所見は有害ではないと判断した。全投薬群に腸重量増加及びそれに対応する病理組織学的検査所見（粘膜上皮の肥大／過形成）が認められた。これらは本剤

の薬理作用による変化であり、有害ではないと判断した。NOAEL は 50 mg/kg/day と判定された（投与 13 日目の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌 43.9 μg•hr/mL、雄 53.4 μg•hr/mL）。

3.2.2　Wistar Han ラット、Fischer-344 ラット及び Sprague-Dawley ラット 14 日間皮下投与毒性及び TK 比較試験

（試験番号 800869、添付資料番号 4.2.3.2.6、評価資料）

Wistar Han ラット、Fischer-344 ラット及び Sprague-Dawley ラット（各系統あたり雌雄各 10 匹／群）にテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を反復投与したときの毒性及び TK を評価した。Wistar Han 及び Fischer-344 ラットには、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、10、25 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチドを約 8 時間間隔で 1 日 2 回、14 日間皮下投与し、Sprague-Dawley ラットには 50 mg/kg/day のテデュグルチドのみを 14 日間投与した。投与容量は 1.25 mL/kg/回とし、各動物に 6 ヵ所の投与部位を定めた。TK 評価のため、各系統あたり雌雄各 18 匹／群を組み入れた。評価項目は、一般状態観察、詳細な診察所見、体重及び摂餌量、臨床検査、TK、剖検及び臓器重量、腸の長さ並びに病理組織学的検査（0 及び 50 mg/kg/day 群では全組織、10 及び 25 mg/kg/day 群では腸管、膵臓及び肝臓）であった。

死亡及び投薬に関連した一般症状、体重又は摂餌量の変化は認められなかった。投薬に関連した有害な血液学的検査又は血液生化学的検査値変動は認められなかった。尿検査値変動は、偶発的であり、投薬に関連した変動ではないとみなされた。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 7）。

表 2.6.6- 7 ラット 14 日間比較試験の TK パラメータ

Strain	Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)
Day 1					
Sprague-Dawley	50	M	8.1	1	27.9
Sprague-Dawley	50	F	9.7	0.5	25.7
Wistar Han	10	M	2.6	0.5	4.0
Wistar Han	10	F	1.9	0.5	2.7
Wistar Han	25	M	5.5	0.5	11.8
Wistar Han	25	F	5.8	0.5	8.5
Wistar Han	50	M	8.2	0.5	23.1
Wistar Han	50	F	10.2	0.5	24.3
Fischer-344	10	M	3.7	0.25	6.0
Fischer-344	10	F	2.7	0.5	3.1
Fischer-344	25	M	8.0	0.5	13.2
Fischer-344	25	F	6.8	0.5	13.5
Fischer-344	50	M	16.4	0.5	28.8
Fischer-344	50	F	13.5	0.5	27.2
Day 14					
Sprague-Dawley	50	M	12.9	0.5	53.7
Sprague-Dawley	50	F	11.7	0.5	33.6
Wistar Han	10	M	3.5	1	6.9
Wistar Han	10	F	2.3	0.5	4.8
Wistar Han	25	M	6.8	1	20.1
Wistar Han	25	F	6.7	1	14.5
Wistar Han	50	M	13.6	1	52.3
Wistar Han	50	F	8.6	1	30.5
Fischer-344	10	M	4.1	0.25	8.8
Fischer-344	10	F	3.3	0.5	5.3
Fischer-344	25	M	9.5	0.5	23.6
Fischer-344	25	F	7.2	1	14.7
Fischer-344	50	M	15.6	1	49.8
Fischer-344	50	F	12.5	1	35.4

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 800869

投与 1 日目の血漿中濃度は大部分の群において 0.5 時間で T_{max} に達し、雌雄間及び系統間で有意差は認められなかった。投与 14 日目の T_{max} は、全系統で雌雄とも 0.25～1 時間であった。C_{max} は、投与 1 日目と 14 日目で同程度であった。投与 1 日目における Fischer-344 ラットの C_{max} は Sprague-Dawley ラットよりも高値であった。投与 14 日目にはこのような差は認められず、濃度は同程度であった。投与 1 日目の曝露量は、系統間及び雌雄間で同程度であった。投与 14 日目の曝露量は、雌雄とも用量増加に伴い増大した。系統差は認められなかったが、全系統におい

て、50 mg/kg/day を投与した雄では、雌に比べて曝露量が大きかった。いずれの場合も、曝露量は概ね用量に比例して増加し、有意な系統差又は性差は認められなかった。概して、投与 14 日目における曝露量は投与 1 日目に比べて若干大きかった。曝露量は、3 系統のラット全てにおいて同程度であると考えられた。

3 系統全てで小腸及び大腸重量が対照群に比べて増加した。重量増加が最も顕著であった系統は、Wistar Han 及び Sprague-Dawley ラットであった。腸の長さも 3 系統全てで増加した。腸への影響は、本剤の薬理作用によるため、有害とはみなされなかった。剖検所見として、3 系統全てにおいて用量依存的な小腸肥厚がみられ、それに対応する粘膜／絨毛過形成が認められた。投与部位の病変が低頻度で認められた。これらの重症度は軽微であり、テデュグルチドではなく投与手技に関連した変化であった。肝臓及び胸腺重量に軽微な変化が報告されたが、これらに対応する病理組織学的検査所見は認められなかった。投薬に関連した病理組織学的変化として、3 系統全てにおいて小腸及び大腸におけるごく軽微～重度の粘膜／絨毛過形成が認められた。これらの変化は、腸の重量増加及び伸長と関連していた。

結論として、10、25 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチドを 1 日 2 回、14 日間連続皮下投与したときの忍容性は、3 系統全てで良好であった。全投薬群で薬理作用に基づく投薬に関連した腸の変化（重量、長さ及び厚みの増加並びに粘膜／絨毛の過形成）が発現した。Wistar Han ラットの感受性が若干高かったことから、この系統ががん原性試験に適していると判断した。本試験の NOAEL は、3 系統全てで 50 mg/kg/day と判定された（投与 14 日目の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌 30.5～35.4 µg•hr/mL、雄 49.8～53.7 µg•hr/mL）。

3.2.3　ラット 13 週間皮下投与毒性試験

（試験番号 800069、添付資料番号 4.2.3.2.7、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 15 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、10、25 及び 50 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回、13 週間皮下投与した。各動物において 8 ヵ所の投与部位を定めた。投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。TK 評価のため、さらにラット（対照群には雌雄各 3 匹、投薬群には雌雄各 9 匹／群）を組み入れた。全試験期間を通じて、ラットには毎日所定量の餌を与えた。評価項目は、一般状態観察、詳細な診察所見、体重、摂餌量、臨床検査、TK、抗体産生、剖検、臓器重量、腸の長さ並びに病理組織学的検査（0 及び 50 mg/kg/day 群では全組織、10 及び 25 mg/kg/day 群では標的臓器）であった。

投薬に関連した一般症状又は死亡は認められず、体重、体重増加量及び摂餌量への影響はなかった。50 mg/kg/day 群の雌で好中球数が増加（その結果としてリンパ球の割合が低下）したが、これは投与部位反応による変動と考えられた。10 mg/kg/day 群以上で、ALT 及びアルカリホスファターゼの上昇並びに総ビリルビンの減少という血液生化学的検査値変動が認められたが、特定のパターンや用量反応性は認められなかった。50 mg/kg/day 群の雌で、コレステロールが有意に上昇した。ほとんどの用量において、リパーゼ並びに血清カルシウム、ナトリウム、カリウム、クロール及びリンの上昇がみられたが、これらについても特定のパターンや用量反応性は認めら

れなかった。これらの血液生化学的検査値変動は、いずれも有害ではないとみなされた。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 8）。

表 2.6.6- 8　　ラット 13 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
10	M	2.5	1	5.8	0.624
10	F	2.8	0.5	4.5	0.692
25	M	7.5	1	15.3	0.636
25	F	7.7	1	13.7	0.641
50	M	8.9	1	20.0	0.800
50	F	10.8	1	21.6	0.634
Week 4					
10	M	4.3	1	7.3	0.696
10	F	4.7	0.25	6.1	0.694
25	M	10.0	1	22.4	0.707
25	F	7.3	0.25	18.6	0.615
50	M	11.8	1	42.5	0.770
50	F	12.8	0.25	30.3	0.789
Week 13					
10	M	3.1	0.25	7.9	0.689
10	F	3.4	0.25	5.4	0.728
25	M	7.5	1	24.4	0.806
25	F	9.6	0.25	32.2	0.607
50	M	9.6	4	54.2	ND
50	F	10.0	1	36.7	0.775

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; ND=not determined; $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 800069

いずれの測定時点においても、テデュグルチドの曝露量は、用量の増加に伴い増大し、投与 1 日目、4 週時及び 13 週時で、同用量における血漿中濃度及び TK パラメータは同程度であった。血漿中濃度は、最終検体採取時点である 8 時間まで検出可能であった。血漿中濃度は概ね投与後 0.25～1 時間で T_{max} に達した。$t_{1/2}$ は 0.607～0.806 時間であり、用量に依存しなかった。10～50 mg/kg/day 群において用量線形性が認められた。試験終了時点で、テデュグルチドに対する抗体は検出されなかったことから、本化合物に関連した抗原性はないことが示された。

全投薬群で、肝臓及び脾臓に用量依存性のない軽微な重量増加が認められ、そのほとんどが統計学的に有意であった。しかし、これらに対応した病理組織学的所見は認められなかった。同様に、全投薬群で小腸及び大腸の重量が増加した。この増加は小腸においてより顕著であり、対応する剖検所見として、肥厚が認められた。全投薬群に腸の伸長も認められ、その程度は群間で同程度であった。投薬群のほとんどの動物において、小腸及び大腸の粘膜上皮過形成（重症度は軽

度～重度）が確認された。これらの変化は、用量依存的ではなく、腸の重量増加及び伸長並びに肥厚と関連していた。腸の重量及び長さに対する影響並びに過形成は、テデュグルチドの薬理作用によると考えられ、有害ではないとみなされた。25 及び 50 mg/kg/day 群の投与部位において、亜急性炎症及び／又は肉芽腫性炎症の発現頻度が増加した。重症度は、概してごく軽微～中等度であり、重度の反応を示した動物は少数であった。

結論として、10、25 及び 50 mg/kg/day のテデュグルチドを Sprague-Dawley ラットに 1 日 2 回、13 週間連続皮下投与したときの忍容性は良好であった。小腸及び大腸に認められた変化は、本剤の薬理作用によると考えられ、有害とはみなさなかった。NOAEL は 50 mg/kg/day と判定された（投与 13 週時の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌 36.7 µg•hr/mL、雄 54.2 µg•hr/mL）。

3.3　サル反復投与毒性試験

3.3.1　　サル 3 日間皮下投与毒性予備試験

（試験番号 88616、添付資料番号 4.2.3.2.8、評価資料）

雌雄各 1 匹のカニクイザルに、50 mg/kg/day（PBS）のテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 1 日 2 回、肩甲骨領域に 3 日間皮下投与した。投与容量は 5 mL/kg/回とした。評価項目は、死亡、詳細な診察、体重、摂餌量、剖検、臓器重量（小腸及び大腸）並びに病理組織学的検査（異常部位、盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸、直腸、胃）であった。

全動物が生存し、投薬に関連した一般症状、体重又は摂餌量への影響、剖検所見は認められなかった。いずれの動物にも十二指腸及び空腸に軽微な粘膜過形成が観察された。これらの病理組織学的変化は、テデュグルチドの薬理活性から予期される所見であるため、投薬に関連した変化とみなされた。

サルに 50 mg/kg/day のテデュグルチドを 1 日 2 回、3 日間皮下投与したときの忍容性は良好であった。本試験は予備試験であったため、正式な NOAEL の判定は行わなかった。

3.3.2　　サル 14 日間皮下投与毒性試験

（試験番号 88619、添付資料番号 4.2.3.2.9、評価資料）

雄カニクイザル（3 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（PBS）、10 及び 20 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回、肩甲骨領域に 14 日間皮下投与した。各動物において複数の投与部位に投与を行った。対照群、10 及び 20 mg/kg/day 群の投与容量はそれぞれ 2、1 及び 2 mL/kg/回とした。評価項目は、死亡及び瀕死、詳細な診察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、TK、剖検、臓器重量（特定の組織）、病理組織学的検査（対照群及び高用量群では全組織、低用量群では標的臓器）並びに腸管重量及び長さであった。

全動物が生存し、投薬に関連した重大な一般症状は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液学的検査値、血液生化学的検査値及び尿検査値に影響は認められなかった。本試験で得られた TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 9）。

表 2.6.6- 9　　サル 14 日間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-15} (μg•hr/mL)
Day 1			
10	3.6	0.8	3.2
20	7.5	0.8	7.3
Day 14			
10	4.1	1.2	3.8
20	11.1	1.3	10.5

AUC_{0-15}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 1.5 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 88619

テデュグルチドは速やかに吸収され、T_{max}は投与 1 日目で 0.8 時間、投与 14 日目で 1.2～1.3 時間であった。概して、投与 1 日目には、C_{max}及びAUC_{0-15}は用量に比例して増大した。C_{max}及びAUC_{0-15}に反復投与による有意な影響はみられず、蓄積性を示す所見はなかった。

剖検では、投与部位の肥厚（10 及び 20 mg/kg/day 群）並びに肥厚した皮下組織領域とその下にある骨格筋との癒着が確認された（20 mg/kg/day 群）。用量依存的な小腸及び大腸の重量増加（10 及び 20 mg/kg/day 群）並びに胃重量増加（20 mg/kg/day 群）が認められた。小腸及び大腸の重量増加には用量反応性が認められた。さらに、10 及び 20 mg/kg/day 群で小腸及び大腸の長さが対照群に比べて増加した。

病理組織学的検査では、投与部位並びに十二指腸、回腸、空腸、肝臓、膵臓及び胃に投薬に関連した変化が観察された。これらの変化は、膵臓で 10 及び 20 mg/kg/day 群の各 1 匹に変化が認められた以外、テデュグルチドを投与した全動物に認められた。投与部位では、皮下線維症（10 mg/kg/day 群では軽度、20 mg/kg/day 群では中等度～重度）と共に、大幅な壊死を伴う肉芽腫性蜂巣炎（10 mg/kg/day 群では軽度～中等度、20 mg/kg/day 群では中等度～重度）が認められた。軽微～軽度の腸粘膜（十二指腸、回腸、空腸）の過形成が確認された。胃では、表面の上皮細胞にのみ、軽微～軽度の過形成が認められた。全動物において、軽微～軽度の肝内胆管過形成が報告され、10 及び 20 mg/kg/day 群の雄各 1 匹において膵内主膵管の軽微な過形成が認められた。腸管及び付属消化器官で観察された変化は、本剤の薬理活性又は過度の薬理活性に関連するとみなされた。胃、肝臓及び膵臓で観察された変化は限定的で、重症度が軽微～軽度であり、対応する他の毒性所見は認められなかったことから、意義のある有害な毒性作用ではないとみなされた。

20 mg/kg/day で発現した投与部位の変化に基づき、NOAEL は 10 mg/kg/day と判定された（これに対応する投与 14 日目のAUC_{0-15}は 3.8 μg•hr/mL）。

3.3.3　サル 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（試験番号 88729、添付資料番号 4.2.3.2.10、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 5 匹／群）に、テデュグルチド（液剤）を 0（PBS）、0.2、0.6 及び 2 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回、28 日間連続皮下投与した。低用量は薬理作用を示すと考えられる用量であり、高用量はこの用量の 10 倍とした。各動物に 4 ヵ所の投与部位

を定めた。投与容量は 1 mL/kg/回とした。投与期間終了時に雌雄各 3 匹／群を剖検し、残り雌雄各 2 匹／群には 4 週間の休薬期間を設定した。評価項目は、死亡及び瀕死、詳細な診察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、TK、抗体産生、D-キシロース吸収（尿検査）、剖検、臓器重量、腸の長さ、病理組織学的検査（対照群及び高用量群では全組織、低用量群及び中用量群は、投与部位、肝臓、膵臓、小腸、大腸及び胃並びに剖検で所見の認められた組織）並びに小腸（絨毛高、陰窩深及び絨毛：陰窩比）及び大腸（各区域の粘膜厚）の組織形態計測所見であった。

全動物が生存した。投薬に関連した重大な一般症状は認められず、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査への影響も認められなかった。テデュグルチド投与と D-キシロース吸収の変化との間に関連性は認められなかった。本試験で得られた TK パラメータを表 2.6.6- 10 に要約する。

表 2.6.6- 10　　サル 28 日間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
0.2	M	0.11	1.00	0.22	1.04
0.2	F	0.13	0.50	0.22	0.81
0.6	M	0.30	0.75	0.70	1.03
0.6	F	0.29	1.00	0.74	0.83
2	M	0.72	1.00	2.2	0.77
2	F	1.2	1.00	2.8	0.84
Day 28					
0.2	M	0.14	1.00	0.31	0.75
0.2	F	0.17	1.00	0.30	0.59
0.6	M	0.32	1.00	0.82	1.06
0.6	F	0.42	1.00	0.81	1.00
2	M	0.75	1.00	2.7	1.02
2	F	1.1	0.75	2.7	1.11

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
Source: Study 88729

単回及び反復皮下投与後の T_{max} は、全投薬群、また雌雄間で同程度であり、雄では投与後 45～60 分、雌では投与後 30～60 分であった。C_{max} は雄に比べて雌で若干高値であったが、AUC は雌雄間で同程度であった。テデュグルチドへの全身曝露量は概ね用量に比例して増大した。反復投与は、C_{max} 又は AUC に有意な影響を及ぼさなかった。単回及び反復皮下投与後の $t_{1/2}$ は、いずれも全投与量で同程度であり、0.6～1.1 時間の範囲であった。

0.6 mg/kg/day 以上の用量において抗テデュグルチド抗体が認められ、投与終了時の抗体価は 124～655 倍であった。腸における薬理活性及び全身曝露量（AUC）は、抗体出現によって変化しなかった（表 2.6.6- 10）。抗体価及び抗体が検出された動物数は、0.6 mg/kg/day 群に比べて

2 mg/kg/day 群で若干増加した。投与期間終了時に抗体産生を認めた雄 1 匹（2 mg/kg/day）の抗体価は、休薬期間後、1/3 に低下した。その他の動物に抗体産生は認められなかった（本項 9.1、表 2.6.6- 22）。

剖検では、0.6 及び 2 mg/kg/day 群で投与部位の暗色化の発現頻度増加が観察された。暗色化を認めた動物数は、0.6 及び 2 mg/kg/day 群では 6 匹中 5 匹であったが、0 及び 0.2 mg/kg/day 群では 6 匹中 3 匹であった。休薬期間後、このような所見が認められた動物は、0.6 mg/kg/day 群の雄 1 匹であった。0.6 及び 2 mg/kg/day 群の雌雄において肝臓重量が増加した。投薬群の雌雄において、対照群と比較して胃重量、小腸重量、小腸の長さ（高用量群雄、全投薬群雌）並びに大腸の長さ（高用量群雄、全投薬群雌）及び重量（0.6 mg/kg/day 群以上の雄、全投薬群雌）に増加がみられた。4 週間の休薬期間後、肝臓、胃及び腸の重量は対照群のレベルに戻った。小腸の伸長（雌雄）は持続したが、群間で大きなばらつきが認められた。

病理組織学的検査では、全投薬群において投薬に関連した小腸、胃、肝臓、膵臓、胆嚢及び投与部位の変化が認められた。小腸（十二指腸、空腸、回腸）、胃、胆管（肝内）及び膵管において軽微～軽度の粘膜過形成が観察された。休薬期間後、腸管及び胃に粘膜過形成は認められず、胆管及び膵臓でも単発的に確認されたのみであった。投与期間終了時、0.6 mg/kg/day 群の雌 1 匹及び 2 mg/kg/day 群の雌 2 匹において軽微～軽度の十二指腸乳頭の上皮過形成が認められ、2 mg/kg/day 群の雌 1 匹において軽微な胆嚢上皮粘膜過形成が認められた。この所見は、休薬期間後には認められなかった。

投与部位において、混合細胞性浸潤を伴う軽微（0.6 mg/kg/day）又は軽度（2 mg/kg/day）の肉芽腫性蜂巣炎が観察された。休薬期間後、0.6～2 mg/kg/day 群のほとんどの動物において依然として蜂巣炎が認められたが、重症度は低下した。この時点で混合細胞性浸潤が認められた動物は 2 mg/kg/day 群の雄のみであった。投与部位の皮下組織で確認された軽微な出血は、主に投与手技に伴う外傷によって引き起こされたと考えられた。その発現頻度は、対照群及び 0.2 mg/kg/day 群に比べて 0.6 及び 2 mg/kg/day 群において若干高かった。休薬期間後には、出血は認められなかった。

投与期間終了時における組織形態計測的評価では、小腸の絨毛高及び陰窩深の平均値が増大した。絨毛：陰窩比の増加は概してわずかであった。これらの所見は、休薬期間終了までにほぼ消失した。これらの変化に対応して、小腸の粘膜過形成及び重量増加が認められた。投薬群では、対照群と比較して盲腸、結腸（高用量群の雄を除く）及び直腸の粘膜高の増加並びにこれに関連した大腸重量増加が認められたが、用量依存的ではなかった。このような影響は、28 日間の休薬期間後消失した。

結論として、カニクイザルに 2 mg/kg/day までのテデュグルチドを 1 日 2 回、28 日間皮下投与したときの忍容性は概して良好であった。全投与量で、投与部位、肝臓、膵臓、胃及び小腸の 3 区域における投薬に関連した変化が確認された。消化管及び付属消化器官で観察された変化は、本剤の薬理活性又は過度の薬理活性に関連するとみなされた。胃、肝臓及び膵臓で観察された変化は概して軽度であり、28 日間の休薬期間後に回復又はほぼ回復し、これらに対応するその他の毒性所見は認められなかった。NOAEL は 2 mg/kg/day と判定された（対応する投与 28 日目の $AUC_{0\text{-}8}$ は雌雄で 2.7 μg•hr/mL）。

3.3.4　　サル 13 週間皮下投与毒性試験及び 30 日間回復性試験

（試験番号 7203-100、添付資料番号 4.2.3.2.11、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 6 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、1、5 及び 25 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回、少なくとも 13 週間皮下投与した。さらに高用量で毒性が発現するか否かを検討するため、先の 1 ヵ月間投与毒性試験よりも用量を増量した。4 ヵ所の部位に交互に投与した。投与容量は 0.625 mL/kg/回とした。投与終了時、1 群あたり雌雄各 4 匹を計画屠殺し、残りの 1 群あたり雌雄各 2 匹は 30 日間の休薬期間後に計画屠殺した。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、血圧及び心電図、抗体産生、TK、臨床検査、剖検、臓器重量（特定の組織）、腸管の長さ、病理組織学的検査並びに小腸及び大腸の組織形態計測所見（絨毛高及び陰窩深［小腸］並びに粘膜厚［大腸］）であった。

試験中に死亡は認められなかった。投薬に関連した一般症状は、投与部位の皮膚肥厚のみであり（5 mg/kg/day 群の雄 5 匹雌 5 匹及び 25 mg/kg/day 群の雄 6 匹雌 6 匹）、高用量群の一部の動物（25 mg/kg/day 群の雄 4 匹雌 3 匹）では、腫瘤として報告された。このような変化は、中用量群（投与 64～85 日目頃）に比べて高用量群（投与 29 日目頃）において早期に発現した。この肥厚は、休薬期間を通じて中用量群（雄 1 匹）及び高用量群（雄 2 匹及び雌 2 匹）において持続したが、腫瘤は消失した。体重、血圧、心電図、眼科学的検査及び尿検査に、投薬に関連した影響は認められなかった。

投与期間中に、25 mg/kg/day 群で白血球数、好中球数及び好酸球数の増加がみられた。これらは休薬期間後には消失した。全投薬群でトリグリセリド及び ALT 活性の増加が認められたが、用量依存的増加ではなかった。休薬期間後、25 mg/kg/day 群の雄においてトリグリセリド値の上昇が持続していた。本試験で得られた TK パラメータを表 2.6.6- 11 に要約する。

表 2.6.6- 11　　サル 13 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1 [a]					
1	M	1.0	1.0	2.2	0.80
1	F	0.98	0.83	2.4	0.82
5	M	3.3	1.3	11.8	0.92
5	F	3.3	1.5	11.4	0.92
25	M	12.5	1.7	55.6	1.6
25	F	11.0	2.2	53.6	1.7
Day 30					
1	M	0.78	0.83	2.0	0.82
1	F	0.72	1.0	2.0	0.83
5	M	2.9	1.8	11.2	1.2
5	F	2.4	1.8	9.4	1.2
25	M	10.2	2.0	42.0	1.5
25	F	5.9	1.8	28.0	2.3
Day 90					
1	M	0.76	0.67	2.0	0.89
1	F	0.71	0.67	1.9	0.85
5	M	1.5	2.0	6.3	2.0
5	F	2.3	1.3	7.0	1.1
25	M	6.2	0.92	20.7	1.4
25	F	5.9	1.3	26.9	2.9

AUC_{0-8}= area under the concentration-time curve from time of dosing to 8 hr postdose; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; M=male; $t_{1/2}$=elimination half-life; T_{max}=time to reach C_{max}.
[a] Values represent parameters after the first daily dose.
Source: Study 7203-100

血漿中テデュグルチド濃度は、用量増加に伴い増大した。本剤はある程度速やかに吸収され、平均 T_{max} は 0.67～2.2 時間であった。平均 $t_{1/2}$ は 0.8～3.3 時間（投与 1 日目の 2 回目投与後）であった。C_{max} 及び AUC_{0-8} に顕著な性差は認められなかった。C_{max} の増加率は用量の増加率を若干下回ったが、AUC_{0-8} は概ね用量に比例して増加した。投与 1 日目におけるパラメータは、1 回目投与後と 2 回目投与後で同程度であった（上記の表には、1 回目投与後の AUC を示す）。反復投与後に蓄積は認められなかった。反復投与後、曝露量は減少した。

5 mg/kg/day 群（雄 6 匹中 1 匹）及び 25 mg/kg/day 群（雄 6 匹中 5 匹、雌 6 匹中 5 匹）に、抗テデュグルチド抗体が検出された。腸管における薬理活性は、抗体の存在によって変化しなかった。5 mg/kg/day 以上の用量において、投与 90 日目における平均曝露量（AUC）が投与 1 日目に比べて低値であった。高用量（25 mg/kg/day）では、投与 30 日目という早期から平均曝露量の減少が明らかになった。投与 1 日目に対する相対力価で表した抗体価は、4 週間の休薬期間後には低下又は検出不能となった。個々の動物において、曝露量の減少度と抗体価に一貫した関連性は認められなかった（本項 9.1、表 2.6.6- 22）。

剖検では、1 mg/kg/day 群（雄 1 匹）、5 mg/kg/day 群（雄 1 匹、雌 2 匹）及び 25 mg/kg/day 群（雄 4 匹、雌 4 匹）において投与部位の皮膚肥厚が確認された。これは、休薬期間後の動物では認められなかった。投薬に関連した臓器重量の変化として、全投薬群に用量依存性のない、可逆性の肝臓重量増加、胃重量増加及び腸管の各区域の重量増加が認められた（一部は統計学的に有意）。最後に、全投薬群で用量依存的な空腸の伸長が観察された。本所見は休薬期間後も軽減はみられたが依然として認められた。

肝臓（胆管）、胆嚢、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵臓（膵管）及び投与部位に、投薬に関連した病理組織学的変化が観察された。これらの変化は、胆嚢の所見が雌では 5 及び 25 mg/kg/day 群のみに認められた以外、全投薬群で認められた。概して、病変の発現頻度及び程度は全投薬群で同程度であった。これらの病変は、腸重量増加を伴う小腸（十二指腸、空腸、回腸）及び大腸（盲腸、結腸、直腸）におけるごく軽微～やや重度の肥大／過形成、慢性炎症を伴う胆管上皮のごく軽微～やや重度の肥大／過形成、慢性炎症を伴う胆嚢粘膜のごく軽微～軽度な肥大／過形成、慢性炎症を伴う膵管上皮のごく軽微～中等度の肥大／過形成並びに胃粘膜のごく軽微～やや重度の肥大／過形成であった。全ての変化は、休薬期間中に消失した。

投与部位では、投薬群において肉芽腫性炎症の重症度が用量依存的に増大した（1 mg/kg/day 群ではごく軽微～軽度、25 mg/kg/day 群ではやや重度～重度）。25 mg/kg/day 群では、これに対応する血液学的検査値の変化（白血球、好中球及び好酸球の増加）が確認された。30 日間の休薬期間後、投与部位変化の程度は顕著に改善された。対照群では、投与期間終了時及び休薬期間後の剖検において、投与部位の肉芽腫性炎症は認められなかった。

