アジョビ皮下注 225 mg シリンジ

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.6 毒性試験の概要文

大塚製薬株式会社

目次

目次 2
略号一覧 3
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 ラットを用いた単回投与毒性試験 7
2.6.6.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 7
2.6.6.2.1 1 ヵ月間毒性試験（08GR354 試験） 7
2.6.6.2.2 3 ヵ月間毒性試験（11LJ014 試験；[redacted] 8244107） 8
2.6.6.3 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 9
2.6.6.3.1 静脈内投与（08GR296 試験）又は皮下投与（09GR293 試験）による 1 ヵ月間毒性試験 9
2.6.6.3.2 3 ヵ月間毒性試験（10SN155 試験；[redacted] 8230269） 10
2.6.6.3.3 6 ヵ月慢性毒性試験（8292076 試験；DS-2015-010） 12
2.6.6.4 遺伝毒性試験 12
2.6.6.5 がん原性試験 13
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 13
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 13
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 14
2.6.6.6.3 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 17
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 17
2.6.6.7 局所刺激性試験 18
2.6.6.8 その他の毒性試験 19
2.6.6.8.1 免疫毒性試験 19
2.6.6.8.2 その他の試験 20
2.6.6.9 考察及び結論 20
2.6.6.10 参考文献 21

略号一覧

略号	省略していない表現
ADA	抗薬物抗体
Anti-KLH	抗キーホールリンペットヘモシアニン
AUC	血漿中濃度 - 時間曲線下面積
cAMP	環状アデノシン一リン酸
CD (3,32)	CD（分化抗原群をクラスタ解析して分類した）分子（CD3，CD32）
CGRP	カルシトニン遺伝子関連ペプチド
CL	血漿全身クリアランス
C_{max}	最高血漿中濃度
CNS	中枢神経系
[redacted]	[redacted]
ECG	心電図検査
EFD (study)	胚・胎児発生試験
Fc-receptors (FcRs)	免疫グロブリン分子の Fc 部位に対する受容体
GD	妊娠日齢
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
His	ヒスチジン
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IHC	免疫組織化学的検査
IgG(1,2)	免疫グロブリン G（1，2）
IL	インターロイキン
iv	静脈内
KinExA	結合平衡除外法
mAb	モノクローナル抗体
NA	該当せず
NOAEL	無毒性量
NZW (rabbit)	ニュージーランドホワイト種（ウサギ品種）
[redacted]	[redacted]
PAMS (staining)	過ヨウ素酸メセナミン銀（染色）
PK	薬物動態
PND	生後日齢
sc	皮下
SD (rat)	Sprague Dawley（ラット）
$t_{1/2}$	消失半減期
TK	トキシコキネティクス
t_{last}	最終測定可能時間
TNF	腫瘍壊死因子
V_{ss}	定常状態時の分布容積

2.6.6　毒性試験の概要文

カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）は，37 個のアミノ酸から構成される神経ペプチドである。α-CGRP と β-CGRP の 2 つの異性体が存在し，動物種全体（マウス，ラット，ウサギ，非ヒト霊長類及びヒト）に広く保存されている。末梢神経系に最も多く認められる異性体は α-CGRP である。一方，β-CGRP は主に腸管神経系に存在する。ヒト化モノクローナル抗体（mAb）であるフレマネズマブは，CGRP を中和し，α-CGRP と β-CGRP の両異性体に直接結合することによって，CGRP 受容体との結合を阻害する。非臨床安全性プログラムの詳細は表 1 に要約する。

フレマネズマブの検討は，非臨床薬理試験，薬物動態（PK）試験及び毒性試験，並びに日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）の S6（R1）ガイドライン「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」[1] 及び ICH M3（R2）ガイドライン「医薬品の臨床試験及び製造販売承認のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」[2] に準拠したプログラムで行われた。毒性試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して，静脈内（iv）投与及び皮下（sc）投与で，並びに週 1 回，最長 6 ヵ月間の sc 投与で実施した。