結論として、13 週間皮下投与により、全投薬群でテデュグルチドの薬理作用による腸管の肥大／過形成並びに胆嚢、胃、胆管及び膵管の変化が引き起こされたが、これらの重症度又は発現頻度は用量に依存しなかった。空腸の長さを除いて、全ての変化は 30 日間の休薬期間終了までに完全に消失した。投与部位では、全投薬群において局所的炎症が観察された。この所見は、30 日間の休薬期間後も重症度は低下したが、依然として持続していた。腸、胆嚢、胃、胆管及び膵管で報告された変化は可逆性であり、一般症状を引き起こさず、これらに関連した臨床検査値変動を伴わなかった。25 mg/kg/day 群で発現した投与部位の重症度に基づき、NOAEL は 5 mg/kg/day と判定された（対応する投与 90 日目の $AUC_{0\text{-}8}$ は、雄 6.3 µg•hr/mL、雌 7.0 µg•hr/mL）。

3.3.5　サル 1 年間皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（27 週間投与中間評価含む）

（試験番号 1368-100、添付資料番号 4.2.3.2.12、評価資料）

カニクイザルに、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、1、5 及び 25 mg/kg/day のテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、6 又は 12 ヵ月間皮下投与した。0 及び 25 mg/kg/day 群には 1 群雌雄各 10 匹を、1 及び 5 mg/kg/day 群には 1 群雌雄各 6 匹のサルを割り付けた。投与容量は 0.625 mL/kg/回とした。本試験の用量は、サル 1 ヵ月間及び 13 週間試験のデータに基づき選択した。最初に、各動物において 6 ヵ所の投与部位を定めた。投与 27 週時に、中間評価のために対照群の雌雄各 4 匹及び 25 mg/kg/day 群の雄 3 匹及び雌 4 匹並びに 1 及び 5 mg/kg/day 群の 1 群あたり雌雄各 2 匹を計画屠殺した。投与 53 週の投

与期間終了時に、1 群雌雄各 4 匹を計画屠殺した。対照群及び 25 mg/kg/day 群の雌雄各 2 匹には、13 週間の休薬期間を設定した。本試験の評価項目は、一般状態観察、摂餌量、体重、身体診察所見、心電図、眼科学的検査、臨床検査、TK、抗体産生、剖検、臓器重量並びに病理組織学的検査であった。

25 mg/kg/day 群において、雄 1 匹が投与 150 日目に瀕死により切迫屠殺された。当該動物は、陰嚢及び包皮の腫脹、腹部膨満並びに投与部位肥厚が観察され、他の大多数の動物と比較してより早期に重度となった。これらは、投薬に関連した所見と考えられた。さらにこの動物では、投与 98 日目～147 日目に体重が 22%減少し、摂餌量の減少が認められた。投与 137 日目から、円背位がみられた。臨床検査では、アルブミン減少、フィブリノーゲン及び好中球絶対数の増加並びに赤血球パラメータの減少が認められ、急性炎症反応が示唆された。これは、投与部位における慢性活動性炎症に関連する可能性が高かった。剖検及び病理組織学的検査の程度及び特徴は、25 mg/kg/day 群の中間評価動物（投与 27 週時）の所見と同様であった。瀕死の原因は不明であった。

一般状態観察では、全投薬群において投薬に関連した投与部位の変化（肥厚、膨隆、腫脹、潰瘍及び／又は腫瘤として報告）、腹部膨満及び／又は包皮／陰嚢の腫脹がみられた。対照群では、これらの所見の発現頻度は非常に低かった（1～2 匹）。投与部位の変化は主に 25 mg/kg/day 群において認められ、他の変化は 1 mg/kg/day 以上を投与したほとんどの動物において確認された。投与部位の変化に対応する組織学的所見として炎症が認められ、腹部膨満は、腸のサイズ増大によると考えられた。包皮／陰嚢腫脹と相関する組織学的所見として、一部の動物において浮腫が認められたが、その原因は不明であった。

瀕死により切迫屠殺した雄 1 匹及び 25 mg/kg/day 群の雌 1 匹における摂餌量低下を除いて、投薬に関連した摂餌量の定性的変化は認められなかった。瀕死により切迫屠殺した雄 1 匹における 22%の体重減少を除いて、体重への有意な影響は認められなかった。投薬群では、対照群に比べて最初の 6 週間に体重が 0.4 kg 以上増加した動物が多かったが、これは腸管の重量増加に関連した変動と考えられた。

臨床観察において、投薬に関連した投与部位の変化（5 及び 25 mg/kg/day 群）、腹部膨満（全投薬群）並びに陰嚢腫脹（全投薬群）が観察され、これらの重症度と用量との間に関連性が認められた。心電図パラメータ及び眼科学的検査所見に、投薬に関連した影響は認められなかった。血液生化学的検査では、投薬に関連したアルブミン、カルシウム及びコレステロール（25 mg/kg/day 群のみ）の減少並びにリパーゼ、ALT、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びトリグリセリドの増加が認められたが、変化の程度が小さいこと及び／又は関連する病理組織学的変化がないことから、生物学的に意義のある変化とはみなさなかった。その他、25 mg/kg/day 群において、血清鉄及び鉄飽和度（投与 46 週時にのみ測定）の減少並びにグロブリン増加が認められた。グロブリン増加は、休薬期間中に消失した。

血液学的検査では、5 及び 25 mg/kg/day 群のみに投薬に関連した以下の所見を認めた：好酸球絶対数の増加、好中球絶対数の軽微な増加（結果として白血球数が増加）並びにヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球指数（平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度）の減少。このような血液学的検査値の変動は、これらの群における投与部位の慢性炎症に対

する全身性反応による所見と考えられ、休薬期間中に消失した。凝固パラメータ又は尿検査値に投薬に関連した影響は認められなかった。本試験の TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6-12）。

表 2.6.6- 12　　サル 52 週間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
1	M	0.70	1.3	2.1	0.91
1	F	0.92	0.83	2.6	1.0
5	M	2.9	1.8	11.9	1.5
5	F	2.9	1.8	11.6	1.2
25	M	11.2	2.2	53.8	2.9
25	F	11.0	2.2	55.3	3.2
Week 13					
1	M	0.60	1.00	2.0	1.4
1	F	0.65	0.92	2.0	1.2
5	M	1.9	1.1	7.7	1.7
5	F	1.9	1.7	8.7	2.2
25	M	15.2	0.78	45.0	2.4
25	F	17.6	1.3	55.3	2.6
Week 26					
1	M	0.64	0.96	1.9	1.4
1	F	0.65	1.3	2.2	1.4
5	M	2.5	0.96	9.0	2.3
5	F	2.5	1.6	11.0	2.7
25	M	11.5	1.7	51.3	2.8
25	F	14.8	1.6	68.9	2.2
Week 39					
1	M	0.47	1.3	1.5	1.4
1	F	0.45	1.0	1.6	1.3
5	M	2.7	1.4	10.9	2.0
5	F	3.0	1.6	17.1	1.6
25	M	11.4	1.8	57.9	3.9
25	F	14.1	1.1	64.6	3.3

表 2.6.6- 12　　サル 52 週間試験の TK パラメータ（続き）

		Week 52			
1	M	0.43	1.1	1.5	1.9
1	F	0.51	1.3	1.8	1.5
5	M	2.3	1.1	9.1	2.3
5	F	3.3	1.3	16.3	2.1
25	M	12.2	0.83	64.6	4.3
25	F	15.7	0.75	65.9	3.5

F=female; M=male.
Source: Study 1368-100

テデュグルチドの曝露量は用量増加に伴い増大し、C_{max} 及び AUC_{0-8} は概ね用量に比例して増大した。T_{max} から吸収は速やかであることが示され、血漿中濃度は 0.91～4.3 時間の $t_{1/2}$ で消失した。$t_{1/2}$ は、いずれの時点でも大きく変化しなかったが、用量の増加に伴い若干延長した。C_{max} 及び AUC_{0-8} に反復投与による影響はなく、反復投与後に蓄積は認められなかった。明らかな性差は認められなかった。

抗体産生を 5 及び 25 mg/kg/day 群の動物で検討した。抗テデュグルチド抗体が検出された動物は、25 mg/kg/day 群のみであった。腸管における薬理活性は影響を受けなかった。抗体価と全身曝露量（AUC）に相関性は認められなかった。13 週間の休薬期間後には抗体は検出されなかった（本項 9.1、表 2.6.6- 22）。

中間剖検において、全投薬群で胃、十二指腸、空腸及び結腸の粘膜肥厚、投与部位肥厚並びに腋窩及びその他のリンパ節（腸管膜、胸部、腰下、鼠径、膵臓、気管気管支）のサイズ増大が認められた。25 mg/kg/day 群において胸腺のサイズ減少が認められた（中間剖検のみ）。これは投与部位の炎症に伴うストレスに続発した所見と考えられた。陰嚢又は会陰周辺の浮腫又は肥厚（5 及び 25 mg/kg/day 群）並びに肝臓の白色結節（25 mg/kg/day 群）も観察された（対応する組織検査所見として、それぞれ浮腫及び胆管肥大／過形成が認められた）。投与期間終了時の剖検では、会陰周辺の浮腫が全投薬群（1、5 及び 25 mg/kg/day 群の雄でそれぞれ 1、2 及び 1 匹）で認められ、また胆嚢及び胆管の肥厚（25 mg/kg/day 群、雄 1 匹雌 2 匹）、胆管のサイズ増大（25 mg/kg/day 群、雌 1 匹）、膵臓における白色病巣（5 mg/kg/day 群、雌 1 匹）（粘膜過形成と相関）並びに胆嚢における白色結節（1 及び 5 mg/kg/day 群、それぞれ雄 1 匹：リンパ濾胞形成と相関）も確認された。休薬期間後、腸管の肥厚及び投与部位の変化を除くほとんどの所見は消失した。

投薬により小腸重量が増加し、これよりも程度は低いが小腸の伸長も認められた。小腸、盲腸及び結腸について、臓器：体重比及び臓器：脳重量比並びに長さ：体重比を算出した。小腸：脳重量比は、投与 27 週時で対照に比べて 227%～341%高値であり、投与 53 週時には対照に比べて 201%～310%高値であった。休薬期間後には、このような増大は対照に比べて 29%～52%となった。小腸の長さ：体重比は、投与 27 週時で対照に比べて 17%～65%高値であり、投与 53 週時には 39%～92%、投与 66 週時には 16%～30%高値であった。投薬群では、盲腸及び結腸にも軽度の重量増加が認められたが、伸長はみられなかった。さらに、全投薬群において、肝臓重量が増

加し、胸腺重量が減少した。いずれの変化も用量反応性であった。胸腺重量の減少は、投与部位の炎症によるストレスに関連すると考えられた。

病理組織学的検査では、全投薬群の全動物において、胃、小腸、大腸、膵管、胆管、胆嚢及び投与部位における投薬に関連した変化が認められた。胃、腸及び膵臓における変化の発現頻度及び変化の程度並びに投与部位の変化の発現頻度に用量反応性は認められず、これらは投薬群のほとんどの動物で認められた。胆管及び胆嚢の重症度は、25 mg/kg/day 群で若干重度であった。投与 53 週時までに、以下の臓器において粘膜上皮過形成が確認された：胃（ごく軽微～重度）、小腸（軽度～重度）、大腸（ごく軽微～軽度）、胆管（ごく軽微～中等度）、胆嚢（ごく軽微～重度）及び膵臓（ごく軽微～中等度）。13 週間の休薬期間後、これらの変化は消失又は大幅に改善された。投薬群では、胆嚢におけるリンパ濾胞形成も観察された。この所見に用量反応性は認められず、対照群では所見は認められなかった。1 mg/kg/day 群の雌 1 匹（投与 53 週）において、直腸筋層における平滑筋肉腫が確認された。これは低用量群の 1 匹における単発的所見であり、筋層に前腫瘍性病変は認められず、サルにおいて腸平滑筋肉腫の偶発的発現が報告されていることから（Bunton & Bacmeister, 1989; Banerjee et al, 1991）、テデュグルチドに関連する可能性は低いと考えられた。

投与部位の変化は、組織学的に皮下組織の血管中心性（vasocentric）混合細胞性炎症及び好酸球性肉芽腫性炎症として診断された。投与 27 週時の投与部位変化の程度は用量に依存して重度になり、対照群ではごく軽微、1 mg/kg/day 群ではごく軽微～軽度、5 mg/kg/day 群では軽度～中等度、25 mg/kg/day 群では軽度～中等度（混合細胞性炎症）又は軽度～重度（肉芽腫性炎症）であった。一般症状として、肥厚及び局所的影響が認められたため、高用量群では投与 155 日頃から、別の投与部位を定めた。これによって、投与 27 週時の中間評価から投与 53 週時の投与期間終了時までに、投与部位炎症の程度は軽減した。投与 27 週時と比較して、投与 53 週時の投与部位の炎症は大幅に軽減された。これらの病変のほとんどは、線維症を伴う慢性期に進行していた。13 週間の休薬期間後、肉芽腫を伴うごく軽微～中等度の線維症が観察され、急性又は亜急性炎症の所見は認められなかった。

カニクイザルに 1 年間投与後の NOAEL は、25 mg/kg/day における投与部位反応の重症度に基づき、5 mg/kg/day と判断した（対応する投与 52 週時の AUC は、雄 9.1 µg•hr/mL、雌 16.3 µg•hr/mL）。

4　遺伝毒性試験

4.1　*in vitro* 試験

4.1.1　　細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号 88665、添付資料番号 4.2.3.3.1.1、評価資料）

Aroclor 誘導ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で、*Salmonella typhimurium* 変異株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）並びに *Escherichia coli* 変異株（WP2 *uvr*A）の特定の遺伝子座における復帰突然変異誘発能を測定することによって、テデュグルチド（白色粉末）の変異原性を評価した。これらの試験は、プレート法を用いて実施した。溶媒にはジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた。最終的な変異原性試験は、Aroclor 誘導ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で、プレートあたり 100、333、1000、3333 及び 5000 µg の濃度で、陽性対照と共に実施した。これらの濃度は、予備的な毒性評価試験に基づき選択した。沈殿又は明らかな毒性は認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず、全ての菌株において、全濃度で復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

結論として、テデュグルチドは、代謝活性化の有無にかかわらず、使用したいずれの検定菌においても細菌復帰突然変異を誘発しなかった。

4.1.2　　哺乳動物細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験

（試験番号 88666、添付資料番号 4.2.3.3.1.2、評価資料）

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞における染色体異常誘発能を測定し、テデュグルチド（白色粉末）の染色体異常誘発性を評価した。溶媒には DMSO を用いた。細胞生存率に関する予備試験に基づき、染色体異常試験（S9 活性化の存在下及び非存在下）において検討するテデュグルチド濃度として、250、500、1000、1500、2000 及び 3000 µg/mL を選択した。CHO 細胞のテデュグルチド処理時間は、代謝活性化非存在下では 4 及び 20 時間、代謝活性化存在下では 4 時間のみとした。処理開始 20 時間後に全ての細胞を回収した。

1500、2000 及び 3000 µg/mL で 4 時間処理した場合、代謝活性化の有無にかかわらずテデュグルチドの毒性は認められなかった。さらに、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの濃度においても、溶媒対照群と比較して、構造的異常又は数的異常の有意な増加は認められなかった（$p>0.05$）。代謝活性化非存在下での 4 時間処理で陽性反応が認められなかったため、1500、2000 及び 3000 µg/mL で 20 時間処理した標本で染色体異常を評価した。20 時間処理においても試験した濃度で溶媒対照と比較して分裂指数の低下はみられず、構造的又は数的異常がみられた細胞の割合も、有意な増加を認めなかった（$p>0.05$）。

結論として、テデュグルチドは、CHO 細胞を用いた構造的・数的染色体異常試験において陰性であった。

4.2　*in vivo* 試験

4.2.1　　マウス骨髄小核試験

（試験番号 AA65WK.123.BTL、添付資料番号 4.2.3.3.2.1、評価資料）

マウス骨髄における小核多染性赤血球の誘発能を測定することによって、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）の染色体異常誘発性を評価した。陰性対照にはマンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液を用い、陽性対照にはシクロホスファミド一水和物（50 mg/kg）を使用した。

CD-1 マウス（雌雄各 5 匹／群）に 0、177、400 及び 800 mg/kg/day のテデュグルチドを 8 時間間隔で 2 回皮下投与した（投与容量：20 mL/kg/回）。陽性対照は、マウス（雌雄各 5 匹）に被験物質の 2 回目投与時に単回腹腔内投与した。動物を 24 時間後に安楽死させ、骨髄を採取し、多染性赤血球（PCE）及び正染性赤血球（NCE）における小核を検査した。また、別の群（雌雄各 5 匹／群）に 0 及び 800 mg/kg/day を投与し、最終投与 48 時間後に安楽死させ、同様に検査した。さらに、CD-1 マウス（雌雄各 3 匹）にテデュグルチド 800 mg/kg/day を投与し、投与約 2 時間後に採血し、被験物質の曝露を確認した。

試験期間中、死亡は認められなかった。400 及び 800 mg/kg/day 群の雄で皮下投与後に立毛がみられた。陰性対照群と比較して、投薬群の総赤血球に対する PCE の比に明らかな変化は認められず、赤血球増生は投薬の影響を受けないことが示唆された。投薬群では、陰性対照と比較して小核を有する PCE 数の増加も認められなかった。投与後 24 時間及び 48 時間の評価結果は同様であった。血漿中テデュグルチド濃度は、雄で 150.8～409.6 μg/mL、雌で 125.3～295.1 μg/mL であり、曝露量は十分であったことが確認された。陽性対照群では、雌雄マウスに小核を有する PCE 数の有意な増加が認められた。

結論として、テデュグルチドは 800 mg/kg/day までの投与において、骨髄における小核を有する PCE 数の有意な増加を誘発しなかった。

5　がん原性試験

5.1　長期試験

5.1.1　　マウス 104 週間皮下投与がん原性試験

（試験番号 8214171、添付資料番号 4.2.3.4.1.1、評価資料）

マウスにテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 1 日 1 回、104 週間連続皮下投与し、がん原性を評価した。

CD-1 マウス（雌雄各 80 匹／群）に、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、1、3.5 及び 12.5 mg/kg/day のテデュグルチドを投与した。各動物において 2 ヵ所の投与部位を定めた。投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。さらに、TK 評価マウス（対照群：雌雄各 32 匹、投薬群：雌雄各 64 匹／群）及び抗体評価マウス（雌雄各 12 匹／群）にも同様に投与した。投与量はマウス 26 週間投与毒性試験に基づき決定した（本項 3.1.4）。高用量群（12.5 mg/kg/day）において、試験期間中に観察された毒性はごく軽微であり、げっ歯類とヒトの曝露量（血漿中 AUC）の比は 25:1 を超え最大の薬力学的反応が得られたことから、医薬品のがん原性試験のための用量選択に関する ICH ガイダンス（S1C[R2]）に基づき投与量設定は適切であったと考えられる。評価項目は、一般状態観察、体重、詳細な身体診察（腫瘤の触診含む）、摂餌量、TK、抗体産生、剖検、臓器重量及び長さ（小腸及び大腸）並びに病理組織学的検査であった。

投薬群の生存率は、雌雄いずれも対照群と同程度であった。テデュグルチドに関連した有害な一般症状は認められなかった。全投薬群で、腹側腹部正中の腫脹及び腹側腹部正中の皮膚の青色変色（雌）が確認された。これは小腸に対するテデュグルチドの薬理作用による所見であった。腫瘤の発現頻度に差は認められなかった。雄の体重及び摂餌量に投薬の影響はみられなかった。雌では、全投薬群で対照群と比較して有意な体重の高値が観察され、投与 69 週時以降、摂餌量が有意に増加した。これは小腸に対する増殖作用に関連した変化であった。TK パラメータを下表に示す（表 2.6.6- 13）。

表 2.6.6- 13 マウスがん原性試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-t} (μg•hr/mL)
Week 3				
1	M	3.94	0.25	1.81
1	F	1.68	0.25	1.53
3.5	M	9.69	0.5	9.47
3.5	F	3.96	0.5	5.65
12.5	M	29.4	0.5	36.0
12.5	F	16.0	0.5	23.6
Week 52				
1	M	2.38	0.5	2.91
1	F	2.44	0.5	3.80
3.5	M	5.70	0.5	10.6
3.5	F	4.24	0.25	7.04
12.5	M	17.7	1.0	43.6
12.5	F	12.0	0.5	28.8

F=female; M=male.
Source: Study 8214171

平均 T_{max} は、雌雄とも概ね投与後 0.25～0.5 時間であった。C_{max} 及び AUC_{0-t} は用量の増加に伴い増大し、概して雌に比べて雄で高値であった。全体的にみて、曝露量は、C_{max} で評価した場合は雌雄とも増加率が用量の増加率を下回ったが、AUC_{0-t} で評価した場合は概ね用量に比例して増大した。ただし、投与 52 週時には、雌において AUC_{0-t} の増加率が用量の増加率を下回った。C_{max} 又は AUC_{0-t} については、反復投与による顕著な変化はみられなかった。

抗体評価のため、投与 1 日目の投与前並びに投与 13 及び 26 週時に、1 群雌雄各 4 匹から検体を採取した。投与 1 日目の投与前検体では、抗体は検出されなかった。採取した 95 検体のうち計 35 検体が抗体スクリーニング検査で陽性であり、9 検体は不確定であった。陽性であった 35 検体のうち 34 検体は特異的抗体陽性が確認された。さらに不確定であった 9 検体のうち 2 検体が特異的抗体陽性であった。確認試験において、36 検体全てが特異的抗体陽性であり、うち 26 検体は中和抗体陽性であった。抗体価は 3 投薬群間で同程度であり、弱～中等度の免疫応答に一致するものであった。中和抗体の存在にもかかわらず、全身曝露量に影響は認められなかった。

剖検では、投薬に関連した胆嚢の膨張又は肥大並びに腸間膜リンパ節の変色又は肥大が全投薬群で認められた。これらの所見は、投薬に関連した非腫瘍性の病理組織学的変化に関連していた。さらに、全投薬群で用量関連性のない小腸及び大腸の長さ及び重量の増加がみられ、これらは予期される被験物質の薬理作用と一致する所見であった。

腫瘍性病変として、全投薬群で胆嚢の乳頭状腺腫（良性腫瘍）が認められ、これは被験物質の作用によると考えられたが、本剤の薬理活性及び／又は局所刺激反応に関連した二次的影響である可能性もある。さらに、その発現は用量依存的ではなかった。12.5 mg/kg/day 群の雄において空腸の腺癌（マウスではまれな腫瘍）が確認され、投薬の影響が示唆された。これもまた、テデ

ュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響である可能性がある。これらの腫瘍の発現頻度を下表に要約する（表 2.6.6- 14）。

表 2.6.6- 14　　マウスがん原性試験の胆嚢及び小腸における腫瘍性病変の発現頻度

Tissue/Finding	Incidence[a]							
	Males				Females			
Dose levels (mg/kg/day)	0	1	3.5	12.5	0	1	3.5	12.5
Gall Bladder								
Papillary adenoma	0/66	5/71*	2/70	6/70*	0/69	1/69	3/70	0/68
Jejunum								
Malignant-Adenocarcinoma	0/68	1/69	0/73	4/68#	0/69	0/69	0/68	1/69

[a] The gall bladder of most animals that died on study often had post-mortem changes that precluded microscopic evaluation.
* Statistically significant by pairwise comparisons.
\# Adenocarcinoma in the jejunum in male had a significant positive trend (p = 0.0155), but none of the treated groups had a significant increase (p = 0.1084 at 12.5 mg/kg/day).
Source: Study 8214171

3.5 及び 12.5 mg/kg/day 群の雌で、肺腫瘍（細気管支－肺胞腺腫及び癌腫）の発現頻度が明らかに増加した。しかし、本所見は、本試験の対照群での腫瘍の発現頻度が異常に低かったためであり、その発現頻度は、試験実施施設の背景データの範囲を下回っていた。また、細気管支－肺胞腫瘍は CD-1 マウスによくみられる所見であり、異なる試験の対照群間での発現頻度に大きなばらつきがみられる。したがって、この所見は投薬に関連しないと判断した。

投薬に関連した非腫瘍性病変が胆嚢、小腸、大腸、リンパ節、骨髄及び投与部位に観察された。胆嚢では、膨張の発現頻度が増加すると共に、上皮過形成（ごく軽微～重度）、炎症（ごく軽微～重度）及び胆嚢壁の線維症／肥厚（ごく軽微～中等度）の発現頻度が増加した。十二指腸、空腸及び回腸では、ごく軽微～軽度な絨毛高増大の発現頻度が増加すると共に、粘膜過形成（空腸及び回腸ではごく軽微～軽度、十二指腸ではごく軽微～重度）が認められた。大腸（盲腸、結腸、直腸）では、全投薬群において、ごく軽微～軽度又はごく軽微～中等度の粘膜過形成の発現頻度が増加した。全投薬群で腸間膜リンパ節にうっ血／出血、マクロファージ浸潤（雄）及び造血（雄）の発現頻度が増加した。骨髄（大腿骨及び胸骨）では、全投薬群の雄に細胞過形成の増加がみられた。投与部位では全投薬群で炎症の発現頻度が増加した。総合すると、胆嚢、小腸及び大腸で観察された病理組織学的変化の発現頻度及び重症度は全投薬群で同程度であり、用量反応性及び性差は認められなかった。

以上のとおり、テデュグルチドは、腫瘍性病変については、1 mg/kg/day 以上で胆嚢の乳頭状腺腫を増加させ、12.5 mg/kg/day 群の雄で空腸腺癌を増加させた。胆嚢の腫瘍は投薬に関連した所見であったが良性であり、その特徴は上皮における乳頭状突起のより広範な増殖であった。これは、テデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響及び／又はこの組織における局所刺激作用への反応であると考えられる。また、高用量群の雄に観察された空腸腫瘍は本剤の薬理活性に

関連した二次的影響である可能性もあるが、投薬に関連した所見と考えられた。したがって、無発がん量は 3.5 mg/kg/day と判断した。このときの $AUC_{0\text{-}t}$ は 10.6 µg•hr/mL であり、これは SBS 患者に 0.05 mg/kg/day を投与したときの AUC（0.235 µg•hr/mL、2.7.2.2.2.3.1.1.2 項）の 45.1 倍である。

5.1.2　　ラット 104 週間皮下投与がん原性試験

（試験番号 800070、添付資料番号 4.2.3.4.1.2、評価資料）

Wistar Han ラットにテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回、104 週間連続皮下投与し、がん原性を評価した。

1 群あたり雌雄各 50 匹のラットに、0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、3、10 及び 35 mg/kg/day のテデュグルチドを連日投与した。また、TK 評価ラット（投薬群のみ：雌雄各 12 匹／群）にも同様に投与した。さらに、ベースライン時の抗体価測定のため雌雄各 12 匹を追加した。各動物において 6 ヵ所の投与部位を定めた。投与容量は当初 1.25 mL/kg/回とした。投与 30 週からは、高用量群の動物の投与部位に認められた局所刺激を軽減させるために高用量群投与液濃度を 14 mg/mL から 10 mg/mL に低下させ、対照群及び 35 mg/kg/day 群の投与容量を 1.75 mL/kg/回に増量した。投与量はラット 13 週間投与毒性試験（本項 3.2.3）に基づき決定した。高用量群（35 mg/kg/day）において、試験期間中に観察された毒性はごく軽微であり、げっ歯類とヒトの曝露量（血漿中 AUC）の比は 25:1 を超え、最大の薬力学的反応が得られたことから、医薬品のがん原性試験のための用量選択に関する ICH ガイダンス（S1C[R2]）に基づき投与量設定は適切であったと考えられる。さらに、ラットへのテデュグルチドの長期投与を妨げるような抗テデュグルチド抗体反応は認められなかった。評価項目は、一般状態観察、体重、詳細な身体診察所見（腫瘤の触診含む）、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、TK、剖検、臓器重量、腸の重量及び長さ並びに病理組織学的検査であった。

投薬群の生存率は、雌雄いずれも対照群と同程度であった。試験中に死亡した投薬群の少数の動物については、胆管に病変（拡張、肥厚及び円柱形成）が認められたことから、投薬に関連した死亡と考えられた。35 mg/kg/day 群の雌雄で腫瘤の発現が軽度に高値であった。腫瘤は概して投与部位の皮下組織の肥厚と一致し、被毛菲薄化及び皮膚の蒼白化に関連していた。投薬群の雌で、対照群に比べて軽微な体重の低値がみられたが、雄では認められなかった。摂餌量、眼科学的検査及び臨床検査に、投薬に関連した変化は認められなかった。TK パラメータを下表に示す（表 2.6.6- 15）。