フレマネズマブは，結合平衡除外法（KinExA 法）による分析で測定されたように，ヒト，カニクイザル（アミノ酸配列がヒトと同一），ラット及びウサギの CGRP と高親和性で結合する（データは表 2.6.2.1-1 に示す）。

組織交差反応性試験を実施し，ラット，ウサギ，カニクイザル及びヒトの組織凍結切片とフレマネズマブとの交差反応性及び結合の可能性を検討した。

心血管系（CV），呼吸器系及び中枢神経系（CNS）に及ぼすおそれのある影響を検討することを目的に，安全性薬理試験（詳細は 2.6.2 を参照）を実施した。試験結果から，単回投与時，及び 300 mg/kg/week までの投与量を週 1 回，最長 6 ヵ月間皮下反復投与時に CV に対して投与に関連する所見は認められなかった。ラットを用いた独立した単回投与試験では，呼吸器系及び CNS に対して検討したパラメータのいずれにも投与に関連した影響はみられなかった。

ヒト細胞（全血）のサイトカイン放出試験では，サイトカイン放出を引き起こす可能性は低いことが明らかとなった。

ヒト全血を用いた in vitro 血液適合性試験を実施したところ，フレマネズマブは溶血性を示さなかった。

表 1 に要約したように，ラット及びカニクイザルを用いた非臨床 in vivo 一般毒性試験でフレマネズマブを検討した。フレマネズマブをラット及びサルの両動物種に週 1 回，最長 3 ヵ月間 iv 投与及び sc 投与し，慢性毒性試験ではサルに最長 6 ヵ月間 sc 投与した。投与時の忍容性は良好で，投与部位病変は軽微であった。ウサギを用いた局所刺激性試験では，sc，iv，筋肉内（im），傍静脈又は動脈内への投与時に，重篤な毒性が生じる可能性はないことが明らかとなった。

ラット及びサルに 300 mg/kg/week までの用量を長期投与したとき，毒性学的懸念あるいは毒性標的器官は特定されなかった。サルを用いた 6 ヵ月間慢性皮下投与毒性試験での最高用量である 300 mg/kg/week が無毒性量（NOAEL）と判断された。この用量での曝露量［血漿中濃度 - 時間曲線下面積（AUC）］から算出した安全域は，ヒトに 225 mg を月 1 回 sc 投与したときの曝露量の 158～232 倍であった。

GLP 準拠のウサギ胚・胎児発生（EFD）毒性試験では，フレマネズマブを 10，50 及び 100 mg

の用量で，妊娠（GD）6 日目，12 日目及び 18 日目に妊娠ウサギに sc 投与したところ，良好な忍容性を示し，いずれの用量群でも胚・胎児毒性又は母動物毒性を示す所見は認められなかった。さらに，GLP 準拠のラットを用いた受胎能及び EFD に関する複合試験を実施したところ，試験データから，検討したすべての用量で，性腺機能，交尾行動，生殖能力，並びに胚・胎児の生存及び発生に対して投与に関連する影響はなかった。ラットに 50，100 及び 200 mg/kg/week で投与した出生前・出生後の発生に関する毒性試験では，出生児の発育に及ぼす毒性所見はみられなかった。幼若ラットに 50，150 及び 450 mg/kg/week で投与した毒性試験では，投与期間を通じて忍容性は良好であり，病理組織学的検査で 150 mg/kg/week 及び 450 mg/kg/week の投与部位に軽度の皮下水腫がみられたが毒性学的意義はないと考えられた。