表 2.6.6- 15　　ラットがん原性試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} [a] (μg•hr/mL)
Day 28				
3	M	1.6	0.5	2.4
3	F	1.3	0.28	1.5
10	M	4.1	0.5	7.3
10	F	2.8	0.5	4.1
35	M	10.4	1	29.4
35	F	4.9	0.5	10.8
Week 52				
3	M	1.6	0.5	2.3
3	F	1.1	0.5	2.2
10	M	2.8	1	7.5
10	F	2.0	1	4.9
35	M	9.2	1	36.5
35	F	8.0	0.5	22.9

F=female; M=male.
[a] AUC values are from 0 to 8 hours for all groups, except for the low-dose females on Day 28 where the value is from 0 to 4 hours.
Source: Study 800070

平均 T_{max} は、雌雄とも概ね投与後 0.28～1 時間であった。C_{max} 及び AUC_{0-8} は用量の増加に伴い増大し、概して雌に比べて雄で高値であった。全体的にみて、曝露量は、C_{max} で評価した場合は雌雄とも増加率が用量の増加率を下回ったが、AUC_{0-8} で評価した場合は概ね用量に比例して増大した。反復投与による影響がみられた値は、最高用量（35 mg/kg/day）における AUC のみであった。これは、この群における 24 時間時点の血漿中濃度の上昇と一致した。

非腫瘍性病変として、全投薬群に小腸及び大腸（粘膜過形成に伴う重量及び長さの増加）並びに胆道系（肝重量増加に関連すると考えられる肝外胆管の上皮過形成及び肝内胆管の増殖）への影響が認められた。さらに、主に 10 及び 35 mg/kg/day 群で胆管周囲性線維症及び胆道嚢胞が確認され、10 mg/kg/day 群の雌及び 35 mg/kg/day 群の雌雄で膵臓重量増加（対応する形態異常なし）がみられ、3、10 及び 35 mg/kg/day 群において腸間膜リンパ節の軽微な形態変化（リンパ組織過形成、リンパ節洞拡張及び／又は赤血球貪食）が観察された。リンパ節の変化は、胆道及び腸で確認された変化の二次的所見と考えられた。10 及び 35 mg/kg/day 群では投与部位の局所炎症が高頻度に認められたが、3 mg/kg/day 群では時折認められる程度であった。本試験で認められた病理組織学的変化は、反復投与試験で観察された所見と同様であった。

腫瘍性病変として、投薬に関連した腫瘍が小腸及び胆管（すなわち、テデュグルチドの長期投与に反応して細胞増殖が増加した組織）に認められた（表 2.6.6- 16）。

表 2.6.6- 16　　ラットがん原性試験での胆管及び小腸における腫瘍性病変発現頻度

Tissue/Finding	Incidence							
	Males				Females			
	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	35 mg/kg	0 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	35 mg/kg
Extrahepatic Bile Duct								
Cholangioma	0/46	0/47	1/44	4/48	0/47	0/46	0/46	1/48
Liver Bile Duct								
Cholangioma	0/50	0/50	0/50	1/50 [a]	0/50	0/50	0/50	0/50
Jejunum								
Adenoma	0/50	1/50	0/50	5/50	0/50	0/50	0/50	0/50
Adenocarcinoma	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50

[a] The animal with this tumor did not have an extrahepatic bile duct cholangioma.
Source: Study 800070

中用量群の雄 1 匹並びに高用量群の雄 5 匹及び雌 1 匹において、肝外又は肝内胆管の胆管腫が認められた。胆管腫の発現は高用量群の雄で統計学的に有意であった（p=0.0465）。胆道に悪性腫瘍は認められなかった。高用量群の雄 5 匹に空腸腺腫が発現し、この発現頻度は統計学的に有意であった（p=0.0332）。さらに低用量群の雄（各 1 匹）において、1 件の空腸腺腫及び 1 件の空腸腺癌が認められた。

腺腫、腺癌及び胆管腫は、Wistar Han ラットに低頻度で自然発生することが知られている（Charles River Montreal Historical Control Data）。さらに、空腸腺腫及び腺癌の発現頻度に用量依存性は認められなかったことから、低用量群及び中用量群の雄に低頻度で発現したこれらの腫瘍は、投薬に関連した所見ではないと考えられた。

結論として、投薬に関連した悪性腫瘍は認められなかった。35 mg/kg/day 群の雄で胆管上皮由来の良性腫瘍及び空腸粘膜腺腫の発現頻度が統計学的に増加した。10 mg/kg/day 群の雄 1 匹において、胆管腫が 1 ヵ所認められたため（その発現頻度は統計学的に有意ではなく、偶発的な特発性所見と考えられたが）、良性腫瘍性変化に関する無影響量（NOEL）は、控え目にみて 3 mg/kg/day と判定された。NOEL（3 mg/kg/day）に対応する投与 52 週時の $AUC_{0\text{-}8}$ は雄で 2.3 µg•hr/mL であり、これは患者に 0.05 mg/kg/day を投与したときに得られた平均ヒト AUC（0.235 µg•hr/mL）の 9.8 倍である。

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

6.1.1　　ラット受胎能及び初期胚発生試験

（試験番号 98357、添付資料番号 4.2.3.5.1.1、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 22 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、2、10 及び 50 mg/kg/day の用量で、約 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与した。各動物において 8 ヵ所の投与部位を定め、投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。雄ラットには、少なくとも交配前 28 日間、交配期間中及び交配後は剖検時（交配期間終了から約 3 週間後）まで投与した。雌ラットには、少なくとも交配前 14 日間、交配期間中及び妊娠 7 日目まで投与した。評価項目は、死亡、一般状態観察、詳細な身体診察、体重、摂餌量、性周期、交配、剖検、臓器重量、雄生殖能の評価（精子の運動性、数及び形態）、精巣の組織学的評価（精子形成周期の評価を含む）並びに交配した雌における妊娠 13 日の子宮内検査所見であった。

本試験中に死亡は認められず、投薬に関連した一般症状は認められなかった。テデュグルチドは、体重又は摂餌量にも影響を及ぼさなかった。

雌の性周期に対する影響はなく、交配までの平均日数、交尾率、雄の授胎率及び雌の受胎率にも影響は認められなかった。卵巣及び子宮の所見（黄体数、着床数、生存胚及び死亡胚の数、吸収数並びに着床前及び着床後胚損失率など）もテデュグルチドの影響を受けなかった。生殖器の重量に対する影響はなく、雄における精巣上体精子数、精子の運動性及び形態並びに精子形成周期に対する影響も認められなかった。

投薬群の雌雄の親動物で、小腸及び大腸の絶対重量及び相対重量に用量依存的増加が観察され、これらの増加は概して統計学的に有意であった。これらの所見に関連する剖検所見として、投薬群での腸壁肥厚の発現頻度増加が、主に十二指腸に、また回腸及び空腸にも認められた。

雌雄受胎能、初期胚発生及び精子パラメータに関する NOAEL は、50 mg/kg/day（検討した最高用量）であった。

6.2　胚・胎児発生毒性

6.2.1　　ラット胚・胎児発生毒性試験

（試験番号 7203-117、添付資料番号 4.2.3.5.2.1、評価資料）

Sprague-Dawley 妊娠ラット（25 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、2、10 又は 50 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日目～17 日目に、約 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与した。各動物において 4 ヵ所の投与部位を定め、投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。妊娠 20 日に動物を剖検した。さらに投薬群について TK 評価のためにラット（9 匹／群）を組み入れた。評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、子宮内評価及び胎児評価であった。

母動物毒性については、テデュグルチド投与後に死亡又は注目すべき一般症状は認められなかった。全投薬群の母動物において、投与期間前半に摂餌量低下及び体重増加抑制が認められたが、これらは用量依存的ではなく、可逆性であり、有害性は認められなかった。母動物の剖検に所見は認められず、子宮重量の変化もなかった。本試験の TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 17）。

表 2.6.6- 17　　ラット胚・胎児発生試験の母動物 TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Gestation Day 6				
2	1.4	0.25	1.6	0.55
10	4.1	0.50	5.9	0.65
50	13.6	1.0	39.2	0.81
Gestation Day 17				
2	1.0	0.25	1.6	0.63
10	2.3	0.50	5.5	0.65
50	11.2	0.50	51.5	1.7

Source: Study 7203-117

テデュグルチドの曝露量は用量の増加に伴い増大した。テデュグルチドは速やかに吸収され、血漿中から急速に消失した。いずれの測定日においても、C_{max} の増加率は用量の増加率を下回ったが、AUC_{0-8} は概ね用量に比例して増加した。反復投与は AUC_{0-8} に影響を及ぼさなかったことから、妊娠雌ラットに反復投与後、蓄積はないことが示された。

胎児体重は、50 mg/kg/day で減少する傾向がみられた。外表、骨格又は内臓の奇形は増加しなかった。さらに、内臓変異の発現頻度は全ての群間で同程度であった。骨格変異において、頭蓋骨の不完全骨化及び波状／弯曲肋骨の発現頻度が、対照群に比べて全投薬群で増加した。頭蓋骨の不完全骨化の発現に用量関連性はなく施設の背景値の範囲内であることから、有害ではないと判断した。波状／弯曲肋骨の発現は、用量関連性が認められ施設の背景値の範囲を超えたが、可逆性の一過性の発育遅延と考えられ（Kumazawa et al 1997）、有害ではないと判断した。

以上より、母動物の毒性及び胚・胎児の発生毒性の NOAEL は、50 mg/kg/day と判定された（これに対応する妊娠 17 日目の AUC は 51.5 μg•hr/mL）。

6.2.2　　ウサギ胚・胎児発生毒性試験

（試験番号 [redacted]-487001、添付資料番号 4.2.3.5.2.2、評価資料）

妊娠ニュージーランド白色ウサギ（1 群あたり 22 匹）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、2、10 及び 50 mg/kg/day の用量で、妊娠 7 日目～20 日目に、約 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与した。動物は、妊娠 29 日に剖検した。さらに投薬群について TK 評価のために妊娠ウサギ（3 匹／群）を組み入れた。各動物

において合計 6 ヵ所の投与部位を定め、投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。評価項目は、瀕死及び死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、TK、子宮内検査及び胎児検査であった。

50 mg/kg/day 群の雌 1 匹が、妊娠 13 日に後肢障害により瀕死状態となったため、切迫屠殺した。対照群の雌 1 匹が、妊娠 29 日に流産した。さらに、50 mg/kg/day 群の雌 1 匹が、妊娠 21 日に流産したが、投薬との明らかな関連性は認められなかった。他の雌は生存し、妊娠が維持された。いずれの用量においても、母動物の一般症状に投薬に関連した所見は認められず、また体重、体重増加量、補正体重（妊娠子宮重量除く）、補正体重増加量（妊娠子宮重量除く）、妊娠子宮重量又は摂餌量への影響もなかった。子宮パラメータに対する影響は認められなかった。剖検において、用量に関連した投与部位の肥厚及び／又は発赤が確認された。10 及び 50 mg/kg/day 群では、対照群に比べて投与部位反応の発現頻度が有意に増加した。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 18）。

表 2.6.6- 18　　ウサギ胚・胎児発生試験の母動物 TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)
Gestation Day 7			
2	0.70	0.5	1.6
10	2.2	1.0	7.1
50	5.1	1.5	28.2
Gestation Day 20			
2	0.84	0.8	2.4
10	3.1	0.8	8.5
50	11.7	1.0	49.3

Source: Study [redacted]-487001

平均 T_{max} は、0.5～1.5 時間であったことから、吸収は速やかであることが示されている。テデュグルチドの曝露量は、概ね用量に比例して増大した。反復投与によって、C_{max} 及び AUC が増大する傾向がみられたが、血漿中においてテデュグルチドの顕著な蓄積は認められなかった。

胚・胎児毒性については、子宮内胎児成長及び胎児生存は各群間で同様であり、胎児の外表、内臓及び骨格における所見の発現頻度も同程度であった。

結論として、母動物毒性及び胚・胎児発生に関する NOAEL は、50 mg/kg/day と判定された（これに対応する妊娠 20 日の AUC は 49.3 μg•hr/mL）。

6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体機能

6.3.1　　ラット出生前／出生後の発生並びに母体機能に関する試験

（試験番号 [redacted]00008、添付資料番号 4.2.3.5.3.1、評価資料）

Sprague-Dawley 妊娠ラット（22 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0 mg/kg/day（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、10、25 及び 50 mg/kg/day の

用量で、妊娠 7 日～授乳 20 日に、約 8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与した。各動物において 6 ヵ所の投与部位を定め、投与容量は 1.25 mL/kg/回とした。F_0 親ラットにおける評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、妊娠期間、同腹児数及び子宮パラメータであった。F_1 出生児における評価項目は、出生時生存率、離乳前発達指標（平面正向反射、空中正向反射、聴覚性驚愕反応及び瞳孔収斂）並びに剖検であった。離乳後、特定の F_1 出生児において、一般状態観察、体重、摂餌量、性的成熟度、自発運動量、並びに学習と記憶、生殖能、剖検及び子宮パラメータを評価した。

F_0 世代のラットに、投薬に関連した死亡はなかった。投薬に関連した一般症状は認められず、体重、体重増加量、摂餌量及び剖検への影響はなかった。0、10、25 及び 50 mg/kg/day 群において、交配させた 22 匹の雌ラットのうち、それぞれ 21 匹、22 匹、19 匹及び 18 匹が妊娠した。自然分娩及び同腹児所見に影響は認められなかった。

出生児における反射及び身体発育（平面正向反射、空中正向反射、聴覚性驚愕反応及び瞳孔収斂）は、テデュグルチド投与の影響を受けなかった。F_1 世代において、投薬に関連した死亡又は一般症状は認められず、体重、体重変化量、摂餌量、精巣及び精巣上体重量、性的成熟度（包皮分離日又は膣開口日）、自発運動量、学習と記憶、あるいは交配及び受胎能パラメータに対する影響もみられなかった。50 mg/kg/day の高用量テデュグルチドを母動物に投与しても、帝王切開又は同腹児パラメータに影響はみられなかった。最後に、F_1 世代のラットにおいて、テデュグルチドに関連した胎児の肉眼的異常は認められなかった。

以上のデータに基づき、母動物毒性、母動物の生殖能への影響並びに F_1 出生児の生存率、成長、交配及び受胎能に関する NOAEL は、50 mg/kg/day と判定された。

7　幼若動物を用いる試験

当初実施した幼若ウサギを用いた用量範囲設定試験（0、2、10 及び 50 mg/kg/day の用量で生後 5 から 18 日目に 1 日 2 回皮下投与、試験番号 7203-109、添付資料番号 4.2.3.5.4.1、参考資料）では死亡は示されなかったが、続く、主試験（0、2、10 及び 50 mg/kg/day の用量で生後 5 日目から 26 週間の予定で 1 日 2 回皮下投与、試験番号 7203-110、添付資料番号 4.2.3.5.4.2、参考資料）では過度の死亡が認められたため、試験を早期（生後 16 日目）に終了した。過度の死亡は、投薬による影響の可能性に加え、動物の輸送、試験前の広範な検査及び 1 日という短い馴化期間後の投与開始などに関連するストレス、さらにこれらのストレスによる母動物の哺育不良によると考えられた。このようにウサギを用いた試験では、死亡により科学的に評価可能な動物数を確保できなかったことから幼若動物における毒性評価ができなかったため、その後、幼若ミニブタを用いた試験を実施した（本項 7.1）。

7.1　幼若ミニブタ 90 日間皮下投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

（試験番号 51153、添付資料番号 4.2.3.5.4.3、評価資料）
（試験番号 66585、添付資料番号 4.2.3.5.4.4、評価資料）

幼若 Gottingen ミニブタ（雌雄各 6～8 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を 0（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）、1、5 及び 25 mg/kg/day の用量で、授乳 7 日目から 90 日間にわたって、8 時間間隔で 1 日 2 回皮下投与した（試験番号 66585）。さらに雌雄各 3～5 匹を対照群及び高用量群に組み入れ、これらの動物では 13 週間の休薬期間を設けた。局所刺激を最小限に抑えるため、各幼若ブタにおいて、4 ヵ所の部位に交互に投与した。投与容量は 0.625 mL/kg/回とした。用量は、幼若ミニブタを用いた 14 日間の用量範囲設定試験（試験番号 51153）の結果に基づき選択した。この用量設定試験では、5 及び 25 mg/kg/day（1 日 2 回、14 日間皮下投与）の用量で、本剤の薬理活性に関連した腸への影響（重量及び長さの増加、過形成）が認められた。両用量において、過形成及び髄外造血（肝臓及び膵臓）に関連した胆嚢、肝臓及び脾臓の重量増加並びに胆管過形成が確認された。25 mg/kg/day では体重増加も認められた。

主たる試験では、分娩後、合計で雌雄各 30 匹の幼若動物を得るため、10 匹の母ブタそれぞれにおいて同腹児が雌雄各 3 匹となるように交叉哺育を実施した。評価項目は、一般状態観察、体重、頭殿長、摂餌量、臨床検査、TK、眼科学的検査、心電図、剖検、臓器重量、病理組織学的検査並びに腸の重量及び長さであった。

合計 36 匹の幼若ブタが、試験開始前又は最初の 23 日間のうちに死亡した（0 mg/kg/day 群 10 匹、1 mg/kg/day 群 8 匹、5 mg/kg/day 群 8 匹及び 25 mg/kg/day 群 10 匹）。14 匹の母ブタから生まれた追加の幼若ブタを補充した。対照群と投薬群の両者において、ほぼ同頻度で自然死が発生したため、これらはテデュグルチドの投与に関連した死亡ではないとみなされた。幼若ブタに対する過度の取扱い及び母ブタの乳汁分泌欠如によって幼若ブタの健康が損なわれ、一般症状（便秘、下痢、嘔吐／帯黄色の泡又は流涎、行動抑制、呼吸窮迫、痙攣、チアノーゼ）や死亡につながったと考えられる。剖検において、全群の死亡動物の一部で腹膜炎が認められたが、病理組織

学的検査では、死因とみられる投薬に関連した所見は認められなかった。生存した幼若ブタでは、投与部位における局所刺激を除いて、投薬に関連した一般症状は認められなかった。

成長パラメータ（体重、体重増加量、頭殿長及び脛骨長）については、対照群と投薬群とに統計学的有意差は認められず、心電図及び眼科学的検査所見にも影響はみられなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査において、散発的な、時に統計学的に有意な変化が認められたが、有害ではないとみなされた。尿検査所見も、投薬に関連しない可能性が高いとみなされた。TK パラメータを下表に要約する（表 2.6.6- 19）。

表 2.6.6- 19　　幼若ミニブタ 90 日間試験の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
Day 1					
1	M	0.73	0.25	1.1	0.58
1	F	0.95	0.25	1.5	0.50
5	M	2.9	1.0	7.5	0.62
5	F	2.5	2.0	7.4	0.49
25	M	6.2	1.0	23.0	3.0
25	F	7.2	0.50	29.8	1.7
Day 44					
1	M	0.67	0.50	1.3	1.1
1	F	0.41	1.0	1.1	0.64
5	M	1.3	1.0	4.4	0.84
5	F	0.99	2.0	3.2	0.94
25	M	4.9	0.25	15.4	2.4
25	F	5.1	0.25	15.1	1.8
Day 91					
1	M	0.39	0.50	1.5	0.71
1	F	0.57	0.50	1.6	0.72
5	M	1.1	1.0	2.6	1.6
5	F	2.7	0.50	3.8	1.3
25	M	6.3	0.25	15.1	1.1
25	F	11.5	0.50	28.4	1.4

Source: Study 66585

T_{max} は、0.25～2 時間であり、吸収は速やかであることが示されている。テデュグルチドの曝露量は、概ね用量の増加に伴い増大した。C_{max} 及び AUC_{0-8} の増加率は、概して用量の増加率を下回った。中用量群の雌において、投与 91 日目の C_{max} が雄よりも高値であった点を除いて、顕著な性差は認められなかった。TK パラメータに反復投与による影響はなく、テデュグルチドの蓄積は認められなかった。

剖検では、全投薬群の動物で投与部位の局所炎症反応が認められ、病変の発現頻度及び程度は、用量の増加に伴い増加／増大する傾向がみられた。この炎症反応は、13 週間の休薬期間後

にも持続していたが、その特性は変化し、回復中であることが示唆された。薬理学的に予期される投与の影響として、小腸の重量増加及び伸長が観察され、その発現頻度及び重症度は全投薬群で同程度であった。またこれよりも程度は低いが、全投薬群において、大腸でも同様の変化が認められた。病理組織学的検査では、全投薬群で一部の幼若ブタ（すなわち、各群で検査した 3～5 匹のうち 2～4 匹）の十二指腸、空腸及び回腸に、ごく軽微～軽度な絨毛肥大が認められた。13 週間の休薬期間後、25 mg/kg/day 群の動物における小腸及び大腸の重量及び／又は長さは、依然として対照群よりも高値であったが、一部回復がみられた。

全投薬群において、ほぼ全てのミニブタに胆嚢及び肝外胆管の嚢胞性粘膜過形成が検出され、その重症度は用量依存的に重症化した（1 mg/kg/day 群ではごく軽微～軽度、5 mg/kg/day 群ではごく軽微～中等度、25 mg/kg/day 群ではごく軽微又は中等度～重度）。高用量群の回復動物では、この所見の部分的回復がみられた。

投薬に関連した肝臓、副腎及び腎臓の重量増加がみられたが、対応する病理組織学的検査は認められず、これらの臓器重量の変化は、毒性学的に重要ではないとみなされた。

投与部位において、対照群を含めた全群において、炎症性変化（筋繊維変性／炎症及び肉芽腫性炎症）が報告された。重症度は、投与量の増加に伴い重症化し、概して、0 及び 1 mg/kg/day 群ではごく軽微～軽度、5 mg/kg/day 群ではごく軽微～重度、25 mg/kg/day 群では中等度～重度であった。休薬期間後、投与部位で報告された所見によると、投与期間終了時の剖検で観察された炎症性変化は、部分的に回復していると考えられた。

本試験では、全投薬群において胆嚢及び投与部位の変化が認められたため、NOAEL を特定できなかった。本試験で観察された変化は、若齢成熟動物（げっ歯類及び霊長類）を用いて実施された試験と一致しており、幼若動物に特有の感受性は認められなかった。

8　局所刺激性試験

8.1　ウサギ単回静脈内／静脈周囲／動脈内投与局所刺激性試験

（試験番号 7203-101、添付資料番号 4.2.3.6.1、評価資料）

雄ニュージーランド白色ウサギ（6 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）を、耳翼辺縁静脈内に直接（25 mg/kg 静脈内ボーラス投与、投与容量：1.25 mL/kg）、耳翼辺縁静脈周囲（0.84 mg/kg 静脈周囲投与、投与容量：約 0.1 mL）又は耳中心動脈内に直接（25 mg/kg 動脈内投与、投与容量：1.25 mL/kg）単回投与した。本試験では、20 mg/mL の単一溶液を用いた。各動物の左耳にテデュグルチドを投与し、右耳を対照（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）とした。各群において、3 匹は投与 4 日目に安楽死させ、残り 3 匹は投与 15 日目に安楽死させた。評価項目は、死亡及び瀕死、詳細な一般状態観察、体重、刺激性、剖検並びに病理組織学的検査（投与部位及び肉眼的病変部位）であった。

一般症状は認められなかった。動脈内投与群の体重が減少した 2 匹を除いて、全動物で体重が増加した。上記体重減少はわずかであり、意義のある変動ではないと考えられた。

静脈内投与後、テデュグルチド及び溶媒の投与部位に刺激性は認められなかった。静脈周囲投与において、投与後 4 時間に、6 匹中 5 匹でテデュグルチドの投与による非常に軽微～明瞭な紅斑が生じた。この刺激性は、4 匹は投与 4 日目までに消失した。6 匹中 4 匹では、テデュグルチドの投与部位に小さな血腫も認められ、うち 1 匹では投与 4 日目の安楽死時点でもこの病変が持続しており、3 匹では投与 7 日目までに消失した。溶媒の静脈内周囲投与では、刺激性は引き起こされなかったが、6 匹中 5 匹の投与部位に小さな血腫が確認された。これらは、2 匹においては投与 4 日目の安楽死時点でも持続しており、残りの動物では投与 7 日目までに消失した。

動脈内投与では、テデュグルチド投与によって、投与 2 及び 3 日目に 6 匹中 2 匹に明瞭な紅斑が生じた。これは投与 4 日目までに消失した。2 匹において血腫も認められ、1 匹では投与 4 日目の安楽死時点でも持続しており、もう 1 匹では投与 7 日目までに消失した。溶媒を動脈内投与した場合には、紅斑又は浮腫は認められなかった。しかし、1 匹の投与部位において、投与 2 日目～9 日目に血腫が認められた。

投与 4 日目の剖検において、3 匹の動物で、テデュグルチド及び溶媒の動脈内投与部位に発赤領域が認められた。静脈周囲投与動物 1 匹において、投与部位（溶媒及びテデュグルチドの両方）に発赤領域が確認された。病理組織学的検査では、動脈内投与した全動物に、テデュグルチド投与部位と溶媒投与部位の両方で、投与 4 日目に出血及び／又はコラーゲン変性／壊死が確認された。これらの変化は投与 15 日目までに消失した。

以上のとおり、投薬に関連した影響が認められたものの、テデュグルチド静脈内投与の忍容性は良好であった。静脈周囲投与後及び動脈内投与後に、血腫形成を伴う明瞭な紅斑が認められ、これは投与手技に関連した所見と考えられた。これらの変化は投与 4 日目までに概ね消失した。

8.2　ミニブタ 13 日間皮下投与刺激性試験

（試験番号 6852-175、添付資料番号 4.2.3.6.2、評価資料）

雌 Gottingen ミニブタ（4 匹／群）に、テデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解又は液剤）を下表（表 2.6.6- 20）の試験デザインに従って皮下投与した。各動物において 6 ヵ所の投与部位を定め、2 ヵ所（部位 1 及び 2）には溶媒を、4 ヵ所（部位 3～6）には被験物質を投与した。1 群 4 匹には連日投与し、他の 1 群 4 匹には 4 日ごとに投与した。評価項目は、死亡及び瀕死、ケージサイド観察、詳細な一般状態観察、皮膚刺激性、体重、摂餌量、剖検並びに病理組織学的検査（投与部位）であった。

表 2.6.6- 20　　ミニブタ皮膚刺激性試験デザイン

Group/Dose Interval	Number of Animals (Females)	Dose Concentration (mg/mL) Test Site 1 [a,b]	2 [a,c]	3 [a,d]	4 [a,e]	5 [a,f]	6 [g]
1 (Daily)	4	0	0	20	30	50	50
2 (Every Fourth Day - Days 1, 5, 9, and 13)	4	0	0	20	30	50	50

[a] Dose volume was 1 mL/dose/test site.
[b] Vehicle A (35mM sodium phosphate [pH 7.4 ± 0.1], 50mM L-histidine, 3% mannitol in reverse osmosis water).
[c] Vehicle B (60mM sodium phosphate [pH 7.8 ± 0.1], 20mM L-histidine, 3% mannitol in reverse osmosis water).
[d] 54-mg Teduglutide/vial lyophilized powder reconstituted with Sterile Water for Injection (vehicle components similar to Vehicle A).
[e] 50-mg Teduglutide/mL solution diluted to 30 mg/mL with Vehicle B.
[f] 50-mg Teduglutide/mL solution administered as supplied (vehicle components similar to Vehicle B).
[g] 50-mg Teduglutide/mL solution administered at an injection volume of 0.6 mL (total dose of 30 mg, vehicle components similar to Vehicle B).
Source: Study 6852-175

全動物が計画屠殺時まで生存した。一般状態観察、体重及び摂餌量に投薬の影響は認められなかった。

4 日ごとに投与した動物に刺激性は認められず、剖検所見はなかった。病理組織学的検査では、ほとんどが低頻度でごく軽微から軽度の出血及び慢性炎症のみであり、50 mg/mL を投与した動物において、単発的に壊死及び巨細胞が認められた。

連日投与動物では 2 ヵ所の溶媒投与部位に皮膚所見は確認されなかった。投薬に関連した刺激性は、非常に軽微～軽微な浮腫及び／又は無緊張症（皮膚の弾性低下）のみであった。4 ヵ所の被験物質投与部位において、刺激性に関して用量反応性が認められ、最も重度の影響が認められた箇所は部位 5（50 mg/mL、投与容量 1 mL）であり、部位 6（50 mg/mL、投与容量 0.6 mL）、部位 4（30 mg/mL、投与容量 1 mL）、部位 3（20 mg/mL、投与容量 1 mL）では重症度が低かった。