動物（ラット及びサル）におけるフレマネズマブの PK プロファイルは，ヒト化 IgG2 抗体の典型的なパターンを示した。すなわち，iv 投与時の CL は低く，定常状態における V_{ss} は小さく，$t_{1/2}$ は長かった。曝露量のパラメータである C_{max} 及び AUC は，単回投与時及び週 1 回反復投与時に検討した用量範囲で線形に増加した。曝露量の雌雄差は，ラット及びサルのいずれでも観察されなかった。sc 投与後のラット及びサルの平均全身曝露量（AUC_{168h} を用いて算出）は，同じ用量を iv 投与したときのそれぞれ 65%～67%及び 81%～92%であった。サルを用いた 6 ヵ月間の毒性試験で，回復期の動物を用いて終末相 $t_{1/2}$ を検討した。300 mg/kg/week で 6 ヵ月間投与したときの $t_{1/2}$ の範囲は，雌雄のサルで 330～501 時間であった。

平均全身曝露量と安全性を示す曝露量比を，2.6.4 の表 2 及び表 3 に示す。本申請で報告された安全域は，日本人及び白人の健康被験者を対象に実施した第 I 相単回投与試験に基づいている。当該試験では，フレマネズマブを 225，675 及び 900 mg の用量で sc 投与したときの PK プロファイルの特徴を明らかにした（TV48125-PK-10078）。動物試験で週 1 回投与したときの曝露量を 4 倍して 1 ヵ月の曝露量とし，ブリッジング試験である第 I 相単回 sc 投与試験（TV48125-PK-10078）で 225 mg を sc 投与したときのヒトにおける AUC_{∞} と比較した。これにより，225 mg を単回 sc 投与したときの AUC_{∞} は，定常状態における AUC_t と等しいと推定される。C_{max} における曝露量の比率は，動物に週 1 回投与したときの C_{max} と，片頭痛患者を対象とした試験で投与された最高用量（675 mg を単回 sc 投与）でのヒト C_{max} を比較する。以上から，本文書に示した非臨床安全性データは，慢性片頭痛及び反復性片頭痛患者に対する安全な治療と合致する，フレマネズマブの安全なプロファイルを示すと結論できる。

表 1　　主な毒性試験プログラム

試験番号/ 試験委託者 参照番号	試験/報告書表題	投与経路	GLP 準拠	実施施設	DP のロット番号
毒性試験					
一般毒性					
07AM203[a]	雄ラットを用いた単回投与毒性試験	iv	GLP 非準拠	[redacted]	NA
08GR354	ラットを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	iv	GLP	[redacted]	[redacted]

試験番号/ 試験委託者 参照番号	試験/報告書表題	投与経路	GLP 準拠	実施施設	DP のロット番号
8244107/ 11LJ014	ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	iv/sc	GLP	[redacted]	[redacted]
08GR296	サルを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	iv	GLP	[redacted]	[redacted]
09GR293[a]	雄サルを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	sc	GLP	[redacted]	[redacted]
8230269/ 10SN155	サルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	iv/sc	GLP	[redacted]	[redacted]
8292076/ DS-2015-010	サルを用いた 6 ヵ月間慢性毒性試験（TK 測定及び免疫原性評価を含む）	sc	GLP	[redacted]	[redacted] ; [redacted] ; [redacted] ; [redacted]
生殖発生毒性試験					
09GR291	妊娠ラットを用いた用量設定試験	iv	GLP 非準拠	[redacted]	[redacted]
09GR439	妊娠ラットを用いた用量設定試験	iv	GLP 非準拠	[redacted]	[redacted]
AB20856/ DS-2015-018	ラットを用いた受胎能及び EFD に関する複合試験	sc	GLP	[redacted]	[redacted]
AB20826/ DS-2015-008	妊娠ウサギを用いた用量設定試験（TK 評価を含む）	sc	GLP 非準拠	[redacted][b]	[redacted]
AB20827/ DS-2015-022	ウサギを用いた EFD 試験	sc	GLP	[redacted]	[redacted]
AB21437/ DS-2016-068	ラットを用いた PPND 試験	sc	GLP	[redacted]	[redacted]
AB21873/ DS-2017-034	幼若ラットを用いた用量設定試験（TK 評価を含む）	sc	GLP 非準拠	[redacted]	[redacted]
AB21438/ DS-2017-022	幼若ラットを用いた毒性試験（TK 評価を含む）	sc	GLP	[redacted]	[redacted]