連日投与動物の溶媒投与部位又は部位 3（20 mg/mL のテデュグルチド）では剖検所見は認められなかった。他の 3 つの部位（30～50 mg/mL）では変色が報告され、部位 5 では皮膚の癒着及び肥厚も認められた。

病理組織学的検査では、テデュグルチド連日投与によって、投与部位に刺激性がみられ、その特徴は、浮腫、線維症、出血、マクロファージ（巨細胞を含む）及びリンパ球の浸潤、慢性活動性炎症並びに壊死であった。病理組織学的検査所見の発現頻度及び重症度は、部位 4、部位 5 及

び部位 6 で同程度であり、部位 3 では若干軽度であった。これに対して、溶媒投与部位では、骨格筋変性、線維症、出血及びリンパ球浸潤が認められた。

結論として、テデュグルチドは、ミニブタにおいて濃度依存的かつ投与法依存的に（連日投与と 4 日ごとの投与の比較）刺激反応を誘発した。20 mg/mL の濃度では、30 及び 50 mg/mL に比べて顕著な影響は認められず、4 日ごとの投与では連日投与に比べて変化がわずかであった。

9　その他の毒性試験

9.1　抗原性試験

免疫反応を検討するために、マウス遅延型過敏反応（DTH）試験（9.1.1 項）及びウサギ免疫原性試験（9.1.2 項）を実施した。さらに、マウス 4、13 及び 26 週間、ラット 13 週間並びにサル 4、13 及び 52 週間反復投与毒性試験及びマウス 104 週間がん原性試験において、抗テデュグルチド抗体の発現を検討した。

マウス、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、バリデートされた ELISA 法によって、抗テデュグルチド抗体の発現を検討した。また、マウスを用いた 2 年間がん原性試験においても、バリデートされたセルベースバイオアッセイ法によって抗体を評価した（2.6.4.2.1.5 項）。反復投与毒性試験及びがん原性試験における抗体所見を表 2.6.6- 21 に要約する。

マウス 4 週間試験で低力価の抗テデュグルチド抗体が散見されたが、本所見は抗原性の徴候とはみなさなかった。マウスを用いた 13 週間及び 26 週間の皮下投与毒性試験では、抗テデュグルチド抗体は検出されなかった。マウスがん原性試験では、13～26 週間投与後、抗テデュグルチド抗体及び中和抗体が認められた。抗体が認められた動物数及び抗体価は、投与群間で同程度であり、弱～中等度の免疫応答を示した。重要な点として、全身曝露量への影響はなく、薬理活性の低下もみられなかった。サルでは、4 週間以上のテデュグルチド投与により、一部の動物に抗体産生が認められた。抗体が認められた個々のサルから得られた抗体と曝露量のデータを表 2.6.6- 22 に示す。抗体価及び抗体が認められた動物数は用量増加に伴い増加したが、用量比例性は認められなかった。抗テデュグルチド抗体のテデュグルチド生物活性に対する中和作用の可能性についての検討は行わなかったが、サルにおいて抗テデュグルチド抗体の発現に伴う腸での薬理活性の低下は認められなかった。さらに、全試験を通じて、抗体の存在によって全身曝露量が減少するという一貫したエビデンスも認められなかった。したがって、マウス及びサルでの抗テデュグルチド抗体の発現は、テデュグルチドの非臨床安全性／毒性試験におけるこれらの動物種の適切性を損なうものではない。

表 2.6.6- 21 反復投与試験での抗体発現

Species (Study no.)	Doses (mg/kg/day)	Dosing Duration (weeks)	Antibody Findings at various dose levels (mg/kg/day) [a]
Mouse (88730)	0.2, 0.6, 2	4	**2**: Antibodies in 5/21 females (low titers) **R**: No antibodies
Mouse (0470MN12.001)	2, 10, 50	13	No antibodies
Mouse (7203-112)	2, 10, 50	26	No antibodies
Mouse (8214171)	1, 3.5, 12.5	104	**1:** Antibodies in 3/4 males each and 4/4 females each in Weeks 13 and 26; neutralizing antibodies in 2/3 and 1/3 males and 2/4 and 3/4 females at 13 and 26 Weeks **3.5:** Antibodies in 2/4 and 3/4 males and 3/4 and 3/4 females in Weeks 13 and 26; neutralizing antibodies in 1/2 and 3/3 males and 3/3 and 3/3 females, respectively **12.5:** Antibodies in 1/4 and 4/4 males and 4/4 and 2/3 females in Weeks 13 and 26; neutralizing antibodies in 1/1 and 2/4 males and 4/4 and 1/1 females, respectively
Rat (800069)	10, 25, 50	13	No antibodies
Monkey (88729)	0.2, 0.6, 2	4	**0.6**: Antibodies in 1/5 males and 1/5 females **2**: Antibodies in 2/5 males and 1/5 females **R, 2**: Antibodies in 1/2 males (3-fold reduction in titer)
Monkey (7203-100)	1, 5, 25	13	**5**: Antibodies in 1/6 males; no antibodies in females **25**: Antibodies in 5/6 males and 5/6 females **R, 25**: Antibodies in 2/2 males (lower titers); no antibodies in females
Monkey (1368-100)	1, 5, 25	52	**25**: Antibodies in 5/6 males and 2/6 females **R**: No antibodies

R = Recovery.

[a] For dose levels not listed in this column mean no antibodies detected except 10 mg/kg/day (800069) and 1 mg/kg/day (1368-100) at which antibodies were not measured.

表 2.6.6- 22 サル個体別抗体価及び曝露量

Animal Number	Dose (mg/kg/day)	End of Study Antibody Titer	Recovery Antibody Titer	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	
				Day 1	Last Day
4-Week Study					
302 (M)	0.6	124	-	0.556	0.600
351 (F)	0.6	310	-	0.796	0.959
403 (M)	2	149	-	2.294	1.509
405 (M)	2	656	194	2.012	2.298
453 (F)	2	146	-	2.934	2.933
13-Week Study[a]					
I 52148 (M)	5	405	-	12.686	7.433
I 52150 (M)	25	613	163	57.482	23.469
I 52151 (M)	25	1353	228	57.957	24.440
I 52152 (M)	25	218 (201 on Day 30)	-	62.175 (38.816 [Day 30])	14.794
I 52153 (M)	25	503	-	55.278	21.970
I 52155 (M)	25	393	-	47.020	24.863
I 52175 (F)	25	997	ND	41.288	29.364
I 52176 (F)	25	405	-	61.222	32.061
I 52177 (F)	25	277	-	51.766	36.134
I 52178 (F)	25	1770 (226 on Day 30)	-	49.417 (18.165 [Day 30])	20.925
I 52179 (F)	25	898	-	56.410	18.615
1-Year Study[a]					
F18955M (M)	25	1025	-	63.914	40.926
F19919M (M)	25	633	ND	39.889	102.626
F18942M (M)	25	391	ND	50.532	90.277
F20217M (M)	25	608	-	47.046	60.747
F20234M (M)	25	1144	-	74.983	44.114
F202116F (F)	25	923	ND	55.644	40.597
F20260F (F)	25	844	-	56.001	34.960

- Sample not available for analysis.
[a] Titers were expressed as relative titers compared to those prior to treatment.
M = Male. F = Female. ND = not detected.
Source：Study 88729, Study 7203-100, Study 1368-100

9.1.1　　マウス遅延型過敏反応試験

（試験番号 0711XA27.001、添付資料番号 4.2.3.7.1.1、評価資料）

雌 BALB/cByJ マウス（10 匹／群）に、0.1 又は 1.0 mg/kg のテデュグルチド（白色粉末）をフロイントアジュバント存在下又は非存在下で週 1 回、3 週間皮内投与した。さらに、2 群のマウスに溶媒対照（PBS）又はオボアルブミン（陽性対照）をいずれもアジュバント存在下で投与した。最終投与 1 週間後、右耳介に抗原を惹起注入した。対照として、全動物の左耳介に溶媒を注入した。惹起 24 時間後に、マイクロメートルキャリパを用いて耳介の腫脹を測定した。

試験期間中、陽性対照群の 1 匹並びに投薬群の 2 匹（0.1 及び 1 mg/kg 群で各 1 匹、いずれもアジュバント存在下）の計 3 匹が死亡した。これらは、投薬に関連した死亡ではないとみなされた。

オボアルブミンは、溶媒対照と比較して有意な耳介腫脹を引き起こした（$p<0.001$）。テデュグルチドは、フロイントアジュバントの有無にかかわらず、0.1 又は 1.0 mg/kg いずれの投与でも、反応を引き起こさなかった。以上のとおり、テデュグルチドは遅延型過敏反応を誘発しなかった。

9.1.2　　ウサギ免疫原性試験

（試験番号 47063、添付資料番号 4.2.3.7.1.2、評価資料）

ニュージーランド白色ウサギに、テデュグルチド（液剤）を皮下投与又は筋肉内投与した。6 匹（雌雄各 3 匹）のウサギに、投与 1 日目にテデュグルチド（0.25 mg/mL、1.0 mL）をフロイントアジュバントと共に皮下投与した（初回抗原刺激）。対照群の 6 匹（雌雄各 3 匹）には、投与 1 日目にオボアルブミン（0.25 mg/mL、1.0 mL）をフロイントアジュバントと共に皮下投与した。溶媒には PBS を使用した。その後、投与 4（右大腿）及び 6 週間目（左大腿）終了時に、筋肉内に追加投与した。投与前週（初回抗原刺激前）、投与 4 及び 6 週間目終了時（1 回目及び 2 回目の追加接種前）並びに投与 8 週間目終了時（剖検時）に採血を行い、血清を採取した。二重免疫拡散法を用いて、血清中テデュグルチド及びオボアルブミンに対する特異的抗体の存在を判定した。

試験中、死亡は認められなかった。投薬群から採取した血清検体では、いずれの時点においても抗原抗体反応は認められなかった。これに対して、オボアルブミン群から採取した血清検体では、抗原抗体反応のエビデンスが認められた。

要約すると、未処置ウサギに 0.25 mg のテデュグルチドを投与 1 日目に皮下接種し、さらに投与 4 及び 6 週目終了時に追加接種した後に採取した血清を用いて二重免疫拡散法を実施したところ、反応は陰性（沈降線なし）であったことから、抗テデュグルチド抗体は産生されなかったことが示唆される。したがって、テデュグルチドはニュージーランド白色ウサギにおいて免疫原性を示さないとみなされた。

9.2　免疫毒性試験

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関する ICH ガイダンス（S6）によると、テデュグルチドのようなバイオテクノロジー応用医薬品には、一般に行われている階層別試験方法又は標準的な一連の検査方法は推奨されない。

テデュグルチドの反復投与毒性試験に免疫毒性作用を示唆するような一貫した血液学的検査値の変化、免疫系器官の重量及び／又は病理組織検査所見の変化、血清グロブリンの変化、感染症の発現頻度増加又は腫瘍発現の増加は認められなかった。したがって、テデュグルチドの免疫毒性を検討するための独立した非臨床試験は実施していない。

9.3　不純物の毒性試験

特定の不純物の安全性を確認するための毒性試験は実施しなかった。しかし、テデュグルチド原薬の不純物は下流の精製工程によって管理されている。また、個別に規格設定された製剤中の不純物は、テデュグルチドのペプチド断片である　類縁物質D*　及び　類縁物質C*　のみである（2.3.P.5.1 項）。毒性試験に使用されたロットにおける個々の不純物含量（2.6.7.4 項）及び規格限度値（2.3.P.5.1 項）に基づき、マウス 26 週間、ラット 13 週間及びサル 1 年間反復投与毒性試験における NOAEL での個々の不純物の投与量と規格限度値に基づく推奨臨床用量（0.05 mg/kg/day）での不純物投与量との比（投与量に基づく曝露量比）を算出した。算出された曝露量比は 43 以上であり、製剤中の不純物の安全性が確認された（表 2.6.6- 23）。

以上のとおり、不純物の安全性に危惧すべき問題はないと考えられる。

表 2.6.6- 23　　製剤の規格値に基づく不純物の曝露量比（動物試験／臨床試験）

Species	Duration	NOAEL (mg/kg/day)	MOE by Impurity	
			類縁物質D*[a]	類縁物質C*[b]
Mouse	26 weeks	50	516	431
Rat	13 weeks	50	500	545
Monkey	52 weeks	5	46	43

MOE = margin of exposure by comparing the dose administered, NOAEL = no observed adverse effect level
[a] Proposed specification of impurity is [redacted]% peak area
[b] Proposed specification of impurity is [redacted]% peak area
Source: Study 7203-112, Study 800069, Study 1368-100

9.4　その他の試験

9.4.1　　溶血性及び血液適合性試験

（試験番号 7203-102、添付資料番号 4.2.3.7.7.1、評価資料）

マウス（CD-1）、ミニブタ（Hanford）、カニクイザル及びヒトの血液を用いて、全血中におけるテデュグルチド（凍結乾燥粉末を再溶解）の溶血性並びに血清及び血漿との適合性を評価し

た。テデュグルチドの溶血性は、各動物種から得られた全血をテデュグルチドと共に 37℃で 43 分間インキュベーション後、血漿上清に含まれる血色素を測定することによって評価した。20.0、2.0 及び 0.2 mg/mL のテデュグルチドを同量の全血で希釈した（最終濃度は、それぞれ 10.0、1.0 及び 0.1 mg/mL）。陰性及び陽性対照として、それぞれマンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液及び 1%サポニンを同様に処理した。各動物種の血清又は血漿とテデュグルチドとの適合性は、それぞれ同量を混合し、室温で 33 分間インキュベートしたときの沈殿又は凝固を観察した。最終濃度 10.0、1.0 及び 0.1 mg/mL のテデュグルチドを用い、並行して溶媒対照の試験を実施した。

本試験データから、20.0、2.0 及び 0.2 mg/mL のテデュグルチド並びに溶媒は、同量のマウス、ミニブタ、カニクイザル又はヒトの全血と混合したとき、溶血を引き起こさなかった。同濃度のテデュグルチド及び溶媒は、同量のマウス、ミニブタ、カニクイザル又はヒトの血清又は血漿と混合したとき、沈殿又は凝固を引き起こさなかった。以上から、本テデュグルチド製剤の静脈内投与は容認できると考えられる。

9.4.2　カニクイザル C 反応性タンパク増加に関する探索的毒性メカニズム試験

（試験番号 519157、添付資料番号 4.2.3.7.7.2、参考資料）

臨床試験において、プラセボ群と比較してテデュグルチド群で C 反応性タンパク（CRP）増加が観察されたため（2.7.4.3.1.1.1.1 項）、サルでの CRP 増加の可能性を検討した。

雌カニクイザル 6 匹に、それぞれ濃度の異なる *Escherichia coli* タンパク質（ECP）を含有した 3 ロットのテデュグルチド（10 mg/kg）（ロット番号 NPS-016-071910［0 ppm ECP］、CL9-123［77 ppm ECP］及び CL9-124［124 ppm ECP）］）又はプラセボ（マンニトール及び L-ヒスチジン含有リン酸緩衝液）を皮下投与した。ラテン方格クロスオーバーデザインにおいて、各動物に各ロットを 1 回投与した。各投与間には 7 日間のウォッシュアウト期間を設けた。試験開始前並びに各投与における投与前、投与後 6、12、24 及び 48 時間後に採血し、CRP 濃度を測定した。

投薬に関連した一般症状は認められず、体重への影響もなかった。各投与後に CRP の増加がみられ、概して 24 時間時点で最高値に達し、48 時間までに投与前値に戻った。CRP 濃度の上昇は、プラセボ及び ECP 0 ppm のロットに比べて ECP 77 ppm 及び 124 ppm のロットにおいて大きかった。プラセボと ECP 0 ppm のロットでの CRP の増加は同程度であり、わずかであった。本所見から、臨床試験における CRP の上昇は ECP 含量に関連する可能性が示唆された。また、ECP を含むテデュグルチド初回投与時の CRP 濃度は、ECP 濃度にかかわらず常に 2 回目投与時よりも高値であった。

10　考察及び結論

テデュグルチドについて、包括的な一連の GLP 適合非臨床毒性試験を実施した。主要な試験では、臨床投与経路である皮下投与とし、約 8 時間間隔で 1 日 2 回投与した。これらの試験から得られた所見を以下に要約する。

マウス単回投与試験におけるテデュグルチドの忍容性は良好であった。皮下投与後に死亡は認められず、概略の致死量は 200 mg/kg 超であった。

マウス、ラット及びサルを用いて反復投与毒性試験を実施した。投与期間は、マウスで 14 日間～26 週間、ラットで 14 日間～13 週間、サルで 3 日間～52 週間であった。さらに、幼若ミニブタでも検討した。体重、摂餌量、臨床検査、眼科学的検査及び心電図に反復投与よる全身毒性の所見は認められなかった。

反復投与毒性試験で観察された主な所見は、以下の 3 つに大別される。

- テデュグルチドの薬理活性に関連した影響（すなわち、小腸及び大腸への影響）
  全動物種の全ての投与量で薬理作用が確認された。これらは、小腸及び／又は大腸の重量及び長さの増加であり、対応する病理組織学的検査所見として、これらの臓器における粘膜過形成及び／又は肥大が認められた。腸の組織形態学的検査では、絨毛高及び陰窩深の増大が観察された。本所見は、被験物質を投与したほぼ全動物に認められ、用量反応性はみられなかった。用量反応性が認められなかったことについては、毒性試験で選択されたいずれの投与量も用量反応曲線のプラトーに達していたためである可能性が高い（用量反応関係に関する包括的考察は、2.6.2.2.4.1 項参照）。これらの薬理学的影響は、休薬期間中に部分的に回復した。

- 非標的臓器における過度の薬理学的反応に関連した影響
  反復投与毒性試験において、過度の薬理作用は、肝内胆管（マウス、サル）、肝外胆管（サル、幼若ミニブタ）、胆嚢（マウス、サル、幼若ミニブタ）胃（サル）及び膵臓（サル）に認められた。共通する病理組織学的検査所見として肥大又は過形成が観察され、腸で認められた所見と同様であった。これらの過度の薬理作用は、部分的又は完全に回復し、有害な一般症状を引き起こさず、関連する臨床検査値変動を伴わなかった。

- 投与部位における影響
  投与部位では、共通の所見として炎症が認められた。本所見はサルで最も顕著であり（軽度～重度、壊死を伴う）、マウス（ごく軽微～軽度）及びラット（概ねごく軽微～中等度）ではサルよりも軽度であった。休薬期間後、少なくとも部分的な回復がみられた。ミニブタでは、連日投与により濃度に依存したごく軽微から重度の炎症がみられた。

TK 評価では、テデュグルチドは、皮下投与後、速やかに吸収されることが示された。C_{max} 及び AUC は概ね用量に比例して増大し、蓄積性は認められなかった。マウス及びラットでは、雌に比べて雄の曝露量が大きい傾向がみられたが、この影響は顕著ではなく（2 倍未満）、サル及びミニブタでは認められなかった。

テデュグルチドの遺伝毒性は、細菌を用いる復帰突然変異試験、CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びマウス小核試験において陰性であった。

マウスがん原性試験では、2 年間のテデュグルチド投与によって、1 mg/kg/day 以上で胆嚢の乳頭状腺腫が増加し、12.5 mg/kg/day 群の雄で空腸腺癌（悪性腫瘍）が増加した。胆嚢の腫瘍は投薬に関連した所見であったが良性であり、その特徴は、上皮における乳頭状突起のより広範な増殖であった。本所見はテデュグルチドの薬理活性に関連した二次的影響及び／又はこの組織における局所刺激作用に対する反応であると考えられる。一方、高用量群の雄のみに認められた空腸腫瘍については、テデュグルチド投与に関連した所見と考えられ、本剤の薬理活性に関連した二次的影響である可能性が示唆された。したがって、無発がん量は 3.5 mg/kg/day と判断した。このときの $AUC_{0\text{-}t}$ は 10.6 µg•hr/mL（雄）であり、これは患者に 0.05 mg/kg/day を投与したときの AUC（0.235 µg•hr/mL）の 45.1 倍である。テデュグルチドは、ラットがん原性試験において、35 mg/kg/day を 2 年間投与した雄ラットで、胆管及び空腸における良性腫瘍の発現頻度を増加させた。いずれの用量においても、投与に関連した悪性腫瘍は認められず、他の一般的な自然発生腫瘍の発現頻度はテデュグルチド投与によって増加しなかった。この試験の NOEL は 3 mg/kg/day と判定された（このときの AUC はヒトに推奨臨床量を投与したときの AUC の 9.8 倍）。

テデュグルチドのがん原性をさらに評価するための更なる試験は実施していない。しかし、テデュグルチドの発がんリスク評価に関連する試験結果が公表されている。

結腸に特異的な発がん物質であるジメチルヒドラジン（DMH）又はその代謝物アゾキシメタン（AOM）を用いて結腸における前腫瘍性病変及び腫瘍性病変の発現を誘発したマウス結腸発がんモデルにおける天然型 GLP-2 及び 2 番目のアラニンをグリシンに置換した合成 GLP-2（Gly-GLP-2）の影響が検討されている（Thulesen et al, 2004, Iakoubov et al, 2009）。これらの試験では、Gly-GLP-2 によりマウス腸における前腫瘍性及び腫瘍性病変の増殖が促進（すなわち加速）される可能性があることが確認された。また、成熟マウスに AOM を投与後、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）を投与した発がん物質誘発慢性大腸炎モデルにおいて、外因性及び内因性 GLP-2 の潜在的役割が検討された（Trivedi et al, 2012）。Gly-GLP-2 又はアンタゴニスト GLP-2(3-33)をこれらの動物に投与した結果、GLP-2(3-33)は内因性 GLP-2 の作用の阻害により、AOM 誘発性腫瘍の発現頻度を減少させ、Gly-GLP-2 投与は増加させる傾向を認めた。これらのデータは、内因性及び外因性 GLP-2 はげっ歯類の大腸の異形成を促進するが、その作用は使用したモデルに依存することを示している（Trivedi et al, 2012）。

一方、腸における GLP-2 反応性細胞（すなわち腸内分泌細胞、結腸線維芽細胞及び粘膜下神経細胞）は、GLP-2 刺激に応じて増殖するのではなく、いくつかの成長因子を局所的に放出することによって粘膜増殖を誘導することが知られており、内因性 GLP-2 又はテデュグルチド刺激に腫瘍細胞が直接反応するとは考えにくい（Dubé et al, 2008, Orskov et al, 2005）。GLP-2 は、*in vitro* においてヒト結腸癌細胞株の増殖及び遊走を増加させることが報告されている（Bulut et al, 2004;

Masur et al, 2006）が、この作用はGLP-2受容体（GLP-2R）を介したものとは考え難い。Koehlerら（2008）は、GLP-2R活性化自体は、結腸癌細胞株の増殖を変化させないことを示している。また、GLP-2R形質移入結腸癌細胞において、GLP-2刺激による細胞生存への影響は認められず、GLP-2R形質移入結腸癌細胞を植え込んだ担癌ヌードマウスにおいても、長期GLP-2投与はこの腫瘍の増殖を促進しなかった。さらに、ヒト結腸癌データベースにおいて、GLP-2R発現配列タグは検出されなかったことも報告されている（Koehler et al, 2008）。

非臨床試験成績を総合して考えると、テデュグルチドは内因性GLP-2と同様にプロモーター作用を示すことが示唆される。

テデュグルチドは、50 mg/kg/dayまでの用量で、ラットの生殖能、初期胚発生又は精子パラメータに影響を及ぼさず、ラット及びウサギにおいて奇形の増加又は発生毒性を引き起こさず、ラットにおいて出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。これらの試験における生殖への影響に関するNOAELは最高用量の50 mg/kg/dayであった。

ミニブタを用いた90日間の幼若動物毒性試験においても、成熟マウス、ラット及びサルと同様の薬力学的反応が観察された。小児集団における特定のリスクを示唆する新たな又は幼若動物に特有の毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験で観察された投与部位の変化に加えて、ウサギにおける単回静脈内、静脈周囲及び動脈内投与後、並びにミニブタにおける皮下投与後の局所刺激性を評価した。ウサギでは、静脈内投与後に、投与部位刺激は認められなかったが、静脈周囲及び動脈内投与後には、血腫形成を伴う一過性の明瞭な紅斑が認められ、これは投与手技に関連した所見と考えられた。テデュグルチドは、ミニブタにおいて、濃度依存的かつ投与法依存的に刺激反応を引き起こした。20 mg/mLでは、30及び50 mg/mLに比べて顕著な影響は認められず、4日ごとの投与では連日投与に比べて変化がわずかであった。

テデュグルチドは、マウス（短期曝露）、ラット及びウサギにおいて抗原性を示さなかった。反復投与毒性試験では、マウス4週間試験において低レベルの抗テデュグルチド抗体が散見されたが、本所見は抗原性の徴候とはみなさなかった。しかし、マウスがん原性試験では、13又は26週間投与後、抗テデュグルチド抗体及び中和抗体が認められた。抗体が検出された動物の数及び抗体価自体は、投与群間で同程度であり、弱～中等度の免疫応答が示された。重要な点として、全試験を通して全身曝露量への影響はなく、薬理活性の低下もみられなかった。サルでは、4週間以上のテデュグルチド投与により、一部の動物に抗体産生が認められた。抗体価及び抗体が認められた動物数は、用量増加に伴い増加したが、用量比例性は認められなかった。投与中止により抗体価は低下した。抗テデュグルチド抗体のテデュグルチド生物活性に対する中和作用の可能性についての検討は実施しなかったが、サルにおいて抗テデュグルチド抗体の発現に伴う腸での薬理活性の低下は認められなかった。したがって、マウス及びサルでの抗テデュグルチド抗体の発現は、テデュグルチドの非臨床安全性／毒性試験におけるこれらの動物種の適切性を損なうものではないと判断される。

サル反復投与毒性試験では、血液学的検査値、免疫系臓器の重量及び／又は組織検査所見、血清グロブリンの変化並びに感染症及び腫瘍の発現頻度増加に関して、免疫毒性反応を示す所見は認められなかった。

マウス、ミニブタ、サル及びヒトから得られた赤血球に対し、溶血性は認められなかった。

様々な試験の NOEL/NOAEL、対応する AUC 及び臨床用量におけるヒト AUC に対する曝露量比を表 2.6.6- 24 に要約する。

表 2.6.6- 24 NOEL/NOAEL 及び曝露量比の要約

Species	Study Number	Dosing Duration	NOAEL (mg/kg/day)	AUC_{0-8} (μg•hr/mL)	MOE[a]
Mouse	0470MN12.001	13 Weeks	50	M: 77.1 F: 41.9	M: 328.1 F: 178.3
Mouse	7203-112	26 Weeks	50	M: 84.5 F: 58.4	M: 359.6 F: 248.5
Rat (Sprague-Dawley)	02-2776	14 Days	50	M: 53.4 F: 43.9	M: 227.2 F: 186.8
Rat (Wistar Han)	800869	14 Days	50	M: 52.3 F: 30.5	M: 222.6 F: 129.8
Rat (Sprague-Dawley)	800069	13 Weeks	50	M: 54.2 F: 36.7	M: 230.6 F: 156.2
Monkey	88729	28 Days	2	M: 2.7 F: 2.7	M: 11.5 F: 11.5
Monkey	7203-100	13 Weeks	5	M: 6.3 F: 7.0	M: 26.8 F: 29.8
Monkey	1368-100	52 Weeks	5	M: 9.1 F: 16.3	M: 38.7 F: 69.4
Mouse	8214171	104 Weeks[b]	M: 3.5[c] F: 12.5[c]	M: 10.6[d] F: 28.8[d]	M: 45.1 F: 122.6
Rat (Wistar Han)	800070	104 Weeks[b]	M: 3[c] F: 10[c]	M: 2.3 F: 4.9	M: 9.8 F: 20.9
Rat (Sprague-Dawley)	7203-117	GD 6 to 17	50 (Maternal and Developmental)	F: 51.5	F: 219.1
Rabbit	[redacted]-487001	GD 7 to 20	50 (Maternal and Developmental)	F: 49.3	F: 209.8
Juvenile Minipigs	66585	90 days from LD 7	Not identified	NA	NA[e]

AUC_{0-8} = area under the concentration-time curve from time zero to 8 hours postdose; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve to the last measurable concentration; AUCss = area under the concentration-time curve under steady state; F = female; GD = gestation day; LD = lactation day; M = male; MOE = margin of exposure; NOEL= no observed effect level; NOAEL= no observed adverse effect level.

[a] Human AUC at the clinical dose of 0.05 mg/kg/day is 0.235 μg•hr/mL (Clinical Report NPS-RAS-004, Module 2.7.2.2.2.3.1.1.2). MOEs were calculated based on per dose even if twice daily administration in animals.

[b] TK collection and exposure determined at Week 52

[c] No carcinogenic effect level in 104-week mouse and rat carcinogenicity studies

[d] AUC_{0-t}

[e] Exposure (AUC_{0-8}: 1.476 μg•hr/mL in males, 1.589 μg•hr/mL in females) at the lowest dose of 1 mg/kg/day was 14 (males) and 16 (females)-fold the pediatric (<18 years) clinical exposure (AUCss: 0.102 μg•hr/mL in Japanese pediatric patients) at 0.05 mg/kg (Clinical Report SHIR-CSC-129-Japanese).

テデュグルチドの毒性プロファイルの特徴を包括的に評価した。本剤の安全性が十分に確認され、認められた影響は複数の動物種を通じて一貫していた。総合すると、以上の毒性試験で示された非臨床安全性プロファイルによって、短腸症候群の治療薬として、推奨臨床量 0.05 mg/kg/day でテデュグルチドをヒトに使用できることがサポートされている。

参考文献

Banerjee M, Lowenstine LJ, Munn RJ. Gastric stromal tumors in two rhesus macaques (Macaca mulatta). Vet Pathol 1991; 28(1):30-6. (4.3.2)

Bulut K, Meier JJ, Ansorge N, Felderbauer P, Schmitz F, Hoffmann P et al. Glucagon-like peptide 2 improves intestinal wound healing through induction of epithelial cell migration in vitro-evidence for a TGF-beta-mediated effect. Regul Pept 2004; 121(1-3):137-43. (4.3.10)

Bunton TE, Bacmeister CX. Diverticulosis and colonic leiomyosarcoma in an aged rhesus macaque. Vet Pathol 1989; 26(4):351-2. (4.3.11)

Charles River, Historical Database Report: Generalities. (4.3.19)

Dubé PE, Rowland KJ, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-2 activates beta-catenin signaling in the mouse intestinal crypt: role of insulin-like growth factor-I. Endocrinol 2008; 149(1):291-301. (4.3.32)

Iakoubov R, Lauffer LM, Trivedi S, Kim YI, Brubaker PL. Carcinogenic effects of exogenous and endogenous glucagon-like peptide-2 in azoxymethane-treated mice. Endocrinol 2009; 150(9):4033-43. (4.3.39)

Koehler JA, Harper W, Barnard M, Yusta B, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-2 does not modify the growth or survival of murine or human intestinal tumor cells. Cancer Res 2008; 68(19):7897-904. (4.3.41)

Kumazawa T, Kato T, Hayasaka I. Development and disappearance of wavy ribs caused by azosemide in the mouse fetus. Cong Anom 1997; 34:241-9. (4.3.42)

Masur K, Schwartz F, Entschladen F, Niggemann B, Zaenker KS. DPPIV inhibitors extend GLP-2 mediated tumour promoting effects on intestinal cancer cells. Regul Pept 2006; 137(3):147-55. (4.3.48)

Orskov C, Hartmann B, Poulsen SS, Thulesen J, Hare KJ, Holst JJ. GLP-2 stimulates colonic growth via KGF, released by subepithelial myofibroblasts with GLP-2 receptors. Reg Pept 2005; 124:105-12. (4.3.52)

Thulesen J, Hartmann B, Hare KJ, Kissow H, Ørskov C, Holst JJ et al. Glucagon-like peptide 2 (GLP-2) accelerates the growth of colonic neoplasms in mice. Gut 2004; 53(8):1145-50. (4.3.60)

Trivedi S, Wiber SC, El-Zimaity HM, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-2 increases dysplasia in rodent models of colon cancer. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2012; 302(8):G840-9. (4.3.61)

目次

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 8
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表 10
2.6.7.4 毒性試験： 使用したロット 12
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 24
2.6.7.7.A マウス 26 週間反復投与毒性試験 24
2.6.7.7.B サル 1 年間反復投与毒性試験 33
2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro* 48
2.6.7.8.A 細菌を用いる復帰突然変異試験 48
2.6.7.8.B 染色体異常試験 50
2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo* 52
2.6.7.9.A マウス骨髄小核試験 52
2.6.7.10 がん原性試験 54
2.6.7.10.A マウス 104 週間がん原性試験 54
2.6.7.10.B ラット 104 週間がん原性試験 62
2.6.7.11 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験 68
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験 69
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 73
2.6.7.13.A ラット胚・胎児発生に関する試験 73
2.6.7.13.B ウサギ胚・胎児発生に関する試験 76
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 79
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 85
2.6.7.15.A 幼若ウサギ予備試験 85
2.6.7.15.B 幼若ウサギ慢性毒性試験 85

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験 86

2.6.7.15.D　幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験 92

2.6.7.16　局所刺激性試験 99

2.6.7.17　その他の毒性試験 102

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	Single dose	0, 200	Yes	[redacted], Canada	88614	4.2.3.1.1
Repeat-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	14 days	0, 10, 20	Yes	[redacted], Canada	88617	4.2.3.2.1
	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	28 days	0, 0.2, 0.6, 2	Yes	[redacted], Canada	88730	4.2.3.2.2
	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	90 days	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted] USA	0470MN12.001	4.2.3.2.3
	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	26 weeks	0, 2, 10, 25/50[b]	Yes	[redacted] USA	7203-112	4.2.3.2.4
	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	14 days	0, 10, 25, 50	Yes	[redacted], USA	02-2776	4.2.3.2.5
	Rat/Wistar Han, Fischer-344, Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	14 days	0, 10, 25, 50	Yes	[redacted], Canada	800869	4.2.3.2.6
	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	13 weeks	0, 10, 25, 50	Yes	[redacted], Canada	800069	4.2.3.2.7

2.6.7.1 毒性試験：　一覧表（続き）

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Repeat-Dose Toxicity (continued)	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous (twice daily)	3 days	50	Yes	[redacted], Canada	88616	4.2.3.2.8
	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous (twice daily)	14 days	0, 10, 20	Yes	[redacted], Canada	88619	4.2.3.2.9
	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous (twice daily)	28 days	0, 0.2, 0.6, 2	Yes	[redacted], Canada	88729	4.2.3.2.10
	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous (twice daily)	13 weeks	0, 1, 5, 25	Yes	[redacted], USA	7203-100	4.2.3.2.11
	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous (twice daily)	12 months	0, 1, 5, 25	Yes	[redacted], USA	1368-100	4.2.3.2.12
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium*; *Escherichia coli*	*In vitro*	Not applicable	0, 100, 333, 1000, 3333, 5000 µg/plate	Yes	[redacted], USA	88665	4.2.3.3.1.1
	Chinese hamster ovary cells	*In vitro*	Not applicable	250 – 3000 µg/mL	Yes	[redacted], USA	88666	4.2.3.3.1.2
	Mouse/CD-1	Subcutaneous (twice daily)	1 day	0, 177, 400, 800	Yes	[redacted], USA	AA65WK.123. BTL	4.2.3.3.2.1

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Carcinogenicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous (once daily)	104 weeks	0, 1, 3.5, 12.5	Yes	[redacted], USA	8214171	4.2.3.4.1.1
	Rat/Wistar Han	Subcutaneous (twice daily)	up to 104 weeks	0, 3, 10, 35	Yes	[redacted], Canada	800070	4.2.3.4.1.2
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	See footnotes [c] and [d]	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted], Canada	98357	4.2.3.5.1.1
	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	GD6-GD17	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted], USA	7203-117	4.2.3.5.2.1
	Rabbit/New Zealand White	Subcutaneous (twice daily)	GD7-GD20	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted], USA	[redacted]-487001	4.2.3.5.2.2
	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous (twice daily)	GD7-LD20	0, 10, 25, 50	Yes	[redacted], USA	[redacted]00008	4.2.3.5.3.1

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Juvenile Studies	Rabbit/New Zealand White	Subcutaneous (twice daily)	Postnatal days 5 to 18	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted], USA	7203-109	4.2.3.5.4.1
	Rabbit/New Zealand White	Subcutaneous (twice daily)	Postnatal days 5 to 16	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted], USA	7203-110	4.2.3.5.4.2
	Minipig/ Gottingen	Subcutaneous (twice daily)	14 days	0, 5, 25	Yes	[redacted], Denmark	51153	4.2.3.5.4.3
	Minipig/ Gottingen	Subcutaneous (twice daily)	90 days	0, 1, 5, 25	Yes	[redacted], Denmark	66585	4.2.3.5.4.4
Local Tolerance	Rabbit/New Zealand White	Intravenous, perivenous, intraarterial injection	Single dose	25, 0.84, 25	Yes	[redacted], USA	7203-101	4.2.3.6.1
	Minipig/ Gottingen[e]	Subcutaneous	13 days	0, 20, 30, 50 mg/mL	Yes	[redacted], USA	6852-175	4.2.3.6.2

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Other Toxicity Studies								
Antigenicity	Mouse/BALB/cByJ	Intradermal	3 weeks	3 x 0.1 or 1	Yes	[redacted], USA	0711XA27.001	4.2.3.7.1.1
	Rabbit/New Zealand White	Subcutaneous or Intramuscular	6 weeks	3 x 0.25 mg	Yes	[redacted], Canada	47063	4.2.3.7.1.2
Other	Mouse, minipig, monkey, human whole blood, serum and plasma	*In vitro*	Not applicable	0, 0.2, 2, 20 mg/mL	Yes	[redacted], USA	7203-102	4.2.3.7.7.1
	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous	Single dose[f]	0, 10 (3 batches)	No	[redacted], UK	519157	4.2.3.7.7.2

[a] Unless otherwise specified.
[b.] Dose level of high dose group increased from 25 mg/kg/day to 50 mg/kg/day after two weeks of dosing
[c] Male: 28 days prior to mating, during mating, and until necropsy (between 63 and 66 dosing occasions)
[d] Female: 14 days prior to mating, during mating, and up to Day 7 of gestation
[e] The purpose of this study was to evaluate the local skin toxicity of teduglutide when administered via subcutaneous injection to minipigs at different concentrations either daily or every fourth day (four doses) for 13 days.
[f] Each animal was treated with each batch one time in a Latin Square crossover design with a 7-day washout between doses.
For Repeat-Dose Toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) is underlined.

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: Teduglutide

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)[a]	GLP Compliance	Study Number	Location
Repeat-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection	0, 10, 20	Yes	88617	4.2.3.2.1
Repeat-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection	0, 0.2, 0.6, 2	Yes	88730	4.2.3.2.2
Repeat-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection	0, 2, 10, 50	Yes	0470MN12.001	4.2.3.2.3
Repeat-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection	0, 2, 10, 25/50	Yes	7203-112	4.2.3.2.4
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection	0, 10, 25, 50	Yes	02-2776	4.2.3.2.5
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar Han, Fischer-344, Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection	0, 10, 25, 50	Yes	800869	4.2.3.2.6
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection	0, 10, 25, 50	Yes	800069	4.2.3.2.7
Carcinogenicity	Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection	0, 1, 3.5, 12.5	Yes	8214171	4.2.3.4.1.1
	Rat/Wistar Han	Subcutaneous Injection	0, 3, 10, 35	Yes	800070	4.2.3.4.1.2

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（続き）

Test Article: Teduglutide

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)[a]	GLP Compliance	Study Number	Location
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection	0, 2, 10, 50	Yes	7203-117	4.2.3.5.2.1
Reproductive and Developmental Toxicity	Rabbit/White New Zealand	Subcutaneous Injection	0, 2, 10, 50	Yes	[redacted]-487001	4.2.3.5.2.2
Juvenile Toxicity	Minipig/ Gottingen	Subcutaneous Injection	0, 5, 25	Yes	51153	4.2.3.5.4.3
Juvenile Toxicity	Minipig/ Gottingen	Subcutaneous Injection	0, 1, 5, 25	Yes	66585	4.2.3.5.4.4
Repeat-Dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection	0, 10, 20	Yes	88619	4.2.3.2.9
Repeat-Dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection	0, 0.2, 0.6, 2.0	Yes	88729	4.2.3.2.10
Repeat-Dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection	0, 1, 5, 25	Yes	7203-100	4.2.3.2.11
Repeat-Dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection	0, 1, 5, 25	Yes	1368-100	4.2.3.2.12

[a] Total daily dose administered as two injections per day (bid), approximately 8 hours apart except for mice carcinogenicity study, in which test substance was administered once daily.

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表

Test Article: Teduglutide

Daily Dose (mg/kg)	Steady State AUC_{0-8} (μg*hr/mL)*									
	Mice		Rats		Rabbits	Minipigs		Monkeys		Humans
	M	F	M	F	F	M	F	M	F	
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.235
0.2	0.1 (28 D)	0.1 (28 D)	-	-	-	-	-	0.3 (28 D)	0.3 (28D)	-
0.6	0.5 (28 D)	0.4 (28 D)	-	-	-	-	-	0.8 (28 D)	0.8 (28 D)	-
1	3.11 (52 W)	6.44 (52 W)	-	-	-	1.5 (91 D)	1.6 (91 D)	2.0 (90 D) 1.5 (52 W)	1.9 (90 D) 1.8 (52 W)	-
2	1.9 (28 D) 3.8 (90 D) 5.1 (26 W)	1.5 (28 D) 3.3 (90 D) 5.2 (26 W)	-	1.6 (GD 17)[S]	2.4 (GD 20)	-	-	2.7 (28 D)	2.7 (28 D)	-
3	-	-	2.3 (52 W)[H]	2.2 (52 W)[H]	-	-	-	-	-	-
3.5	12.4 (52 W)	7.37 (52 W)	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	8.0 (14 D) 2.6 (91 D)	6.0 (14 D) 3.8 (91 D)	6.3 (90 D) 9.1 (52 W)	7.0 (90 D) 16.3 (52 W)	-
10	5.1 (14 D) 18.5 (90 D) 22.4 (26 W)	11.8 (90 D) 14.6 (26 W)	8.2 (14 D)[S] 6.9 (14 D)[H] 8.8 (14 D)[F] 7.9 (13 W)[S] 7.5 (52 W)[H]	6.0 (14 D)[S] 4.8 (14 D)[H] 5.3 (14 D)[F] 5.4 (13 W)[S] 4.9 (52 W)[H] 5.5 (GD 17)[S]	8.5 (GD 20)	-	-	3.8 (14 D)	-	-

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表（続き）

Test Article: Teduglutide

Daily Dose (mg/kg)	Steady State AUC_{0-8} (μg*hr/mL)*									
	Mice		Rats		Rabbits	Minipigs		Monkeys		Humans
	M	F	M	F	F	M	F	M	F	
12.5	44.0 (52 W)	29.3 (52 W)	-	-	-	-	-	-	-	-
20	9.3 (14 D)	-	-	-	-	-	-	10.5 (14 D)	-	-
25	-	-	23.8 (14 D)[S] 20.1 (14 D)[H] 23.6 (14 D)[F] 24.4 (13 W)[S]	20.2 (14 D)[S] 14.5 (14 D)[H] 14.7 (14 D)[F] 32.2 (13 W)[S]	-	28.2 (14 D) 15.1 (91 D)	33.2 (14 D) 28.4 (91 D)	20.7 (90 D) 64.6 (52 W)	26.9 (90 D) 65.9 (52 W)	-
35	-	-	36.5 (52W)[H]	22.9 (52W)[H]	-	-	-	-	-	-
50	77.1 (90 D) 84.5 (26 W)	41.9 (90 D) 58.4 (26 W)	53.4 (14 D)[S] 53.7 (14 D)[S] 52.3 (14 D)[H] 49.8 (14 D)[F] 54.2 (13 W)[S]	43.9 (14 D)[S] 33.6 (14 D)[S] 30.5 (14 D)[H] 35.4 (14 D)[F] 51.5 (GD 17)[S] 36.7 (13 W)[S]	49.3 (GD20)	-	-	-	-	-

***AUC_{0-8}** = Area-under-the-curve from time 0 to 8 hours for all studies except the following: 14-day mouse (88617) ($AUC_{0-1.5}$), 28-day mouse (88730) ($AUC_{15-tlast}$), 14-day minipig (51153) ($AUC_{0.25-8}$), 14-day monkey (88619) ($AUC_{0-1.5}$), 104-week mouse (8214171) (AUC_{0-24}) and human (NPS-RAS-004) (AUC_{0-24}).
M = Male
F = Female
D = Days
W = Weeks
GD = Gestation Day
[S] = Sprague-Dawley
[H] = Wistar Han
[F] = Fischer-344

2.6.7.4　　毒性試験：　　使用したロット

Test Article: Teduglutide

			Specified Impurities (Drug Product)			
Drug Product Batch No.	**Drug Substance Batch No.**	**Drug Product Purity %**	類縁物質D*	類縁物質C*	**Study Number**	**Type of Study**
PROPOSED SPECIFICATION:		[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88614	Single-Dose Toxicity in Mice
					88616	3-Day Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88617	14-Day Repeat-Dose Toxicity in Mice
					88619	14-Day Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88619	14-Day Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88665	Bacterial Reverse Mutation Assay
					88666	In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88666	In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	88666	In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-100	13-Week Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-109	Preliminary Toxicity in Juvenile Rabbits
					7203-101	Local Tolerance in Rabbits
					7203-102	Hemolytic Potential and Blood Compatibility
					0470MN12.001	90-Day Repeat-Dose Toxicity in Mice
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	02-2776	14-Day Repeat-Dose Toxicity in Rats
					1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-110	Toxicity in Juvenile Rabbits
					AA65WK.123. BTL	Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4　毒性試験：　使用したロット（続き）

			Specified Impurities (Drug Product)			
Drug Product Batch No.	**Drug Substance Batch No.**	**Drug Product Purity %**	類縁物質D*	類縁物質C*	**Study Number**	**Type of Study**
PROPOSED SPECIFICATION:		[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-112	26-Week Repeat-Dose Toxicity in Mice
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-112	26-Week Repeat-Dose Toxicity in Mice
					800069	13-Week Repeat-Dose Toxicity in Rats
					800070	Carcinogenicity in Rats
					51153	Preliminary Toxicity in Juvenile Minipigs
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					7203-117	Embryo-Fetal Development in Rats
					800069	13-Week Repeat-Dose Toxicity in Rats
					800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	1368-100	1-Year Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					51153	Preliminary Toxicity in Juvenile Minipigs
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	47063	Immunogenicity in Rabbits
					88729	28-Day Repeat-Dose Toxicity in Monkeys
					88730	28-Day Repeat-Dose Toxicity in Mice
					0711XA27.001	Delayed-Type Hypersensitivity in Mice

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4　毒性試験：　使用したロット（続き）

			Specified Impurities (Drug Product)			
Drug Product Batch No.	**Drug Substance Batch No.**	**Drug Product Purity %**	類縁物質D*	類縁物質C*	**Study Number**	**Type of Study**
PROPOSED SPECIFICATION:		[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	98357	Fertility and Early Embryonic Development in Rats
					800070	Carcinogenicity in Rats
					[redacted]-487001	Embryo-Fetal Development in Rabbits
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
					800869	Comparative Repeat-Dose Toxicity in Wistar Han, Fischer-344 and Sprague Dawley Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800070	Carcinogenicity in Rats

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4　　毒性試験：　　使用したロット（続き）

			Specified Impurities (Drug Product)			
Drug Product Batch No.	**Drug Substance Batch No.**	**Drug Product Purity %**	類縁物質D*	類縁物質C*	**Study Number**	**Type of Study**
PROPOSED SPECIFICATION:						
					6852-175	Local Tolerance in Minipigs
					800070	Carcinogenicity in Rats
					00008	Perinatal/Postnatal Development in Rats
					6852-175	Local Tolerance in Minipigs
					66585	Toxicity in Juvenile Minipigs
					519157	Mechanistic Toxicity in Cynomolgus Monkeys
					8214171	Carcinogenicity in Mice

=
 = , =

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg/day)[a]	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)[a]	Approximate Lethal Dose (mg/kg)[a]	Noteworthy Findings	Study Number / Location
Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	0, 200	5M, 5F	200	> 200	None	88614 4.2.3.1.1

M = male; F = female
[a] Total daily dose administered as two injections per day (bid)

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	14 days	0, 10, 20	10M	20	**Controls and teduglutide groups:** no deaths. **Both teduglutide groups:** no clinical signs, no effects on food consumption or ophthalmoscopy, and no clear effects on hematology and biochemistry related to teduglutide, increased intestinal weight and length, fibrosis (SC) at site of injection. **20 mg/kg/day:** increased BW, GI mucosal hyperplasia typified by increased villus height. Two of 10 animals demonstrated focal renal cortical tubular dilatation with evidence of epithelial hyperplasia.	88617 4.2.3.2.1

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	28 days	0, 0.2, 0.6, 2	21M, 21F (15/sex for main study groups, 6/sex for recovery groups)	2	**Controls:** Partially reversible Injection site inflammation (3/15 M; 6/15 F) **≥ 0.2 mg/kg/day:** *Partially reversible increase in small and large intestinal weight and increase in intestinal length*; partially reversible Injection site inflammation (0.2mg/kg/day: 4/15 M; 13/15 F); *partially reversible intestinal mucosal hyperplasia*; reversible gallbladder epithelial hypertrophy and decreased cytoplasmic vacuolation **0.6 mg/kg/day:** Partially reversible Injection site inflammation (12/15 M; 13/15 F) **2.0 mg/kg/day:** Partially reversible Injection site inflammation (14/15 M; 15/15 F); low antibody titers (5/21 F)	88730 4.2.3.2.2

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Mouse/CD-1	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Solution with Mannitol and Histidine)	90 days	0, 2, 10, 50	20M, 20F (15/sex for main study groups, 5/sex for recovery groups)	50	**Controls**: Partially reversible Injection site inflammation [chronic active, subcutis] (2 to 6/16 M; 10 to 14/15 F) **≥ 2 mg/kg/day:** *Partially reversible increase in small and large intestinal weight and non-reversible increase in length; partially reversible small intestinal villus hypertrophy and hyperplasia; reversible increase in villus height*; partially reversible gall bladder epithelium hyperplasia and hypertrophy **10 mg/kg/day:** None **50 mg/kg/day:** Partially reversible Injection site inflammation [chronic active, subcutis] (10 to 12/14 M; 14 to 15/15 F)	0470MN12.001 4.2.3.2.3
Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Solution with Mannitol and L-histidine)	14 days	0, 10, 25, 50	10M, 10F	50	**≥ 10 mg/kg/day:** *Increase in small and large intestinal weights; intestinal epithelial hypertrophy/hyperplasia*	02-2776 4.2.3.2.5
Rat/Wistar Han, Fischer-344, Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Solution with Mannitol and L-histidine)	14 days	0, 10, 25, 50[c]	10M, 10F	50	**≥ 10 mg/kg/day:** *Increase in small and large intestinal weight and increase in length primarily of small intestines; intestinal hyperplasia*; effects most pronounced in Wistar strains	800869 4.2.3.2.6

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Rat/Sprague-Dawley	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Solution with Mannitol and L-histidine)	13 weeks	0, 10, 25, 50	15M, 15F	50	**≥ 10 mg/kg/day:** *Increase in small and large intestinal weight and length; hyperplasia of intestinal mucosal epithelium*; Slight increase in liver and spleen weight **≥ 25 mg/kg/day:** Increase in the incidence and severity of injection site subacute and/or granulomatous inflammation **50 mg/kg/day:** Increase in percentage and absolute neutrophils and decrease in percentage lymphocytes (F)	800069 4.2.3.2.7
Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	3 days	50	1M, 1F	Not assigned	**50 mg/kg/day:** *Slight mucosal hyperplasia of duodenum and jejunum*	88616 4.2.3.2.8

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	14 days	0, 10, 20	3M	10	**≥ 10 mg/kg/day:** *Increase in intestinal weight and length; intestinal mucosal hyperplasia*; stomach hyperplasia, hepatic biliary hyperplasia; hyperplasia of large intrapancreatic ducts (1 animal/group) **10 mg/kg/day:** Thickening at Injection site; mild to moderate granulomatous cellulitis with SC necrosis at Injection site; mild SC fibrosis at Injection site **20 mg/kg/day:** Thickening and adhesion of underlying skeletal muscle to thickened subcutaneous tissue at Injection site; increase in stomach weight; moderate to severe granulomatous cellulitis with SC necrosis at Injection site; moderate to severe SC fibrosis at Injection site	88619 4.2.3.2.9

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Saline)	28 days	0, 0.2, 0.6, 2.0	5M, 5F (3/sex for main study and 2/sex for recovery period)	2.0	**Controls:** Reversible dark area in SC tissue at Injection site **≥0.2 mg/kg/day:** Partially reversible dark area in SC tissue at Injection site; *reversible increase in small intestine weight (all doses in M and 0.6 and 2.0 mg/kg only in F) and large intestinal weight (F only at 0.6 and 2.0 mg/kg/day); reversible trend toward increase in small intestinal length; reversible trend toward increase in large intestinal length; reversible mucosal hyperplasia in small intestines;* reversible hyperplasia in stomach; partially reversible hyperplasia in hepatic biliary ducts (observed 1M in 0.6 mg/kg/day of recovery animals); partially reversible hyperplasia in pancreatic ducts (observed 1F in 0.6 mg/kg/day and 1M in 2 mg/kg/day of recovery animals); *reversible increase in villus length and crypt depth in small intestines; reversible increase in mucosal height in cecum, colon, and rectum* **0.6 mg/kg/day:** Reversible low antibody titers (1M, 1F); Reversible hyperplasia of duodenal papilla (1F); Partially reversible granulomatous cellulitis at Injection site with mixed cell infiltration; *reversible increase in stomach weight* **2 mg/kg/day:** *Reversible increase in stomach weight;* Reversible hyperplasia of duodenal papilla (2F); partially reversible granulomatous cellulitis at injection site with mixed cell infiltration; partially reversible low to moderate antibody titers (2M, 1F); reversible increase in liver weight; hyperplasia of gallbladder (1F)	88729 4.2.3.2.10

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL[b] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ Location
Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection (Phosphate Buffered Solution with Mannitol and L-histidine)	13 weeks	0, 1, 5, 25	6M, 6F (4/sex for main study and 2/sex for recovery period)	5	**≥1 mg/kg/day:** Partially reversible increase in triglycerides; reversible increase in ALT; reversible injection site thickening; reversible increase in liver, stomach, and *intestinal weights*; granulomatous inflammation at Injection site; *reversible hypertrophy/hyperplasia in small and large intestine*, bile ducts, stomach, pancreatic duct, gallbladder; *partially reversible increase in length of jejunum* **5 mg/kg/day:** Low antibody titer (1M) **25 mg/kg/day:** Injection site thickening; reversible increase in circulating leukocytes, neutrophils, eosinophils; partially reversible low to moderate antibodies	7203-100 4.2.3.2.11

ALT = alanine aminotransferase, M = Male, F = Female, SC = Subcutaneous injection, ND = not determined
Pharmacological effects indicated in italics.

[a] Total daily dose administered as two injections per day (bid) approximately 8 hours apart

[b] No Observed Adverse Effect Level.

[c] Sprague-Dawley rats only received 50 mg/kg/day.