試験番号/ 試験委託者 参照番号	試験/報告書表題	投与経路	GLP 準拠	実施施設	DP のロット番号
局所刺激性試験					
AB21806/ DS-2017-025	ウサギを用いた局所刺激性試験	［sc，iv，筋肉内（im），傍静脈，動脈内］	GLP	[redacted]	[redacted]
その他の毒性試験					
IM1329	ラットの組織を用いた組織交差反応性試験	in vitro	GLP	[redacted] ([redacted])	[redacted]
IM1355	ウサギの組織を用いた組織交差反応性試験	in vitro	GLP	[redacted] ([redacted])	[redacted]
IM1328	サルを用いた組織交差反応性試験	in vitro	GLP	[redacted] ([redacted])	[redacted]
IM1327	ヒト組織を用いた組織交差反応性試験	in vitro	GLP	[redacted] ([redacted])	[redacted]
111320	ヒトにおけるサイトカイン放出試験	in vitro	GLP 非準拠	[redacted]	[redacted]
08GR369	溶血性試験	in vitro	GLP 非準拠	[redacted]	[redacted]

[a] 雄動物のみを使用した 07AM203 試験及び 09GR293 試験を除いたすべての in vivo 試験は，雌雄の動物を用いて実施された。

[b] [redacted]は，20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日に [redacted] によって買収された。

cAMP＝ 環状アデノシン一リン酸；CGRP＝ カルシトニン遺伝子関連ペプチド； [redacted]＝[redacted]；DP ＝ 製剤；EFD ＝ 胚・胎児発生；GLP ＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準;IgG＝ 免疫グロブリン G； iv＝ 静脈内;NA＝ 該当せず;[redacted]＝[redacted]社；PK＝ 薬物動態；sc＝ 皮下；PPND＝ 出生前及び出生後の発生；TK＝ トキシコキネティクス

2.6.6.1 ラットを用いた単回投与毒性試験

（概要表 2.6.7.5，報告書番号 07AM203 試験）

雄ラットを用いた単回投与毒性試験（GLP 非準拠試験）を実施した（07AM203 試験）。

雄ラットにフレマネズマブを 10.7，32 又は 107 mg/kg の用量で iv 単回ボーラス投与した。フレマネズマブ投与後 7 日間，動物を観察した。死亡はなく，一般状態，体重，摂餌量，臨床病理検査所見にフレマネズマブによる影響はみられなかった。また，検査した組織に本薬の投与に関連する病理組織学的所見は認められなかった。血漿中濃度は用量に比例して増加し，最高濃度は概ね投与後 1 時間までに認められた。

2.6.6.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.2.1 1 ヵ月間毒性試験（08GR354 試験）

（概要表 2.6.7.7.1，報告書番号 08GR354 試験）

フレマネズマブを 10，30 又は 100 mg/kg の用量で週 1 回，4 週間連続してラット（各群雌雄 10 例ずつ）に iv 投与した（08GR354 試験）。さらに，溶媒群及び高用量群の別の各群雌雄 5 例ずつを，3 ヵ月間の回復性評価に使用した。フレマネズマブの投与による忍容性は良好で，本試験の投与期間及び回復期間終了時に，死亡，一般状態悪化，投与に関連する一般状態，又は摂餌量，体重，若しくは眼科的検査所見に変化はみられなかった。また，本試験の投与期間及び回復期間終了時の，血液学的検査及び血液生化学的検査，剖検又は病理組織学的検査で投与に関連する所見は認められなかった。投与 1 日目及び 22 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h} から評価）は，用量の増加と共に増加した。概ね，投与 22 日目の全身曝露量（10，30 及び 100 mg/kg/week で投与したとき，雌雄ラット合算の AUC_{168h} は，それぞれ 21300，78800 及び 194000 µg·h/mL）は，投与 1 日目（10，30 及び 100 mg/kg/week で投与したとき，雌雄ラット合算の AUC_{168h} は，それぞれ 13600，34800 及び 108000 µg·h/mL）と同程度かそれよりも高かった。曝露量に明らかな性差はみられなかった。ADA は，投与期終了時の雄 1 例並びに回復期中の雄 2 例及び雌 6 例で検出された。これは，フレマネズマブの血漿中濃度の低下と相関すると考えられる。