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.A マウス 26 週間反復投与毒性試験

Report Title: 26-Week Subcutaneous Injection Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study with ALX-0600 in Mice with an 8-Week Recovery Period

Test Article: Teduglutide

Species/Strain:	Mouse/CD-1	**Duration of Dosing:**	26 weeks	**Study No.:**	7203-112
Initial Age:	41 to 48 days old	**Duration of Postdose:**	8 weeks	**Location in CTD**	4.2.3.2.4
Date of First Dose:	Males: [redacted] 20[redacted] Females: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection (twice daily, approximately 8 hours apart)		
GLP Compliance:	Yes	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine and lyophilized drug substance		

Special Features: Dose level of high dose group was increased from 25 mg/kg/day to 50 mg/kg/day after two weeks of dosing

No Observed Adverse Effect Level: 25/50 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**10 (Mid)**		**25/50 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Toxicokinetics:								
Number of TK animals	0	0	39	39	39	39	39	39
$AUC_{0\text{-}8}$ (µg·hr/mL) Week 26 (n = 3/sex/point)	NC	NC	5.1	5.2	22.4	14.6	84.5	58.4
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	1[a]	0	0	0	0 [1[b]]	0 [1[b]]	0 [1[b]]
Body Weight (g) [c] Week 27	45.5	34.1	+4.8	+12.9*	+7.7	+11.7*	+3.5	+10.6*
Food Consumption (g) [d] Week 25	45.9	39.8	+1.1	+8.8*	+0.0	+14.1*	-1.5	+1.0

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**10 (Mid)**		**25/50 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Hematology[e] Week 27								
Mean Corpuscular Volume (μm^3)	51.7	50.8	+1.7	+5.7*	+3.3	+3.5	-1.2	+8.1*
Leukocytes (WBC) (10^3/UL)	4.52	4.02	+43.8*	+49.5	+63.9*	+60.7	+42.5*	+63.7
Segmented Neutrophils (10^3/UL)	0.90	0.57	+14.4	+64.9	-3.3	+59.6	+6.7	+87.7
Lymphocytes (10^3/UL)	3.40	3.25	+48.5	+39.1	+78.8	+59.1	+51.2	+57.2
Eosinophils (10^3/UL)	0.08	0.08	+162.5*	+412.5*	+200*	+187.5*	+125*	+150*
Organ Weights [e]								
Liver Gallbladder (g)	2.56	1.82	+14.02*	+15.82*	+18.49*	+24.06*	+4.13	+23.46*
Liver Gallbladder to Body Weight Ratio (%)	5.67	5.23	+10.80*	+7.72	+11.27*	+11.40*	+4.66	+13.25*
Liver Gallbladder to Brain Weight Ratio (%)	4.66	3.35	+13.52*	+13.43*	+16.97*	+21.44*	+3.72	+22.53*
Large Intestine	0.54	0.49	+32.35*	+27.65*	+43.15*	+29.27*	+46.96*	+37.78*
Large Intestine to Body Weight Ratio (%)	1.19	1.41	+29.84*	+19.08	+35.17*	+17.41	+48.63*	+27.26*
Large Intestine to Brain Weight Ratio (%)	0.98	0.91	+31.41*	+25.30*	+41.41*	+26.85*	+46.45*	+37.46*
Large Intestine Length (m)	0.09	0.10	+3.63	+12.20	+20.68	+5.57	+16.61	+21.14*
Small Intestine	3.06	2.50	+108.79*	+122.40*	+101.81*	+124.44*	+70.68*	+112.97*
Small Intestine to Body Weight Ratio (%)	6.74	7.18	+104.54*	+107.29*	+90.18*	+101.50*	+73.27*	+94.93*

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Organ Weights (continued) [e]								
Small Intestine to Brain Weight Ratio (%)	5.52	4.61	+108.40*	+118.34*	+100.91*	+119.77*	+70.30*	+111.21*
Small Intestine Length (m)	0.52	0.53	+17.31*	+30.82*	+25.49*	+29.32*	+14.73*	+27.58*
Spleen (g)	0.11	0.13	+19.93*	+28.17*	+29.24*	+27.87*	+66.20	+7.48
Spleen to Body Weight Ratio (%)	0.25	0.38	+16.47*	+19.94*	+20.73*	+14.51	+67.01*	-1.26
Spleen to Brain Weight Ratio (%)	0.21	0.24	+19.05	+26.12*	+27.81	+25.66*	+57.58	+7.34
Histopathology [f]								
Duodenum Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Hypertrophy/Hyperplasia, Villus	1	0	7	11	11	12	9	15
Jejunum Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Hypertrophy/Hyperplasia, Villus	0	0	7	9	11	11	5	11
Ileum Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Hypertrophy/Hyperplasia, Villus	0	0	2	3	5	3	6	2
Cecum Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Hypertrophy/Hyperplasia, epithelial	0	0	1	6	7	3	8	8
Colon Number Examined	15	14	15	15	14	15	15	15
Hypertrophy/Hyperplasia, epithelial	0	0	1	1	1	0	8	2
Liver Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Inflammation, biliary, subacute	0	0	0	0	0	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary	0	0	0	0	0	3	1	0
Hypertrophy, hepatocellular	1	0	3	2	5	6	3	2

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.:7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Histopathology (continued) [f]								
Gallbladder Number Examined	14	14	15	15	15	15	14	15
Hypertrophy/hyperplasia, epithelial	0	0	5	15	9	15	12	14
Cytoplasmic secretory product, increased	0	0	0	0	1	0	0	3
Inflammation, subacute	0	0	1	6	5	7	3	4
Edema, submucosa	0	0	3	2	0	2	2	2
Exudate, suppurative, lumenal	0	0	0	0	3	0	0	0
Hypertrophy/hyperplasia, bile duct [g]	0	0	0	0	0	0	0	1
Cyst	0	0	0	0	0	1	0	1
Pancreas Number Examined	15	14	0	1	2	0	15	15
Hypertrophy/hyperplasia, ductular	0	0	0	1	0	0	0	1
Inflammation, chronic, periductular	0	0	0	0	2	0	0	0
Inflammation, subacute, periductular	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone marrow, Sternum	15	14	15	15	15	15	15	15
Hyperplasia, myeloid	0	0	6	4	5	2	6	0
Spleen Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Hematopoiesis, extramedullary	3	8	12	9	8	11	11	6
Hyperplasia, lymphocytic	10	4	13	8	14	8	10	9

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Histopathology (continued) [f]								
Injection Site A Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Intralesional eosinophilic material	0	0	2	1	0	2	5	8
Inflammation, subacute	2	11	14	15	14	15	15	15
Inflammation, chronic	8	12	15	15	15	15	14	15
Lytic necrosis, subcutis	0	0	0	1	0	0	3	0
Injection Site B Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Intralesional eosinophilic material	0	0	1	0	2	1	2	4
Inflammation, subacute	7	12	13	15	15	15	15	15
Inflammation, chronic	13	14	15	15	15	15	14	15
Lytic necrosis, subcutis	0	0	0	2	0	0	4	3
Injection Site C Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Intralesional eosinophilic material	0	0	2	5	9	6	1	11
Inflammation, subacute	4	11	13	15	15	15	15	15
Inflammation, chronic	14	12	15	15	15	15	13	15
Lytic necrosis, subcutis	0	0	0	0	2	1	1	2
Injection Site D Number Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Intralesional eosinophilic material	0	0	1	0	4	7	6	8
Inflammation, subacute	5	10	13	15	15	15	15	15
Inflammation, chronic	10	14	15	15	15	15	15	15
Lytic necrosis, subcutis	0	0	0	0	0	0	6	3

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Postdose Evaluation:									
Number Evaluated		10	10	0	0	0	0	10	10
Noteworthy Findings									
Body Weight (g) [c]	Week 30	47.0	36.8	ND	ND	ND	ND	+4.9	+0.0
	Week 35	47.8	36.2	ND	ND	ND	ND	+3.6	+2.5
Food Consumption (g) [d]									
	Week 33	44.0	40.5	ND	ND	ND	ND	+1.6	+5.4
Organ Weights [e]									
Kidney (g)		0.85	0.49	ND	ND	ND	ND	+1.45	+3.01
Kidney to Body Weight Ratio (%)		1.79	1.40	ND	ND	ND	ND	-1.60	-1.27
Kidney to Brain Weight Ratio (%)		1.52	0.87	ND	ND	ND	ND	+1.47	+6.14
Liver Gallbladder (g)		2.52	1.79	ND	ND	ND	ND	+6.56	+7.96
Liver Gallbladder to Body Weight Ratio (%)		5.29	5.08	ND	ND	ND	ND	+2.75	+3.63
Liver Gallbladder to Brain Weight Ratio (%)		4.50	3.15	ND	ND	ND	ND	+6.26	+11.63
Large Intestine		0.51	0.44	ND	ND	ND	ND	+6.28	-1.13
Large Intestine to Body Weight Ratio (%)		1.08	1.26	ND	ND	ND	ND	+1.83	-5.13
Large Intestine to Brain Weight Ratio (%)		0.91	0.78	ND	ND	ND	ND	+6.29	+1.78

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Organ Weights (continued) [e]								
Large Intestine Length (m)	0.09	0.08	ND	ND	ND	ND	+12.81	-4.82
Small Intestine	2.98	2.65	ND	ND	ND	ND	+18.20	+18.48*
Small Intestine to Body Weight Ratio (%)	6.26	7.54	ND	ND	ND	ND	+14.18	+13.79*
Small Intestine to Brain Weight Ratio (%)	5.32	4.66	ND	ND	ND	ND	+17.86	+22.75*
Small Intestine Length (m)	0.48	0.53	ND	ND	ND	ND	+17.90*	+4.26
Histopathology [f]								
Duodenum Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Hypertrophy/Hyperplasia, villus	0	0	ND	ND	ND	ND	2	3
Ileum Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Hypertrophy/Hyperplasia, villus	0	0	ND	ND	ND	ND	0	1
Liver Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Hypertrophy, hepatocellular	1	0	ND	ND	ND	ND	3	1
Gallbladder Number Examined	9	10	0	0	0	0	10	10
Hypertrophy/hyperplasia	0	2	ND	ND	ND	ND	0	1
Inflammation, subacute	0	1	ND	ND	ND	ND	0	0
Hypertrophy/hyperplasia, bile duct [h]	0	0	ND	ND	ND	ND	1	0
Cyst	0	0	ND	ND	ND	ND	1	1

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Histopathology (continued) [f]								
Bone Marrow, Sternum Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Hyperplasia, myeloid	2	0	ND	ND	ND	ND	1	0
Spleen Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Hematopoiesis, extramedullary	4	2	ND	ND	ND	ND	4	6
Injection Site A Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Intralesional eosinophilic material	0	0	ND	ND	ND	ND	4	2
Inflammation, subacute	0	1	ND	ND	ND	ND	2	9
Inflammation, chronic	0	4	ND	ND	ND	ND	5	7
Injection Site B Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Intralesional eosinophilic material	0	0	ND	ND	ND	ND	2	2
Inflammation, subacute	0	2	ND	ND	ND	ND	1	8
Inflammation, chronic	0	5	ND	ND	ND	ND	2	7
Lytic necrosis, subcutis	0	0	ND	ND	ND	ND	0	1
Injection Site C Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Intralesional eosinophilic material	0	0	ND	ND	ND	ND	8	5
Inflammation, subacute	0	2	ND	ND	ND	ND	2	8
Inflammation, chronic	2	5	ND	ND	ND	ND	5	7
Lytic necrosis, subcutis	0	0	ND	ND	ND	ND	0	2

2.6.7.7.A　　マウス 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 7203-112

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2 (Low)		10 (Mid)		25/50 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 21 (10)	F: 21 (10)	M: 21	F: 21	M: 21	F: 21	M: 21 (10)	F: 21 (10)
Histopathology (continued) [f]								
Injection Site D Number Examined	10	10	0	0	0	0	10	10
Intralesional eosinophilic material	0	0	ND	ND	ND	ND	2	6
Inflammation, subacute	1	3	ND	ND	ND	ND	3	7
Inflammation, chronic	3	2	ND	ND	ND	ND	3	6
Lytic necrosis, subcutis	0	0	ND	ND	ND	ND	0	2

M = Male
F= Female
ND = Not Determined (no low- and mid-dose animals included in recovery)
NC = Not Calculated
*= P ≤ 0.05 (P = ANOVA and Dunnett's, if applicable; rank transformation was conducted in cases where variances were heterogeneous as determined by Levene's test for homogeneity)

[a] The control female was necropsied; cause of death was histologically undetermined.
[b] The animals dying on study were designated as toxicokinetic animals and were not necropsied. There is nothing in the data that indicated a cause of death or any relationship of death to test article administration.
[c] Numbers indicate percent differences from the control groups at the end of the dosing period. Means are shown for control groups.
[d] Numbers indicate the total of the group mean food consumption for week 21 through week 25 for the main study and week 29 through week 33 for recovery, and indicate percent differences from the control group.
[e] Values for the control groups are the means and for the treated groups are the percent differences from the controls.
[f] Target test article-related lesions presented.
[g] Includes inflammation and increased secretory product
[h] Includes inflammation

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験

Report Title: A 1-Year Toxicity Study of ALX-0600 Administered by Subcutaneous Injection Twice Daily to Cynomolgus Monkeys, with a 13-Week Recovery Period　　**Test Article: Teduglutide**

Species/Strain:	Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing:**	12 months	**Study No.:**	1368-100
Initial Age:	3.2 to 5.4 years for males, 2.5 to 4.8 years for females	**Duration of Postdose:**	13 weeks	**Location in CTD**	4.2.3.2.12
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection (twice daily, approximately 8 hours apart)		
GLP Compliance:	Yes	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine and lyophilized drug substance		
Special Features:	Interim sacrifice at 6 months, end of dosing sacrifice (1 year), and 13-week recovery				
No Observed Adverse Effect Level:	5 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 (Low)**		**5 (Mid)**		**25 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}8}$ (μg·hr/mL)	Week 26	ND	ND	1.9	2.2	9.0	11.0	51.3	68.9
	Week 52	ND	ND	1.5	1.8	9.1	16.3	64.6	65.9
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	1 [f]	0
Body Weight (%) [a] (kg)	Week 26	4.3	3.2	+2.3	-3.1	+4.7	-3.1	+7.0	-3.1
	Week 52	5.3	3.9	+13.2	-12.8	+11.3	-20.5	-3.8	-15.4
Food Consumption		--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Noteworthy Findings (continued)								
Clinical Observations								
Injection Site Effects [b]	1	1	0	0	1	0	10	7
Distended Abdomen	1	2	4	6	5	6	10	10
Swollen scrotum and/or prepuce (males)	2	NA	6	NA	6	NA	10	NA
Ophthalmoscopy	--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiography	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology								
White blood cells ($10^3/\mu L$)								
Week 26	10.6	12.4	12.1	13.0	14.5	14.1	17.3	13.1
Week 52	10.8	10.3	11.7	12.8	16.5	16.5	14.7	16.5
Hemoglobin Concentration (g/dL)								
Week 26	14.1	13.4	12.5	12.7	13.1	12.4	12.6	12.8
Week 52	14.6	13.8	12.4	12.7	13.5	12.4	13.3	12.3
Hematocrit (%)								
Week 26	44.7	42.8	43.6	41.3	42.4	39.9	40.9	41.5
Week 52	45.4	42.6	43.3	39.7	42.8	39.0	41.8	39.3
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Week 26	79.3	77.9	76.9	76.3	76.9	76.3	75.7	75.8
Week 52	79.1	77.0	75.7	74.7	78.1	73.7	76.7	73.0

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 (Low)**		**5 (Mid)**		**25 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Hematology (continued)									
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)									
Week 26		25.0	24.4	24.3	23.5	23.6	23.6	23.3	23.3
Week 52		25.4	25.0	24.8	23.8	24.6	23.4	24.4	22.9
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (g/dL)									
Week 26		31.6	31.3	31.6	30.8	31.0	31.0	30.8	30.7
Week 52		32.2	32.5	32.7	31.9	31.5	31.8	31.8	31.4
Polysegmented Neutrophils (10^3/μL)									
Week 26		1.71	3.67	2.50	3.44	3.98	4.75	5.25	3.79
Week 52		2.12	1.67	2.63	3.13	5.21	5.57	3.64	6.52
Eosinophils (10^3/μL)									
Week 26		0.26	0.20	0.23	0.46	0.42	0.59	1.19	0.79
Week 52		0.20	0.19	0.16	0.64	0.60	0.77	1.21	0.94
Coagulation		--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry									
Iron (μg/dL)	Week 46	140	137	175	107	125	118	116	91
Iron Saturation (%)	Week 46	39	39	44	30	30	30	34	25
Globulin (g/dL)	Week 26	1.5	1.8	1.7	2.0	1.9	2.0	3.0	2.6
	Week 52	1.6	1.9	1.6	1.8	1.8	2.1	2.9	3.1
Urinalysis		--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.:1368-100

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 (Low)**		**5 (Mid)**		**25 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Antibodies: No. of animals with increased titers compared to Day 1									
	Week 52	NP	NP	NP	NP	NC	NC	3(2)	1(1)
Organ Weights [c]									
No. Examined	Week 27	4	4	2	2	2	2	4	4
Liver (g)		76.04	61.32	+9.97	+25.23	+47.03	+25.97	+51.44	+29.21
Thymus (g)		3.49	2.70	+3.64	-16.42	-23.00	-7.82	-56.40	-38.84
Cecum (g)		6.33	5.77	+53.59	+21.95	+27.14	+50.82	+67.38	+45.07
Colon (g)		46.23	36.30	+15.21	+32.08	+63.26	+38.67	+88.10	+30.81
Small intestine (g)		53.72	42.71	+254.34	+222.86	+324.07	+229.27	+340.11	+289.27
Small intestine length (cm)		180.6	157.4	+31.95	+57.24	+79.29	+34.94	+71.76	+40.66
No. Examined	Week 53	4	4	4	4	4	4	4	4
Liver (g)		82.53	74.59	+30.94	+10.09	+24.08	+7.74	+18.37	+33.20
Cecum (g)		6.41	5.18	+15.73	+35.77	+49.69	+36.76	+49.45	+57.51
Colon (g)		46.27	40.24	+28.56	+31.14	+50.21	+53.98	+55.38	+31.44
Thymus (g)		1.73	3.24	-21.84	-45.35	-36.11	-54.44	-2.25	-73.71
Small intestine (g)		57.40	53.02	+265.27	+229.95	+282.89	+199.80	+208.69	+250.16
Small intestine length (cm)		190.8	169.5	+58.75	+35.04	+38.73	+56.99	+46.65	+53.10
Gross Pathology									
No. Examined	Week 53 [d]	4	4	4	4	4	4	4	4
Increased thickness in one or more segments of GI tract		1	0	4	4	4	4	4	4
White nodule in gallbladder		0	0	1	0	1	0	0	0

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)	M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Necropsy								
Gross Pathology (continued)								
No. Examined Week 53 [d]	4	4	4	4	4	4	4	4
Increased thickness of bile ducts	0	0	0	0	0	0	1	1
Increased injection site thickness	0	0	3	1	4	4	4	4
Increased axillary lymph nodes	0	0	0	0	0	0	4	3
Scrotal/Perineum Edema	0	NA	1	NA	2	NA	1	NA
Decreased size thymus	1	0	2	1	3	1	0	3
Histopathology								
No. Examined Week 27	4	4	2	2	2	2	4	4
Stomach								
Hyperplasia, mucosa (fundus)	0	0	2	2	2	2	4	3
Duodenum								
Hyperplasia, mucosa	0	0	2	2	2	2	4	4
Hyperplasia, muscularis	0	0	1	0	0	0	1	1
Jejunum								
Hyperplasia, mucosa	0	0	2	2	2	2	4	4
Hyperplasia, muscularis	0	0	0	0	0	0	0	1
Ileum								
Hyperplasia, mucosa	0	0	2	2	2	2	4	4
Hyperplasia, muscularis	0	0	0	0	0	0	1	0
Cecum								
Hyperplasia, mucosa	0	0	0	1	1	0	3	1

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 27	4	4	2	2	2	2	4	4
Colon									
Hyperplasia, mucosa		0	0	0	0	0	0	1	0
Rectum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	0	0	0	0	1	1
Pancreas									
Hypertrophy/ hyperplasia, epithelium, ducts		0	0	1	2	2	2	4	3
Lymph node, axillary									
Hyperplasia, lymphoid		2	1	2	0	2	2	1	4
Liver									
Hypertrophy/ hyperplasia, epithelium, bile ducts		0	0	2	2	2	2	4	4
Gallbladder									
Lymphoid follicle formation		0	0	1	0	1	1	1	4
Injection site, least									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	1	0	2	1	2	2	2	2
	Mild	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 27	4	4	2	2	2	2	4	4
Injection site, least (continued)									
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	0	0	1	1	0	0	1
	Mild	0	0	0	0	1	1	2	1
Injection site, intermed.									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	2	0	2	1	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	0	2	2	2	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	1	0	1	0	0	1	0	0
	Mild	0	0	0	0	0	1	4	2
	Moderate	0	0	0	0	1	0	0	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 27	4	4	2	2	2	2	4	4
Injection site, worst									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	1	2	1	0	0	0	0	0
	Mild	0	0	0	1	2	1	2	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	1	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
	Mild	0	0	0	1	2	0	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	2	1	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	2	3
Skin, scrotal									
Edema		0	NA	0	NA	1	NA	3	NA
Soft tissue, perineal									
Edema, interstitial		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 53	4	4	4	4	4	4	4	4
Stomach									
Hyperplasia, mucosa (fundus)		0	0	3	2	1	2	3	4
Duodenum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	4	4	4	4	4	4
Hyperplasia, muscularis		0	0	1	2	1	0	0	1
Jejunum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	4	4	4	4	4	4
Hyperplasia, muscularis		0	0	1	2	2	1	0	1
Ileum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	4	3	4	4	4	3
Hyperplasia, muscularis		0	0	1	2	2	2	0	2
Cecum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	0	0	1	1	0	2
Colon									
Hyperplasia, mucosa		0	0	0	0	1	0	0	1
Rectum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 53	4	4	4	4	4	4	4	4
Pancreas									
Hypertrophy/ hyperplasia, epithelium, ducts		0	0	4	2	3	3	2	4
Lymph node, axillary									
Hyperplasia, lymphoid		2	1	1	1	4	3	4	3
Thymus									
Lymphoid atrophy		4	3	2	3	4	4	4	4
Liver									
Hypertrophy/ hyperplasia, epithelium, bile ducts		0	0	4	3	3	3	3	4
Gallbladder									
Hypertrophy/ hyperplasia, mucosa		0	0	3	3	3	2	0	3
Lymphoid follicle formation		0	0	3	1	3	0	0	0
Injection site, least									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	3	1	1	2	4	0	3	1
	Mild	0	0	1	1	0	4	1	0

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 53	4	4	4	4	4	4	4	4
Injection site, least (continued)									
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	0	0	2	1	0	2	0
	Mild	0	0	1	0	1	2	0	0
Injection site, intermed.									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	1	3	4	2	1	0	2	0
	Mild	0	0	0	2	3	2	2	4
	Moderate	0	0	0	0	0	2	0	0
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	1	1	1	1	0	0	2
	Mild	0	0	0	2	3	4	2	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
	Marked	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 (Low)**		**5 (Mid)**		**25 (High)**	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 53	4	4	4	4	4	4	4	4
Injection site, worst									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	0	2	4	3	1	0	1	1
	Mild	0	0	0	1	3	1	1	2
	Moderate	0	0	0	0	0	3	2	1
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	1	0	2	1	0	0	0
	Mild	0	0	1	1	2	3	1	2
	Moderate	0	0	0	0	1	1	2	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Postdose Evaluation:									
Number Evaluated		2	2	0	0	0	0	2	2
Noteworthy Findings									
Body Weight (%) [a] (kg)	Week 65	5.9	4.1	ND	ND	ND	ND	+5.1	-12.2
Organ Weights [c]	Week 66								
Small intestine (g)		73.20	45.78	ND	ND	ND	ND	+45.46	+33.56

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Gross Pathology									
No. Examined	Week 66	2	2	0	0	0	0	2	2
Increased thickness in one or more segments of GI tract		0	0	ND	ND	ND	ND	2	1
Increased injection site thickness		0	0	ND	ND	ND	ND	2	2
Histopathology									
No. Examined	Week 66	2	2	0	0	0	0	2	2
Stomach									
Hyperplasia, mucosa (pylorus)		0	0	ND	ND	ND	ND	0	2
Duodenum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	ND	ND	ND	ND	1	1
Jejunum									
Hyperplasia, mucosa		0	0	ND	ND	ND	ND	2	1
Hyperplasia, muscularis		0	0	ND	ND	ND	ND	1	0
Ileum									
Hyperplasia, muscularis		0	0	ND	ND	ND	ND	0	1
Colon									
Hyperplasia, muscularis		0	0	ND	ND	ND	ND	0	1

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 66	2	2	0	0	0	0	2	2
Lymph node, axillary									
Hyperplasia, lymphoid		0	1	ND	ND	ND	ND	1	2
Thymus									
Lymphoid atrophy		2	2	ND	ND	ND	ND	2	2
Liver									
Hypertrophy/ hyperplasia, epithelium, bile ducts		0	0	ND	ND	ND	ND	1	1
Gallbladder									
Infiltrate, plasma cells		0	0	ND	ND	ND	ND	2	2
Hypertrophy/ hyperplasia, mucosa		0	0	ND	ND	ND	ND	1	1
Injection site, least									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	0	1
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	0	1

2.6.7.7.B　　サル１年間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 1368-100

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 (Low)		5 (Mid)		25 (High)	
Number of Animals (in Brackets: Recovery Animals)		M: 8 (2)	F: 8 (2)	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 8 (2)	F: 8 (2)
Histopathology (continued)									
No. Examined	Week 66	2	2	0	0	0	0	2	2
Injection site, intermed.									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	1	2
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	1	0	ND	ND	ND	ND	0	0
	Mild	0	0	ND	ND	ND	ND	0	2
Injection site, worst									
Inflammation, mixed cell [e]									
	Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	2	1
Inflammation, eosinophilic/ granulomatous [e]									
	Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	1	0
	Mild	0	0	ND	ND	ND	ND	0	2

-- No noteworthy findings. M = Male; F = Female; ND = Not Determined; NA = Not Applicable; NP = Not Performed; NC = No Change (from Day 1)

[a] At end of dosing or recovery period. For controls, group means are shown. For the treated groups, group mean percent differences from controls are shown.

[b] Thickening/raised/swelling/ulceration/masses.

[c] Values for the control groups are the means and for the treated are the percent differences from the controls.

[d] The findings were similar to week 27.

[e] Following criteria are included: 1) granular material, basophilic within lymphatics, macrophages and/or subcutis; 2) fibrosis (minimal to marked).

[f] Sacrificed in moribund condition on Day 150

2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro*

2.6.7.8.A 細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay

Test Article: **Teduglutide**

Test for Induction of: Reverse mutation at selected loci in various tester strains of *Salmonella typhimurium* and at the tryptophan locus of *Escherichia coli*

Study Number: 88665

Strains: *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) *Escherichia coli* (WP2 *uvr*A)

No. of Independent Assays: 1

No. of Replicate Cultures: 3

Location in CTD 4.2.3.3.1.1

GLP Compliance: Yes

Metabolising System: Aroclor 1254-induced male Sprague-Dawley rat liver S9

No. of Cells Analyzed/Culture: 0.9 - 3.6 x 10^8

Date of Treatment:
Preliminary assay: [redacted] 19[redacted]
Mutagenicity assay: [redacted] 19[redacted]

Vehicles: **For Test Article:** Dimethyl sulfoxide, **For Positive Controls:** Not specified

Treatment: Inversion and incubation at 37± 2ºC for 48-72 hrs.

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Average Revertants/Plate [a]				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A
Without	Vehicle control	0	11 (2)	113 (12)	9 (1)	7 (2)	16 (2)
Activation	2-nitrofluorene	1	246 (10)	NA	NA	NA	NA
	Sodium azide	1	NA	597 (56)	308 (13)	NA	NA
	9-aminoacridine	75	NA	NA	NA	262 (16)	NA
	Methyl methanesulfonate	1000	NA	NA	NA	NA	168 (12)

2.6.7.8.A 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Study No.: 88665

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Average Revertants/Plate [a]				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A
Without Activation (continued)	Teduglutide	100	13 (2)	116 (15)	7 (3)	9 (3)	18 (4)
		333	14 (1)	117 (4)	9 (3)	7 (1)	16 (1)
		1000	12 (1)	119 (9)	9 (3)	7 (2)	17 (4)
		3333	13 (2)	116 (11)	10 (2)	6 (2)	22 (1)
		5000	11 (3)	120 (6)	10 (2)	6 (1)	17 (4)
With Activation	Vehicle Control	0	21 (2)	133 (21)	13 (2)	9 (1)	17 (2)
	2-aminoanthracene	1, 10 [b]	642 (68)	713 (81)	82 (16)	79 (13)	387 (24)
	Teduglutide	100	18 (2)	141 (12)	9 (1)	7 (0)	13 (1)
		333	16 (3)	126 (9)	9 (2)	6 (3)	17 (4)
		1000	19 (3)	140 (8)	9 (1)	6 (2)	13 (2)
		3333	14 (4)	142 (3)	11 (0)	6 (1)	18 (5)
		5000	15 (4)	122 (5)	12 (1)	6 (2)	18 (3)

NA = Not Applicable
[a] Data reported as: Mean (Standard Deviation)
[b] Concentration was 1 µg/plate for all *salmonella* strains and 10 µg/plate for WP2 *uvr*A

2.6.7.8.B 染色体異常試験

Report Title:	*In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test			**Test Article:**	**Teduglutide**
Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**No. of Independent Assays:**	1	**Study Number:**	88666
Strains:	Chinese hamster ovary cells	**No. of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD**	4.2.3.3.1.2
Metabolising System:	Aroclor 1254-induced male Sprague-Dawley rat liver S9	**No. of Cells Analysed/Culture:**	200	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicles:	**For Test Article:** Dimethyl sulfoxide (DMSO), **For Positive Controls:** Sterile distilled water			**Date of Treatment:**	[redacted] 19[redacted]
Treatment:	Treatment for 4 and 20 hours without activation and 4 hours with activation, all cells harvested 20 hours after treatment				
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration or Dose Level (µg/mL)**	**Cell Viability (%) [a]**	**Aberrant Cells Mean % Structural [b]**	**Aberrations/Cell [c] Mean**
4-hour	DMSO	-	95	2.5	0.030
Treatment	Teduglutide	1500	94	3	0.030
Without		2000	95	3.5	0.045
Activation		3000	93	3	0.030
	Mitomycin	0.08	97.5	11**	0.120

2.6.7.8.B 染色体異常試験（続き）

Study No.: 88666

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (μg/mL)	Cell Viability (%) [a]	Aberrant Cells Mean % Structural [b]	Aberrations/Cell [c] Mean
4-hour	DMSO	-	95.5	2.5	0.025
Treatment	Teduglutide	1500	96	3.5	0.035
With		2000	94.5	3.5	0.035
Activation		3000	93.5	4.5	0.045
	Cyclophosphamide	10	92	20.5**	0.280
20-hour	DMSO	-	100	1.5	0.015
Treatment	Teduglutide	1500	100	3.0	0.030
Without		2000	100	3.5	0.035
Activation		3000	99.5	3.0	0.030
	Mitomycin	0.08	97.5	14.0**	0.160

** = P ≦ 0.01 (Fisher's exact test)

[a] Viability determined by trypan blue dye exclusion

[b] Structural: excludes cells with only gaps

[c] Severely damaged cells were counted as 10 aberrations.

2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo*

2.6.7.9.A マウス骨髄小核試験

Report Title: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test **Test Article: Teduglutide**

Test for Induction of:	Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:**	Twice, 8 hours apart	**Study Number:**	AA65WK.123.BTL
Species/Strain:	CD-1 Mice	**Sampling Time:**	24 or 48 hours post-dose	**Location in CTD**	4.2.3.3.2.1
Age:	6 to 8 weeks	**Method of Administration:**	Subcutaneous injection	**GLP Compliance:**	Yes
Cells Evaluated:	Polychromatic Erythrocytes	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		

No. of Cells Analysed/Animal: 2000 **Date of Dosing:** [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
Toxic/Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: Confirmed by the plasma analysis

Test Article	Time (hr)	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals	PCE/Total Erythrocytes (Mean +/- SD)	MN-PCEs Number per 1000 PCEs (Mean +/- SD)
Phosphate buffer w/ mannitol and L-histidine	24	-	5 M	0.484 ± 0.03	0.5 ± 0.50
			5F	0.441 ± 0.04	0.4 ± 0.22
Teduglutide	24	177	5 M	0.471 ± 0.06	0.5 ± 0.00
			5F	0.444 ± 0.02	0.5 ± 0.35
	24	400	5 M	0.417 ± 0.04	0.7 ± 0.27
			5F	0.479 ± 0.04	0.4 ± 0.22

2.6.7.9.A　　マウス骨髄小核試験（続き）

Study No.: AA65WK.123-BTL

Test Article	Time (hr)	Dose (mg/kg)	Number of Animals	PCE/Total Erythrocytes (Mean +/- SD)	MN-PCEs Number per 1000 PCEs (Mean +/- SD)
Teduglutide	24	800	5 M	0.434 ± 0.02	0.5 ± 0.00
			5F	0.430 ± 0.04	0.5 ± 0.35
Cyclophosphamide [a]	24	50	5 M	0.325 ± 0.04	*24.3 ± 4.44
			5F	0.353 ± 0.09	*24.4 ± 4.02
Phosphate buffer w/ mannitol and L-histidine	48	-	5 M	0.487 ± 0.03	0.3 ± 0.27
			5F	0.512 ± 0.06	0.6 ± 0.22
Teduglutide	48	800	5 M	0.480 ± 0.05	0.7 ± 0.27
			5F	0.487 ± 0.06	0.7 ± 0.27

M = Male
F = Female
PCE = Polychromatic Erythrocytes
MN-PCEs = Micronucleated Polychromatic Erythrocytes
*$p \leq 0.05$. (Kastenbaum-Bowman Tables)
[a] Positive control was dissolved in sterile distilled water and intraperitoneally administered only once, at the time of the second test article dose administration.

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.A マウス 104 週間がん原性試験

Report Title: 104-Week Subcutaneous Injection Carcinogenicity Study with Teduglutide (ALX-0600) in Mice

Test Article: **Teduglutide**

Species/Strain:	Mice/Crl:CD-1 (ICR)	**Duration of Dosing:**	Up to 104 weeks	**Study Number:**	8214171
Initial Age:	5 to 6 weeks (age at time of treatment)	**Method of Administration:**	Once daily subcutaneous injection	**Location in CTD:**	4.2.3.4.1.1
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted] (males) [redacted] [redacted] 20[redacted] (females)	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine	**GLP Compliance:**	Yes
		Treatment of Controls:	Vehicle		

Basis for High-Dose Selection: Data from 26-week study (7302-112)

Special Features: Blood collection for toxicokinetics (TK) and antibody analyses

Conclusion: Statistically increased occurrence of benign papillary adenomas of the gall bladder at 1 mg/kg/day and above and adenocarcinomas of the jejunal mucosa at 12.5 mg/kg/day (males); gall bladder effects consistent with teduglutide's activity as a growth factor. No Carcinogenic Effect Level = 3.5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1**		**3.5**		**12.5**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Toxicokinetics [a]:								
Number of TK animals	32	32	64	64	64	64	64	64
$AUC_{0\text{-}24}$ (µg•hr/mL) (n = 4/sex/point)								
Week 3	NC	NC	2.26	1.71	9.54	5.71	36.1	25.1
Week 52	NC	NC	3.11	6.44	12.4	7.37	44.0	29.3

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
At Start	80	80	80	80	80	80	80	80
Died/Sacrificed Moribund	46	55	43	48	49	58	46	61
Terminal Sacrifice	34	25	37	32	31	22	34	19
Survival (%)	43	32	46	40	39	28	43	24
Body Weight (%) [b]　Week 105	45.9 g	39.7 g	+1.3	+8.1	+0.9	+16.6*	+2.6	+9.3
Food Consumption (%) [b] Week 104	36.6 g/animal/ week	32.6 g/animal/ week	+0.3	+18.4*	-1.9	+18.7*	+2.7	+23.6*
Clinical Signs								
Swollen, midline ventral abdomen	16	12	29	31	44	32	33	26
Blue skin, midline ventral abdomen	10	5	9	17	14	11	12	10
Antibody Analyses[c]								
No. Examined	12	12	12	12	12	12	12	12
No. Positive (confirmatory assay) – Week 13	0/4	0/4	3/4	4/4	2/4	3/4	1/4	4/4
No. Positive (confirmatory assay) – Week 26	0/4	0/4	3/4	4/4	3/4	3/4	4/4	2/3
No. Positive (neutralizing antibodies) – Week 13	NA	NA	2/3	2/4	1/2	3/3	1/1	4/4
No. Positive (neutralizing antibodies) – Week 26	NA	NA	1/3	3/4	3/3	3/3	2/4	1/2

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Organ Measurements and Weights								
No. Examined	34	25	37	32	31	22	34	18
Small Intestine [d] - length (mm)	471.9	487.2	569.5	591.0	591.4	648.8	598.2	636.1
Large Intestine [e]- length (mm)	131.7	128.4	157.4	154.3	154.9	162.3	158.4	159.1
No. Examined	34	25	37	31	31	22	34	18
Small Intestine [d] – absolute (g)	2.2	2.3	4.2	4.8	5.1	5.8	5.0	5.3
Large Intestine [e] – absolute (g)	0.7	0.7	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2
Macroscopic Changes								
Gall Bladder								
Distended	1	5	9	42	18	40	31	39
Large	1	0	2	4	4	2	3	3
Mesenteric Lymph Node								
Discolored	1	1	6	20	11	15	10	11
Large	5	5	3	14	8	18	7	13

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic neoplastic changes (selected)[f]								
Gall Bladder	66	69	71	69	70	70	70	68
B-Papillary Adenoma	0	0	5*	1	2	3	6*	0
Jejunum	68	69	69	69	73	68	68	69
M-Adenocarcinoma**	0	0	1	0	0	0	4	1
Lung	80	80	80	80	80	79	80	80
B-Adenoma, Bronchiolar-Alveolar	15	3	16	5	17	10*	12	11*
M-Carcinoma, Bronchiolar-Alveolar	13	1	9	4	5	3	4	6
Adenoma and/or Carcinoma, Bronchiolar-Alveolar	27	4	24	9	22	13*	16	16*

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic non neoplastic changes, selected [f]								
Gall Bladder	66	69	71	69	70	70	70	68
Distended	2	3	10	40	22	40	30	32
Hyperplasia, Epithelium	4	0	34	17	35	17	31	14
Minimal	2	0	11	9	23	10	12	12
Slight	1	0	12	6	10	4	14	1
Moderate	1	0	10	2	1	3	5	1
Marked	0	0	1	0	1	0	0	0
Fibrosis/Thickening, Wall	1	3	31	18	23	17	17	21
Minimal	1	3	22	9	14	10	12	15
Slight	0	0	8	8	8	6	4	6
Moderate	0	0	1	1	1	1	1	0
Inflammation	1	5	9	9	7	6	10	11
Minimal	1	3	4	4	3	5	7	7
Slight	0	2	5	4	4	0	2	4
Moderate	0	0	0	0	0	1	1	0
Marked	0	0	0	1	0	0	0	0
Duodenum	70	73	69	69	71	71	66	67
Villus, Increased Length	0	0	30	14	32	30	23	28
Minimal	0	0	22	12	21	20	15	24
Slight	0	0	8	2	11	10	8	4

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic non neoplastic changes, selected (continued) [f]								
Duodenum (continued)								
Hyperplasia, Mucosa	0	24	23	26	31	28	25	25
Minimal	0	11	18	20	24	20	17	8
Slight	0	11	5	4	6	7	8	12
Moderate	0	2	0	2	1	1	0	4
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Jejunum	68	69	69	69	73	68	68	69
Villus, Increased Length	0	0	21	11	24	18	12	10
Minimal	0	0	21	11	22	15	11	7
Slight	0	0	0	0	2	3	1	3
Hyperplasia, Mucosa	1	2	8	4	5	11	3	13
Minimal	0	2	8	4	5	9	3	12
Slight	1	0	0	0	0	2	0	1
Ileum	68	69	70	65	71	69	64	62
Villus, Increased Length	0	0	22	17	29	34	15	28
Minimal	0	0	14	8	14	12	6	16
Slight	0	0	8	9	15	22	9	12
Hyperplasia, Mucosa	0	4	10	5	13	2	5	3
Minimal	0	4	8	5	11	2	4	3
Slight	0	0	2	0	2	0	1	0

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic non neoplastic changes, selected (continued) [f]								
Cecum	68	70	65	72	70	67	64	59
Hyperplasia, Mucosa	0	0	9	1	13	4	13	11
Minimal	0	0	6	0	11	3	9	7
Slight	0	0	3	1	2	1	4	4
Colon	72	75	71	69	73	71	68	66
Hyperplasia, Mucosa	0	2	15	9	22	9	21	10
Minimal	0	1	10	5	12	6	14	8
Slight	0	1	5	4	10	3	7	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Rectum	71	75	74	72	74	74	68	67
Hyperplasia, Mucosa	0	0	2	1	4	4	1	7
Minimal	0	0	2	1	2	4	1	7
Slight	0	0	0	0	2	0	0	0
Mesenteric Lymph Node	76	76	80	80	80	78	79	79
Congestion/Hemorrhage	10	7	32	32	42	26	32	33
Infiltrate, Macrophages	8	9	34	6	34	5	20	9
Hematopoiesis, Increased	1	7	16	9	20	12	15	14
Bone Marrow, Femur	79	80	80	78	79	79	80	79
Hypercellular	7	22	12	15	15	15	22	16
Bone Marrow, Sternum	80	80	80	79	80	79	80	80
Hypercellular	6	21	11	16	15	15	19	14

2.6.7.10.A　　マウス 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 8214171

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3.5		12.5	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic non neoplastic changes, selected (continued) [f]								
Injection Site, A	80	80	80	80	80	79	80	80
Inflammation	6	26	13	28	25	29	19	38
Minimal	3	18	9	17	20	23	13	27
Slight	2	8	4	11	5	6	6	10
Moderate	1	0	0	0	0	0	0	1
Injection Site, B	80	80	80	80	80	79	80	80
Inflammation	7	21	10	30	16	25	20	35
Minimal	6	12	8	24	15	20	14	28
Slight	1	8	2	6	1	5	6	6
Moderate	0	1	0	0	0	0	0	1

M = Male
F = Female
NA = Not applicable, NC = Not calculated.
*= P < or = 0.05 (P = ANOVA and Dunnett's, if applicable; adjusted survival data of carcinogenicity animals were analysed using Kaplan-Meier product-limit estimation on curves, Cox-Tarone binary regression and Gehan-Breslow nonparametric tests).
**=Adenocarcinoma in the jejunum in male had a significant positive trend (p = 0.0155), but none of the treated groups had a significant increase (p = 0.1084 at 12.5 mg/kg/day).
[a] For the TK study, up to 4 animals/sex/dose/time point were bled during Weeks 3 and 52 at pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 24 hours after dosing.
[b] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] For the antibody analyses, up to 4 animals/sex/dose/time point were sacrificed pre-dose on Day 1 and in Weeks 13 and 26.
[d] Includes duodenum, ileum and jejunum.
[e] Includes cecum and colon.
[f] Number of animals available for microscopic evaluation is listed in the row for each tissue.

2.6.7.10.B　ラット 104 週間がん原性試験

Report Title: ALX-0600: A 104-Week Subcutaneous Injection Carcinogenicity Study in the Wistar Han IGS Rat　**Test Article: Teduglutide**

Species/Strain:	Wistar Han IGS: Crl:WI(Glx/BR/Han)IGSBR	**Duration of Dosing:**	Up to 104 weeks	**Study Number:**	800070
Initial Age:	Approximately 6 weeks (age at time of treatment)	**Method of Administration:**	Twice daily subcutaneous injection	**Location in CTD**	4.2.3.4.1.2
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine	**GLP Compliance:**	Yes
		Treatment of Controls:	Vehicle		

Basis for High-Dose Selection: Data from 13-week range-finding study (Study Number; 800069)

Special Features: Blood collection for toxicokinetics (TK) and antibody analysis

Conclusion: Statistically increased occurrence of benign tumors of bile duct epithelial origin and adenomas of the jejunal mucosa at 35 mg/kg/day and single male with liver cholangioma at 10 mg/kg/day; effects consistent with teduglutide's activity as a growth factor. NOEL = 3 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**3**		**10**		**35**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Toxicokinetics [a]:									
Number of TK animals		0	0	12	12	12	12	12	12
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg•hr/mL)	Day 28	NC	NC	2.4	1.5	7.3	4.1	29.4	10.8
(n = 3/sex/point)	Week 13	NC	NC	3.0	2.0	10.7	6.2	39.5	24.8
	Week 26	NC	NC	3.5	2.2	13.3	9.6	45.3	28.1
	Week 52	NC	NC	2.3	2.2	7.5	4.9	36.5	22.9

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 800070

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		35	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals									
At Start		50	50	50	50	50	50	50	50
Died/Sacrificed Moribund		12	12	13	16	15	17	19	17
Terminal Sacrifice		38	38	37	34	35	33	31	33
Survival (%)		76	76	74	68	70	66	62	66
Body Weight (%) [b]	Week 104	572.5	389.1	-2.5	**-13.5**	+0.7	**-14.3**	-0.6	**-9.4**
Food Consumption (%) [b]	Week 104-105	24	21	0	-4.8	+4.2	-4.8	+4.2	+4.8
Ophthalmology		--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Signs									
Thin fur cover		17	25	10	26	12	22	19	37
Skin papules (from Site 6)		0	1	0	0	1	0	50	50
Clinically observed masses		15	21	24	9	42	7	29	31
Clinically observed masses at the treatment site		2	0	0	0	2	0	5	13

Statistically significant in bold.

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 800070

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		35	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Organ Weights [c]								
Number of Animals	38	38	37	34	35	33	31	33
Small Intestine - length (mm)	1212	1088	**+19**	**+23**	**+22**	**+26**	**+26**	**+32**
Large Intestine - length (mm)	237	213	**+13**	**+10**	**+15**	**+15**	**+22**	**+21**
Number of Animals	38	38	37	34	35	33	31	33
Small Intestine – absolute (g)	8.7056	6.9297	**+148**	**+154**	**+151**	**+151**	**+206**	**+185**
Large Intestine – absolute (g)	4.1524	3.4511	**+42**	**+38**	**+36**	**+37**	**+42**	**+44**
Liver – absolute (g)	12.5439	8.4916	**+26**	+5	**+20**	+5	**+24**	**+16**
Pancreas – absolute (g)	1.1965	0.9520	0	-4	-1	+6	+7	+10
Macroscopic Changes								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Bile duct - Dilatation	5	11	20	19	27	25	25	23
Injection sites								
Thickening - dorsal thoracic left	0	0	0	0	4	2	17	21
Thickening - dorsal thoracic right	0	1	0	0	3	1	19	21
Thickening - lumbar left	0	0	0	0	6	3	15	18
Thickening - lumbar right	0	0	0	0	7	6	17	18
Thickening - scapular left	0	0	1	0	0	1	11	12
Thickening - scapular right	0	1	2	0	0	2	12	13
Stomach - Thickening	9	2	14	9	21	15	22	18
Duodenum - Thickening	0	1	36	36	36	33	38	38
Duodenum - Mass	0	0	0	0	0	0	0	1

Statistically significant findings in bold.

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 800070

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**35**	
Number of Animals/Gender	50M	50F	50M	50F	50M	50F	50M	50F
Macroscopic Changes (continued)								
Jejunum - Thickening	0	0	35	35	37	34	39	38
Jejunum - Mass	0	0	1	1	1	0	6	0
Ileum - Thickening	0	0	22	23	23	27	34	29
Ileum - Mass	0	0	0	0	0	1	0	0
Cecum - Thickening	0	0	7	5	7	4	7	4
Colon - Thickening	1	0	6	6	8	7	9	4
Rectum - Thickening	0	1	6	5	8	6	9	6
Kidney - Discoloration dark	3	14	9	34	8	36	10	40
Lymph node (mesenteric) - Enlargement	5	2	13	10	11	11	18	13
Abdomen - Mass	3	1	1	3	2	3	5	5
Microscopic neoplastic changes, selected								
Extrahepatic bile duct								
Number of animals examined	46	47	47	46	44	46	48	48
Cholangioma	0	0	0	0	1	0	4	1
Liver								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Cholangioma	0	0	0	0	0	0	1	0
Jejunum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Adenoma	0	0	1	0	0	0	5	0
Adenocarcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 800070

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**35**	
Number of Animals/Gender	50M	50F	50M	50F	50M	50F	50M	50F
Microscopic non neoplastic changes, selected								
Extra-hepatic bile duct								
Number of animals examined	46	47	47	46	44	46	48	48
Dilatation	9	12	23	21	28	31	36	35
Mural fibrosis/thickening	0	9	11	19	25	19	26	25
Hyperplasia: epithelium	1	1	5	2	17	6	15	11
Proliferation of mural ductules	6	0	9	8	16	11	21	14
Inflammation	1	0	2	2	5	1	1	4
Cecum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	0	1	11	12	11	11	25	14
Liver								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Bile duct hyperplasia	3	5	13	11	25	16	32	20
Biliary Cysts	1	1	2	2	4	1	2	7
Periductular fibrosis	0	1	2	4	2	5	8	3
Colon								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	0	0	7	9	3	8	17	10
Duodenum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	2	2	42	45	46	43	46	47
Ileum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	0	0	37	43	44	37	45	44

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No.: 800070

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		35	
Number of Animals/Gender	50M	50F	50M	50F	50M	50F	50M	50F
Microscopic non neoplastic changes, selected (continued)								
Injection site								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Inflammation/fibrosis/degeneration	1	2	3	1	25	21	47	50
Degeneration: panniculus muscle	0	0	0	0	0	1	5	5
Inflammation	2	2	7	2	2	5	8	1
Jejunum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	0	0	42	44	47	42	47	46
Lymph node mesenteric								
Number of animals examined	50	50	49	50	50	50	50	50
Histiocytosis	1	0	5	9	2	11	4	9
Hyperplasia: lymphoid	0	1	0	0	3	5	7	3
Dilatation: sinusal with or without congestion	0	1	3	2	8	3	14	4
Atrophy: Lymphoid	1	0	0	0	0	0	1	0
Erythrocytosis/hemorrhage	12	9	13	16	17	23	21	19
Deposits: pigment	0	0	0	0	0	1	0	0
Rectum								
Number of animals examined	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia: villous/mucosal	0	0	2	4	0	1	7	1

-- No noteworthy findings.　M = Male , F = Female, NC = Not calculated.

[a] For the TK study 3 animals/sex/dose/time point were bled on Day 28 and during Weeks 13, 26 and 52 at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 24 hours after dosing.

[b] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] For absolute weights, number indicates percent difference from the control group. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.11　**生殖発生毒性試験**：　**重要な試験以外の試験**

該当せず

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験

Report Title:	ALX-0600: A Fertility Study of ALX-0600 Administered Twice Daily by Subcutaneous Injection in the Rat			**Test Article:**	**Teduglutide**
Design acc. to ICH S5 (R2) Section 4.1.1	Yes	**Duration of Dosing:**	**Males**: at least 28 days prior to mating, during mating and until necropsy (between 63 and 66 dosing occasions) **Females**: at least 14 days prior to mating, during mating, and up to Day 7 of gestation	**Study Number:**	98357
Species/Strain:	Rat/ Sprague-Dawley	**Day of Mating:**	Gestation Day 0	**Location in CTD**	4.2.3.5.1.1
Initial Age:	Male: 12 weeks Female: 9 weeks	**Day of C-Section:**	Gestation Day 13	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection, twice daily		
Special Features:	None	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Males:	50 mg/kg/day
F_0 Females:	50 mg/kg/day
F_1 Litters:	50 mg/kg/day

2.6.7.12　受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No.: 98357

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	10	50
Males				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--
Necropsy Observations (Absolute Organ Weights)				
Large Intestine (%) [a]	4.96 g	+18.49**	+19.04**	+26.04***
Small Intestine (%) [a]	11.74 g	+69.07***	+78.50***	+84.06***
Body Weight (Day 63) (%) [a]	561.5 g	-4.67	-4.52	-4.08
Food Consumption (Days 59 to 63) (%) [a]	32 g/animal/day	-3.13	-3.13	+3.13
Mean No. Days Prior to Mating	3.1	3.0	3.0	3.0
No. of Males that Mated	22	21	22	22
No. of Fertile Males	22	20	21	22
Epididymus Weight, Left (g)	0.7390	0.7133	0.7110	0.7070
Seminal Vesicle Weight, Left (g)	0.5239	0.5295	0.4825	0.4987
Testis Weight, Left (g)	1.7624	1.7404	1.7684	1.7135
Cauda Epididymis Weight (g)	0.366	0.362	0.355	0.375
Spermatazoa per Gram (10^6)	670.8	648.0	660.3	653.6
Motility (%)	68.1	69.5	67.7	69.7

2.6.7.12　受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No.: 98357

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	10	50
Females				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--
Necropsy Observations (Absolute Organ Weights)				
Large Intestine (%) [a]	3.53 g	+4.44	+9.63*	+13.63***
Small Intestine (%) [a]	7.99 g	+21.18***	+26.84***	+52.80***
Premating Body Weight (Day 14) (%) [a]	233.4 g	-4.97	-1.67	-0.86
Gestation Body Weight (Day 7) (%) [a]	277.4 g	-5.91**	-4.25	-3.42
Premating Food Consumption (Days 10 to 14) (%) [a]	21 g/animal/day	-9.52*	-4.76	-4.76
Gestation Food Consumption (Days 7 to 10) (%) [a]	80.3 g/animal	-4.48	+1.37	+0.37
Mean Number of Estrous Cycles/14 days [b]	2.4	2.9	2.5	2.7
Mean Number of Days Prior to Mating	3.1	3.0	3.0	3.0
Number of Females Sperm Positive	22	21	22	22
Number of Pregnant Females	22	20	21	22
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean Number of Corpora Lutea	19.2	17.7	18.4	18.5
Mean Number of Implantations	17.0	16.3	16.5	16.8
Mean % Preimplantation Loss	10.9	7.9	10.1	8.7
Mean Number of Live Conceptuses	16.3	15.5	16.0	16.1

2.6.7.12　受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No.: 98357

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	10	50
Females (continued)				
No. Evaluated	22	20	21	22
Mean Number of Resorptions	0.7	0.7	0.6	0.7
Number of Dead Conceptuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Postimplantation Loss	4.1	4.4	3.3	4.0

-- No noteworthy findings.
*p≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001. (Dunnett)
[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[b] Includes actual cycles seen (E1/E2) and the “unseen” cycles determined.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A　ラット胚・胎児発生に関する試験

Report Title: ALX-0600: Rat Subcutaneous Embryo-Fetal Development Toxicity Study with Toxicokinetics **Test Article: Teduglutide**

Design acc. to ICH S5(R2) Section 4.1.3	Yes	**Duration of Dosing:**	GD 6 - 17	**Study Number:**	7203-117
Species/Strain:	Rat/ Sprague-Dawley	**Day of Mating:**	GD 0	**Location in CTD**	4.2.3.5.2.1
Initial Age:	10 weeks	**Day of C-Section:**	GD 20		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	None	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 50 mg/kg/day

F_1 Litters: 50 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg) [a]		**0 (Control)**	**2**	**10**	**50**
Dams/Does					
Number of Toxicokinetics animals (per time point)		0	9 (3)	9 (3)	9 (3)
Toxicokinetics:	AUC_{0-8} (µg.hr/mL)				
	GD6 [b]	NP	1.6	5.9	39.2
	GD17 [b]	NP	1.6	5.5	51.5
No. Pregnant		24	25	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Clinical Observations		--	--	--	--

2.6.7.13.A ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No.: 7203-117

Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)	2	10	50
Dams/Does	No. Pregnant	24	25	24	24
	Necropsy Observations	--	--	--	--
	Body Weight (Day 18) (%) [c]	340.2 g	-1.06	-1.15	-0.82
	Food Consumption (Day 6 to 18) (%) [c]	28.1 g/animal/day	-3.91	-2.49	-1.07
	Mean Number of Corpora Lutea	16.0	14.3	16.1	15.4
	Mean Number of Implantations	14.1	12.9	13.5	13.5
	Mean % Preimplantation Loss	10.9	9.5	16.0	12.2
Litters	No. Litters Evaluated	24	25	24	23
	No. Live Fetuses/ Litters	14.0	12.7	13.0	13. 7
	Mean No. Resorptions	0.1	0.2	0.5	0.4
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss	0.8	1.8	4.3	1.1
	Mean Fetal Body Weight (g) (Sexes Combined)	3.73	3.82	3.70	3.66
	Fetal Sex Ratios (M:F)	53:47	51:49	48:52	52:48
	Fetal Anomalies				
	Gross External	0	0	0	0
	Visceral Anomalies	0	0	0	0
	Skeletal Anomalies	0	0	0	0

2.6.7.13.A　　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No.:7203-117

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)	2	10	50
Litters (continued)				
Fetal Anomalies (continued)				
Skeletal Variations				
No. of Incomplete Ossification of Skull (Fetal Incidence) (+)	4	28**	18**	25**
No. of Wavy/ Bent Rib (Fetal Incidence) (+)	0	7**	9**	12**

GD = Gestation Day
NP = Not Performed
M = Male
F = Female
-- No noteworthy findings
[a] Total daily dose was administered in two doses, with approximately 8 hours between doses.
[b] Samples collected after the first dose of the day.
[c] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
(+): positive trend, **: $p \leq 0.01$ (Cochran-Armitage test for linear trend followed by the Fisher-Irwin exact test. Statistical significance is based on the percent differences.)