週 1 回 4 週間投与し，3 ヵ月間の回復期間を設けたときの SD ラットにおけるフレマネズマブの NOAEL は，本試験の最高用量である 100 mg/kg/week と判断した。NOAEL での全身曝露量（投与 22 日目の投与後の AUC_{168h}）は 194000 µg·h/mL であった。

2.6.6.2.2　3 ヵ月間毒性試験（11LJ014 試験；[redacted] 8244107）

（概要表 2.6.7.7.2，報告書番号 8244107/11LJ014）

SD ラット（各群雌雄 15 例ずつ）にフレマネズマブを 0，30，100 及び 300 mg/kg の用量で iv に，並びに 0 及び 300 mg/kg の用量で sc に，それぞれ週 1 回 3 ヵ月間投与し，その後 4 ヵ月間の回復期を設けた（11LJ014 試験; [redacted] 8244107）。毒性は，死亡率，一般状態，体重，摂餌量，眼科的検査，臨床病理及び解剖病理検査に基づいて評価した。トキシコキネティクス及び免疫原性評価のため血液試料を採取した。

投与に関連する一般状態又は眼科的検査所見は認められなかった。また体重又は体重変化への影響はみられなかった。30，100 又は 300 mg/kg/week を iv 投与した動物で摂餌量がわずかに減少したが，体重への影響がなかったことから毒性学的意義はないと判断した。臨床生化学検査で認められた被験物質に関連する唯一の所見は，100 又は 300 mg/kg/week で iv 投与した雌雄及び各回 300 mg/kg で sc 投与した雌で認められ，それはグロブリン値の軽微な又は軽度の上昇であった。その結果，これらの動物において総タンパク値が高くなり，アルブミン/グロブリン比が低くなった。また 300 mg/kg で iv 投与した雌ではナトリウムの軽微な減少が，100 又は 300 mg/kg/week で iv 投与した雄ではトリグリセリドの軽微な上昇がそれぞれ認められた。回復期間終了時の臨床病理検査結果に，被験物質に関連する所見は認められなかった。また被験物質に関連する器官重量の変化，剖検所見又は病理組織学的所見はみられなかった。

したがって，本試験の NOAEL は，iv 投与と sc 投与のいずれでも最高用量である 300 mg/kg/week である。投与期の 13 週目の C_{max} は，300 mg/kg/week で iv 投与した場合は 4740 µg/mL，同じ用量で sc 投与した場合は 1500 µg/mL であった。300 mg/kg/week で投与したときの AUC_{168h} は，iv 投与では 347000 µg·h/mL，sc 投与では 224000 µg·h/mL であった。

投与 1 日目及び 13 週目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h} により評価）は，用量の増加に伴って

増加した。投与 1 日目と比較すると，週 1 回 iv 投与したときの全体的な平均曝露量（AUC_{168h}）は，13 週目の方が 1.8～3.7 倍高かった。週 1 回 sc 投与したときの投与 13 週目の全体的な平均曝露量は，投与 1 日目よりも 1.8 倍高かった。