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Report Title:	ALX-0600: A Subcutaneous Rabbit Embryo/Fetal Development Study with Toxicokinetic Analysis			**Test Article: Teduglutide**	
Design acc. to ICH S5(R2) Section 4.1.3	Yes	**Duration of Dosing:**	GD 7-GD 20	**Study Number:**	[redacted]-487001
Species/Strain:	Rabbit/New Zealand White	**Day of Mating:**	GD 0	**Location in CTD**	4.2.3.5.2.2
Initial Age:	approximately 6.5 months	**Day of C-Section:**	GD 29		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	None	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 50 mg/kg/day

F_1 Litters: 50 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg) [a]		**0 (Control)**	**2**	**10**	**50**
Dams/Does		22	22	22	22
Toxicokinetics:	AUC_{0-8} (µg.hr/mL)				
	GD7 [b]	NP	1.6	7.1	28.2
	GD20 [b]	NP	2.4	8.5	49.3
No. Pregnant		19	20	19	17
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0 (1)[c]
No. Aborted or with Total Resorption of Litter		1	0	0	1
Clinical Observations		--	--	--	--

2.6.7.13.B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No.: [redacted]-487001

Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)	2	10	50
Dams/Does	No. Pregnant	19	20	19	17
	Necropsy Observations				
	Thickened and/or Red Injection Sites	2	3	9	17
	Body Weight (Day 21) (%) [d]	3887 g	-0.9	+2.0	-0.7
	Food Consumption (Day 7 to 21) (%) [d]	200 g/animal/day	-3.5	+3.5	-5.0
	Mean Number of Corpora Lutea	9.0	8.8	8.6	8.8
	Mean Number of Implantations	6.8	7.1	7.0	7.3
	Mean % Preimplantation Loss	24.4	20.6	18.1	16.8
Litters	No. Litters Evaluated	18	20	19	16
	No. Live Fetuses/ Litters	6.7	6.3	6.9	6.8
	Mean No. Resorptions	0.1	0.8	0.1	0.4
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss	1.3	10.3**	1.5	7.5
	Mean Fetal Body Weight (g) (Sexes Combined)	46.0	46.0	47.2	46.6
	Fetal Sex Ratios (M:F)	60.4:39.6	52.4:47.6	56.2:43.8	60.1:39.9

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No.: [redacted]-487001

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)	2	10	50
Litters (continued)				
No. Litters Evaluated	18	20	19	16
Fetal Anomalies (Fetuses/Litter)				
Gross External	1/1	0/0	1/1	0/0
Visceral	0/0	2/2	4/4	0/0
Skeletal	1/1	0/0	2/1	1/1

GD = Gestation Day
NP = Not Performed
M = Male
F = Female
-- No noteworthy findings
** = $p<0.01$ (Kruskall-Wallace test)
[a] Total daily dose was administered in two doses, with approximately 8 hours between doses.
[b] Samples collected after the first dose of the day.
[c] Animal sacrificed moribund in TK group.
[d] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

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

Report Title: ALX-0600: Subcutaneous Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation **Test Article: Teduglutide**

Design acc. to ICH S5(R2) Section 4.1.2	Yes	**Duration of Dosing:**	GD 7 through DL 20 or GD 24 (rats that did not deliver a litter)	**Study Number:**	[redacted]00008
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	**Day of Mating:**	GD 0	**Location in CTD**	4.2.3.5.3.1
Initial Age:	66 days	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:		**Litters Culled/Not Culled:**	Culled		

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 50 mg/kg/day

F_1 Males: 50 mg/kg/day

F_1 Females: 50 mg/kg/day

2.6.7.14　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（続き）

Study No.: [redacted]00008

Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)	10	25	50
F_0 Females	Dams	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
	Found Dead	0	0	0	1 [b]
	Number of Pregnant	21	22	19	18
	Clinical Signs	--	--	--	--
	Gross Necropsy Findings	--	--	--	--
	Body Weight (%) [c] (Gestation Day 20)	392.1 g	+2.9	+1.9	+3.3
	Food Consumption (%) [c] (Gestation Day 7 to 20)	24.2 g/day	+0.8	+0.8	+1.2
	Body Weight (%) [c] (Lactation Day 21)	333.0 g	+5.6**	+2.6	+5.3*
	Food Consumption (%) [c] (Lactation Day 1 to 14)	58.3 g/day	+4.3	+6.0	+4.3
	Duration of Gestation (Days)	22.7	22.4	22.7	22.7
	Mean Implantation Sites per Delivered Litter	16.8	16.6	16.2	15.9
	Dams with Stillborn Pups	4	1	3	4
	Dams with No Liveborn Pups	0	0	0	0
	Gestation Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
	Dams with All Pups Dying Days 1-4 Postpartum	0	1	0	0
	Dams with All Pups Dying Days 5-21 Postpartum	0	0	0	0

GD=gestation day; DL=day of lactation.
-- No noteworthy findings
*p≤0.05　**p≤0.01

[a] Two doses were to be administered on Day 7 of presumed gestation through Day 20 of lactation or Day 24 of presumed gestation (rats that did not deliver a litter).

[b] Rat 25778 was found dead on Day 10 of lactation. This death was not considered related to treatment with the test article because it was a single event with no other signs of toxicity occurring in this rat or for any of the rats in this dosage group.

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

2.6.7.14　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（続き）

Study No.: [redacted]00008

Maternal Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	10	25	50
F_1 Generation Pups				
Mean No. Pups Delivered per Litter	16.0	15.5	15.3	15.2
Mean No. Liveborn per Litter	15.8	15.4	15.2	14.9
Viability Index (%)	97.0	89.7**	96.5	98.5
Lactation Index (%)	98.8	96.7	97.5	91.3
Surviving Pups/Litter (Day 28)	15.1	13.4	14.3	14.2
Pup Weight/Litter (g)				
Day 1	6.4	6.2	6.4	6.3
Day 28	64.7	66.0	66.3	63.0
Clinical Signs – Transient Cold to Touch	1	5*	8**	4*
Reflex and Physical Development Markers [a]	--	--	--	--
Total Pups Stillborn, Found Dead or Unscheduled Sacrifice				
Stillborn	5	2	3	5
Found Dead	7	16**	5	7
Unscheduled Sacrifice	1	0	4**	1
Pups sacrificed and necropsied on Day 10 or 28 Postpartum	--	--	--	--

-- No noteworthy findings
*p≤0.05　**p≤0.01
[a] – Surface righting, acoustic startle, air righting, pupil constriction.

2.6.7.14　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（続き）

Study No.: [redacted]00008

Maternal Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	10	25	50
F_1 Generation Male Rats					
F_1 Generation Male Rats					
No. of Animals		22	22	22	22
Unscheduled Sacrifice		0	1 [a]	0	0
Clinical Signs		--	--	--	--
Body Weight (g)	Day 1	44.3	41.2	40.1	39.8
	Day 71	490.7	478.8	483.2	464.5
	Day 106	579.1	565.0	572.4	544.2
Food Consumption (g/day)	Days 15-106	30.3	28.9	29.8	29.1
Necropsy Findings		--	--	--	--
Preputial Separation (Day)		46.4	46.5	47.5	46.7
Motor Activity		--	--	--	--
Passive Avoidance		--	--	--	--
Watermaze		--	--	--	--
Days in Cohabitation		3.7	2.8	3.0	3.4
No. of Rats that Mated		21	22	21	21
Fertility Index (%)		85.7	95.4	81.0	90.5
Rats with Confirmed Mating Dates		21	22	21	20
No. Rats Pregnant/No. Rats in Cohabitation (%)		18/22 (81.8)	21/22 (95.4)	17/22 (77.3)	19/22 (86.4)

[a] – Animal 22436 sacrificed on postweaning day 104 due to self-inflicted injury. This death was not considered to be treatment related because it was a single, non-dose-dependent event.

2.6.7.14　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（続き）

Study No.: [redacted]00008

Maternal Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**10**	**25**	**50**
F_1 Generation Female Rats					
No. of Animals		22	22	22	22
Unscheduled Sacrifice		0	0	0	0
Clinical Signs		--	--	--	--
Body Weight (g) - Premating	Day 1	41.0	39.5	39.2	37.8
	Day 71	280.7	280.6	279.0	277.0
Body Weight (g) – Gestation	Day 0	279.0	285.4	282.6	283.6
	Day 21	445.6	459.2	468.6	456.7
Food Consumption (g/day) – Premating	Days 15-71	21.5	21.8	21.4	21.6
Food Consumption (g/day) – Gestation	Days 0-21	26.9	27.7	28.3	27.3
Necropsy Findings		--	--	--	--
Vaginal Patency (Day)		33.3	33.7	33.4	33.8
Motor Activity		--	--	--	--
Passive Avoidance		--	--	--	--
Watermaze		--	--	--	--
Days in Cohabitation		3.8	2.8	3.1	3.5
No. of Rats that Mated		22	22	22	22
Fertility Index (%)		86.4	95.4	77.3	90.9
Rats with Confirmed Mating Dates		22	22	22	21
No. Rats Pregnant/No. Rats in Cohabitation (%)		19/22 (86.4)	21/22 (95.4)	17/22 (77.3)	20/22 (90.9)

2.6.7.14　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（続き）

Study No.: [redacted]00008

Maternal Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	10	25	50
F_1 Generation Female Rats – Caesarian Section				
Rats Tested	22	22	22	22
No. Pregnant (%)	19 (86.4)	21 (95.4)	17 (77.3)	20 (90.9)
Mean No. of Corpora Lutea	16.9	17.3	17.0	17.2
Mean No. of Implantations	14.9	15.4	16.6	16.6
Litter Size	14.5	14.6	15.8	15.8
No. Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean No. Resorptions	0.4	0.8	0.8	0.8
Mean No. Early Resorptions	0.4	0.8	0.8	0.8
No. of Dams with Any Resorptions (%)	8 (42.1)	12 (57.1)	11 (64.7)	11 (55.0)
No. of Dams with All Conceptuses Resorbed	0	0	0	0
Dams with Viable Fetuses (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
F2 Generation – Litter Observations				
% Live Male Fetuses/Litter	49.6	48.8	48.7	48.5
Live Fetal Body Weights (grams)/Litter	5.06	5.11	4.89	4.91
External Malformations	0	1	0	0

2.6.7.15　幼若動物を用いた試験

2.6.7.15.A　幼若ウサギ予備試験

2.6.6.7 項（試験番号 7203-109）に示す。

2.6.7.15.B　幼若ウサギ慢性毒性試験

2.6.6.7 項（試験番号 7203-110）に示す。

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験

Report Title: ALX-0600 – Preliminary Study in Juvenile Minipigs　**Test Article: Teduglutide**

Species/Strain:	Minipig/ Gottingen	**Duration of Dosing:**	14 days	**Study No.:**	51153
Initial Age:	approximately 7 days	**Duration of Postdose:**	No recovery	**Location in CTD**	4.2.3.5.4.3
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection		
GLP Compliance:	Yes	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		
Special Features:	None				
No Observed Adverse Effect Level:		25 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg) [a]		**0 (Control)**		**5**		**25**	
Number of Animals Assigned at Birth		**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics:							
$AUC_{0.25\text{-}8}$ (µg·hr/mL)	Day 1	NP	NP	6.7	5.4	30.8	31.9
	Day 14	NP	NP	8.0	6.0	28.2	33.2
Noteworthy Findings							
Body Weight (%) [b]	Day 1	912.2	842.3	- 16.7	+ 9.3	+ 1.9	+ 7.9
	Day of Necropsy	2001.5	2016.2	- 12.0	+ 3.5	+ 19.3	+ 18.5
Clinical Signs		--	--	--	--	--	--
Hematology		--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry		--	--	--	--	--	--
Crown rump length		--	--	--	--	--	--

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験（続き）

Study No.: 51153

Daily Dose (mg/kg) [a]	**0 (Control)**		**5**		**25**	
Number of Animals Assigned at Birth	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Organ Measurements and Weights (%) [c]						
Gall bladder	0.25 g	0.16 g	+ 40.0	+ 268.8 **	+ 200.0 **	+ 356.3 **
Small intestine weight	62.57 g	66.63 g	*+ 75.2* **	*+ 104.9* **	*+ 144.7* **	*+ 151.2* **
Large intestine weight	22.95 g	25.92 g	*+ 44.6*	*+ 37.5* *	*+ 51.4* *	*+ 33.4*
Small intestine length	343.0 cm	490.5 cm	*+ 42.6* **	*+ 3.4*	*+ 60.0* **	*+ 11.2*
Large intestine length	70.8 cm	77.0 cm	*+ 9.7*	*+ 4.3*	*+ 23.3*	*+ 23.8*
Liver	50.19 g	48.55 g	+ 4.0	+ 23.7 **	+ 32. 2 *	+ 40. 0 **
Spleen	4.13 g	3.94 g	+ 17.2	+ 7.4	+ 75.8 *	+ 84.3
Thyroid	0.19 g	0.21 g	+ 15.8	+ 14.3	+ 52.6 *	+ 47.6
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--
Histopathology						
Gall Bladder						
Hyperplasia mucosa						
Total	0	0	6	6	6	6
Minimal	0	0	0	0	0	1
Slight	0	0	1	1	2	1
Moderate	0	0	5	4	3	3
Marked	0	0	0	1	1	1

Pharmacological effects indicated in italics.

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験（続き）

Study No.: 51153

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		5		25	
Number of Animals Assigned at Birth	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Histopathology (Continued)						
Liver						
Hematopoiesis extramedullary						
Total	2	3	5	3	5	4
Minimal	2	3	5	3	5	3
Slight	0	0	0	0	0	1
Bile Duct, Extrahep.						
Hyperplasia mucosa						
Total	0	0/5	3	2	4	5
Minimal	0	0/5	3	2	4	4
Slight	0	0/5	0	0	0	1
Injection Site						
Fibrosis						
Total	1	1	2	1	3	2
Minimal	1	1	2	1	2	1
Slight	0	0	0	0	1	1
Hemorrhage						
Total	0	0	1	0	1	1
Minimal	0	0	1	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	1

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験（続き）

Study No.: 51153

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		5		25	
Number of Animals Assigned at Birth	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Histopathology (Continued)						
Injection Site (Continued)						
Necrosis						
Total	0	2	3	1	3	3
Minimal	0	2	3	1	1	2
Slight	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	1
Mononuclear cells						
Total	2	3	2	1	5	2
Minimal	2	3	2	1	3	1
Slight	0	0	0	0	2	1
Spleen						
Hematopoiesis extramedullary						
Total	3	4	5	3	6	6
Minimal	1	4	1	0	0	0
Slight	1	0	3	3	2	2
Moderate	1	0	1	0	4	4

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験（続き）

Study No.: 51153

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		5		25	
Number of Animals Assigned at Birth	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Histopathology (Continued)						
Duodenum						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	3	3	6	6
Minimal	0	0	3	3	1	2
Slight	0	0	0	0	5	4
Jejunum						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	2	0	6	6
Minimal	0	0	2	0	0	3
Slight	0	0	0	0	6	3
Ileum						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	1	1	6	6
Minimal	0	0	1	1	0	4
Slight	0	0	0	0	6	2
Colon						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	1	0	6	3
Minimal	0	0	1	0	6	3

2.6.7.15.C　幼若ミニブタ予備試験（続き）

Study No.: 51153

Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		5		25	
Number of Animals Assigned at Birth	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Histopathology (Continued)						
Cecum						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	2	0	6	0
Minimal	0	0	2	0	5	0
Slight	0	0	0	0	1	0
Rectum						
Hyperplasia intestinal						
Total	0	0	0	0	4	3
Minimal	0	0	0	0	4	3
Stomach Nonglandular						
Hyperplasia mucosa						
Total	0	0	2	2	1	2
Minimal	0	0	2	2	0	0
Slight	0	0	0	0	1	2

NP = Not Performed
* means $p<0.05$, versus control group; ** means $p<0.01$, versus control group
[a] Total daily dose administered as two injections per day (bid), approximately 8 hours apart
[b] At end of dosing period. For controls, group means are shown (in g). For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

2.6.7.15.D　幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験

Report Title: ALX-0600 (teduglutide): A 90-Day Toxicity Study in Juvenile Minipigs with 13-Week Recovery Period Twice Daily Subcutaneous Dosing

Test Article: Teduglutide

Species/Strain:	Minipig/ Gottingen	**Duration of Dosing:**	90 days	**Study No.:**	66585
Initial Age:	Approximately 7 days	**Duration of Postdose:**	13 weeks	**Location in CTD**	4.2.3.5.4.4
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Subcutaneous Injection		
GLP Compliance:	Yes	**Vehicle/Formulation:**	Phosphate buffer with mannitol and L-histidine		
Special Features:	None				
No Observed Adverse Effect Level:		Not Established [a]			

Daily Dose (mg/kg) [b]		**0 (Control)**		**1**		**5**		**25**	
Number of Animals Assigned at Birth (in Brackets: Recovery Animals)		**M: 8 (3)**	**F: 8 (4)**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 6 (5)**	**F: 7 (3)**
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}8}$ (µg·hr/mL)	Day 1	NP	NP	1.1	1.5	7.5	7.4	23.0	29.8
	Day 44	NP	NP	1.3	1.1	4.4	3.2	15.4	15.1
	Day 91	NP	NP	1.5	1.6	2.6	3.8	15.1	28.4

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]		**0 (Control)**		**1**		**5**		**25**	
Number of Animals Assigned at Birth (in Brackets: Recovery Animals)		**M: 8 (3)**	**F: 8 (4)**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 6 (5)**	**F: 7 (3)**
Noteworthy Findings									
No. of Animals Alive on Day 1		9	9	5	7	7	5	9	9
Died or Sacrificed Moribund (At Birth to Day 92)		4	6	5	3	3	5	6	4
No. of Animals Alive on Day 92		7	6	3	5	5	3	5	6
Body Weight (%) [c]		8745.7 g	8715.0 g	-11.3	-5.1	-10.0	-1.3	-11.8	+4.2
Food Consumption		--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Signs									
Crown Rump Length (cm)	Day 15	36.7	33.3	35.0	33.8	33.2	33.0	33.9	36.8
	Day 92	67.3	62.7	61.0	64.4	61.4	64.0	62.6	65.5
Electrocardiography		--	--	--	--	--	--	--	--
Ophthalmoscopy		--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology Week 13									
Red Blood Cells (10^{12}/L)		8.74	9.08	8.38	7.65*	7.95	8.09	7.39	7.65*
Hemoglobin (mmol/L)		8.61	9.03	7.73	7.76*	7.82	7.87*	7.10**	7.43**
Hematocrit (%)		42.9	44.8	39.0	39.6	40.0	40.3	36.2*	38.0**
MCHC (mmol/L)		20.2	20.1	19.8	19.7	19.6**	19.5	19.7*	19.7
Platelets (10^9/L)		472	442	549	627	687*	692*	914**	740**
APTT (seconds)		29.9	34.7	31.1	31.3	35.3	34.1	51.2**	36.2
TT (seconds)		23.37	17.00	20.93	22.62	27.90	29.00*	20.32	21.92

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Control)		1		5		25	
Number of Animals Assigned at Birth (in Brackets: Recovery Animals)	**M: 8 (3)**	**F: 8 (4)**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 6 (5)**	**F: 7 (3)**
Clinical Chemistry Week 13								
Globulin (g/L)	13.8	11.0	16.1	13.0	16.3	13.8	17.4	19.9**
Albumin (g/L)	42.6	44.8	40.3	42.4	40.2	44.0	40.4	38.3**
Creatinine (µmol/L)	69.9	60.2	62.7	63.6	54.8*	58.3	50.4**	57.5
Alkaline phosphatase (µkat/L)	4.19	4.19	3.97	3.38	3.49	3.38	3.39	2.57**
Urinalysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Small intestinal weight								
No. Examined	5	2	3	5	5	3	3	4
Absolute weight (g)	187.18	161.35	401.00*	479.80**	458.04*	497.33**	470.90*	474.33**
Small intestinal length								
No. Examined	5	3	3	5	5	3	3	4
Absolute length (cm)	437.3	437.0	599.0	569.8**	609.8*	622.3**	649.0*	572.0*
Large intestinal weight								
No. Examined	5	3	3	5	5	3	3	4
Absolute weight (g)	158.5	213.2	199.8	258.2	228.2	258.6	183.9	241.4
Large intestinal length								
No. Examined	5	3	3	5	5	3	3	4
Absolute length (cm)	158.2	178.7	156.3	177.0	168.8	190.3	158.3	170.8

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Control)		1		5		25	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology								
No. Examined	5	3	3	5	5	3	3	4
Gall bladder								
Cystic mucous hyperplasia								
Total	0	0	3	2	5	3	3	4
Minimal	0	0	1	0	0	1	0	1
Slight	0	0	2	2	3	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	2	1	2	3
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Extrahepatic bile duct								
Cystic mucous hyperplasia								
Total	0	0	0	0	3	0	3	3
Minimal	0	0	0	0	2	0	0	1
Slight	0	0	0	0	1	0	2	2
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Small intestine								
Villous hypertrophy								
Total	0	0	2	2	4	3	3	3
Minimal	0	0	1	2	4	3	3	3
Slight	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Control)		1		5		25	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Injection Site								
Hemorrhage								
Total	1	0	2	2	1	3	2	3
Minimal	1	0	0	0	0	2	0	0
Slight	0	0	1	2	0	1	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	1	0	2	0
Massive	0	0	0	0	0	0	0	3
Inflammation Suppurative								
Total	2	3	1	3	0	1	1	3
Minimal	2	3	0	3	0	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	3
Myofiber Degeneration/Inflammation								
Total	4	1	1	5	5	3	2	4
Minimal	3	1	1	3	1	0	0	0
Slight	1	0	0	2	3	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Marked	0	0	0	0	0	1	1	2
Massive	0	0	0	0	1	0	0	1

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Control)		1		5		25	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology (continued)								
No. Examined	5	3	3	5	5	3	3	4
Injection Site (continued)								
Granulomatous Inflammation								
Total	2	1	0	1	5	3	3	4
Minimal	1	1	0	0	0	0	0	0
Slight	1	0	0	1	2	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	3	2	0	0
Marked	0	0	0	0	0	1	1	2
Massive	0	0	0	0	0	0	2	2
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number Evaluated	2	3	ND	ND	ND	ND	2	2
Body Weight (kg)	15.650	16.600	ND	ND	ND	ND	15.550	16.600
Small intestinal weight								
Absolute weight (g)	230.32	238.82	ND	ND	ND	ND	371.73	352.77
Small intestinal length								
Absolute length (cm)	455.0	457.3	ND	ND	ND	ND	571.5	561.5
Large intestinal weight								
Absolute weight (g)	305.77	375.83	ND	ND	ND	ND	306.47	380.76
Large intestinal length								
Absolute length (cm)	184	213	ND	ND	ND	ND	193	208

2.6.7.15.D 幼若ミニブタ 90 日間反復投与毒性試験（続き）

Study No.: 66585

Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Control)		1		5		25	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number Evaluated	2	3	ND	ND	ND	ND	2	2
Histopathology								
Ileum								
Villous hypertrophy								
Minimal	0	0	ND	ND	ND	ND	1	0
Gall bladder								
Cystic mucous hyperplasia								
Total	0	0	ND	ND	ND	ND	1	2
Slight	0	0	ND	ND	ND	ND	0	2
Moderate	0	0	ND	ND	ND	ND	1	0
Injection Site								
Myofiber Degeneration/ Inflammation								
Minimal	0	1	ND	ND	ND	ND	0	1

APTT = Activated partial thromboplastin time, F = Female, M = Male ND = Not Determined, TT = Thrombin time
* $p<0.05$. ** $p<0.01$ (Dunnett's test)
[a] A NOAEL was not established by the study director in this study due to an increased severity of hyperplasia in the gallbladder and extrahepatic bile ducts at all doses.
[b] Total daily dose was administered in two doses, with approximately 8 hours between doses.
[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Duration of Dosing (Days)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rabbit/New Zealand White	Intravenous, perivenous, intraarterial injection (Phosphate buffer with mannitol and histidine)	25**(iv)**, 0.84 **(pv)**, 25**(ia)**	1	6M	**25 mg/kg (iv):** None **0.84 mg/kg (pv)**: Well-defined erythema cleared by Day 4 **25 mg/kg (ia)**: Well-defined erythema cleared by Day 4	7203-101	4.2.3.6.1

M = Male
iv = Intravenous
pv = Perivenous
ia = Intraarterial

2.6.7.16 局所刺激性試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/site)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Minipig/ Gottingen	Subcutaneous injection (Phosphate buffer with mannitol and L-histidine)	13 days	0, 0, 20, 30, 50, 30[a]	4F [b]	**Daily Dosing** **0 mg/mL (Vehicle A):** Skeletal muscle degeneration, fibrosis, hemorrhage, lymphocyte/macrophages infiltration **0 mg/mL (Vehicle B):** Skeletal muscle degeneration, fibrosis, lymphocyte/macrophages infiltration **20 mg/mL (Vehicle A):** fibrosis, hemorrhage, giant cell and lymphocyte/macrophages infiltration, chronic active inflammation, necrosis, edema **30 mg/mL (Vehicle B):** Very slight to slight edema and atonia; IS discoloration; edema, fibrosis, hemorrhage, giant cell and lymphocyte/macrophages infiltration, chronic active inflammation, necrosis **50 mg/mL (Vehicle B):** Slight edema; atonia; IS discoloration, adhesions and thickening of skin; edema, fibrosis, hemorrhage, giant cell and lymphocyte/macrophages infiltration, chronic active inflammation, necrosis **30 mg/mL (Vehicle B):** Slight edema and atonia; IS discoloration; edema, fibrosis, hemorrhage, giant cell and chronic active inflammation, necrosis	6852-175	4.2.3.6.2

2.6.7.16 局所刺激性試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Minipig/ Gottingen	Subcutaneous injection (Phosphate buffer with mannitol and L-histidine)	13 days	0, 0, 20, 30, 50, 30[a]	4F [b]	**Every Fourth Day dosing** **0 mg/mL (Vehicle A):** Lymphocyte/macrophages infiltration **0 mg/mL (Vehicle B):** Lymphocyte/macrophages infiltration **20 mg/mL (Vehicle A):** Lymphocyte/macrophages infiltration, hemorrhage **30 mg/mL (Vehicle B):** Lymphocyte/macrophages infiltration, hemorrhage, chronic active inflammation **50 mg/mL (Vehicle B):** Lymphocyte/macrophages and giant cell infiltration, hemorrhage, chronic active inflammation, necrosis **30 mg/mL (Vehicle B):** Lymphocyte/macrophages infiltration, hemorrhage, chronic active inflammation	6852-175 (continued)	4.2.3.6.2

F = Female
IS = Injection site
Vehicle A = 35mM sodium phosphate (pH 7.4 ± 0.1), 50mM L-histidine, 3% mannitol in reverse osmosis water.
Vehicle B = 60mM sodium phosphate (pH 7.8 ± 0.1), 20mM L-histidine, 3% mannitol in reverse osmosis water.
[a] Dose achieved by administering smaller volume of the highest concentration of material.
[b] Animals administered different concentrations either daily or every fourth day (four doses). All animals received all concentrations.

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Mouse/BALB/cByJ	Intradermal (Phosphate buffer saline)	3 Weeks	3 x 0.1 or 1 mg/kg	10F	Three deaths: (teduglutide 0.1 mg/kg with adjuvant, teduglutide 1.0 mg/kg with adjuvant, and ovalbumin with adjuvant). Ovalbumin caused a significant increase in ear swelling ($p<0.001$) compared to the vehicle control, no responses in any of the teduglutide groups (0.1 mg/kg and 1.0 mg/kg, with or without adjuvant). Teduglutide did not induce an immunogenic response, as measured by a delayed-type hypersensitivity response.	0711XA27.001	4.2.3.7.1.1
Rabbit/New Zealand White	Subcutaneous or Intramuscular (Phosphate buffer saline)	6 weeks	3 x 0.25 mg	3M, 3F	No deaths. Ovalbumin (positive control) treatment produced the expected antigen-antibody reaction (immunoprecipitin lines). Teduglutide did not produce evidence of an antigen-antibody reaction at all time points. The negative responses (absence of precipitin lines) demonstrate that no antibodies to teduglutide were produced.	47063	4.2.3.7.1.2

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: Teduglutide

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Mouse/CD-1, minipig/Hanford, monkey/Cynomolgus, human whole blood, serum and plasma	NA (Phosphate buffer with mannitol and histidine)	NA	0[a], 0.2, 2, 20 mg/mL	NA	Neither teduglutide (0.2, 2 or 20 mg/mL) nor the vehicle, caused lysis of erythrocytes when mixed with equal volumes of whole blood from mouse, minipig, monkey or caused human, or precipitation or coagulation of mouse, minipig, monkey or human serum or plasma.	7203-102	4.2.3.7.7.1
Cynomolgus monkey	Subcutaneous (Phosphate buffer with mannitol and histidine)	Single dose[b]	0, 10 mg/kg (3 batches)	6F	**0:** Slight increase in mean CRP at 24 hours (0.92 mg/dL) **10 (0 ppm ECP):** Slight increase in mean CRP at 24 hours (0.84 mg/dL) **10 (77 ppm ECP):** Increase in mean CRP at 24 hours (3.35 mg/dL) **10 (124 ppm ECP):** Increase in mean CRP at 24 hours (2.42 mg/dL)	519157	4.2.3.7.7.2

F = Female, M = Male CRP = C-reactive protein, ECP = *E. coli* protein
NA = Not applicable
a – Vehicle was 3.3 mg/mL of phosphate buffer with 28.4 mg/mL of mannitol and 7.5 mg/mL of histidine.
b - Each animal was treated with each batch one time in a Latin Square crossover design with a 7-day washout between doses.