300 mg/kg/week で sc 投与したときの投与 1 日目及び 13 週目の平均全身曝露量（AUC_{168h} 値）は，iv 投与時の曝露量のそれぞれ 66.8%及び 64.6%であった。ADA が，高用量群（300 mg/kg/week で sc 投与）の合計 5 例の動物で検出され，ADA 陽性反応は投与期間終了時の 3 サンプル（雄 2 例，雌 1 例）及び回復期終了時の 5 サンプル（雄 3 例，雌 2 例）に認められた。投与期に ADA 陽性反応を示した 3 例の動物はすべて，フレマネズマブの血漿中濃度が低かった。回復期間終了時には，30 mg/kg/week で iv 投与した雌 1 例，及び 300 mg/kg/week で iv 投与した雄 1 例の試料から ADA が検出された。

2.6.6.3 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 静脈内投与（08GR296 試験）又は皮下投与（09GR293 試験）による 1 ヵ月間毒性試験

（概要表 2.6.7.7.3，報告書番号 08GR296）
（概要表 2.6.7.7.4，報告書番号 09GR293）

カニクイザル（各群雌雄 3 例ずつ）にフレマネズマブを 10, 30 又は 100 mg/kg の用量で週 1 回，4 週間連続して iv（ボーラス）投与した（08GR296 試験）。溶媒群及び高用量群ごとに別の雌雄 2 例ずつを用い，3 ヵ月間の回復性の評価を実施した。本試験におけるフレマネズマブの投与による忍容性は良好で，投与期間及び回復期間において死亡，一般状態悪化，投与に関連する一般状態，又は摂餌量，体重若しくは眼科的検査所見の変化は認められなかった。また，本試験の投与期間及び回復期間に，血液学的検査，血液生化学検査，剖検にも投与に関連する所見は認められなかった。100 mg/kg/week 投与群の雌 1 例で回復期間にみられた軽度の胆管過形成（投与期間終了時にはみられなかった）と投与との関連は不明確であったが，対応する臨床病理検査所見がないこと，発現率及び程度は低いものであり，毒性学的意義はないと判断した。投与部位によくみられる軽度の病理組織学的所見（出血，炎症，線維化など）は，本試験では対照群と比較して投与群のサルで多く認められた。これらの所見は回復期間の動物には認められなかったことから，毒性学的意義はないと判断された。

全身曝露量は，投与 1 日目（10，30 及び 100 mg/kg/week を投与したときの雌雄の AUC_{168h} はそれぞれ 21800，59600 及び 193000 μg·h/mL）と比較して，投与 22 日目（10，30 及び 100 mg/kg/week を投与したときの雌雄の AUC_{168h} はそれぞれ 40200，84000 及び 299000 μg·h/mL）では，同程度又は高くなった。本試験の曝露量に明らかな雌雄差はなかった。

本試験のカニクイザルにおけるフレマネズマブの NOAEL は，週 1 回 4 週間 iv 投与し，その後 3 ヵ月間の回復期を設けたときの最高用量である 100 mg/kg/week と判断した。NOAEL での全身曝露量（投与 22 日目の AUC_{168h}）は，299000 μg·h/mL であった。この用量で算出した安全域（AUC に基づく）は，225 mg の臨床用量で月 1 回 sc 投与したときの約 28 倍である。

1 ヵ月間皮下投与毒性試験では，雄のカニクイザル（各群 5 例；主期間は各群雄 3 例，3 ヵ月の休薬期間は各群雄 2 例）にフレマネズマブを 0，100 又は 300 mg/kg の用量で週 1 回投与した

（09GR293 試験）。一般状態，眼科的検査，体重，摂餌量，心電図（ECG），尿検査，剖検及び病理組織学的検査で，被験物質に関連する影響は認められなかった。臨床病理検査データでは，投与期間における総タンパク値及びグロブリン値に被験物質に関連するわずかな上昇が示された。総タンパク値は，300 mg/kg/week 投与群で軽微に上昇したが（ベースラインの平均の 1.07 倍），これは，300 mg/kg/week 投与群の投与 30 日目におけるグロブリン値の上昇（ベースラインの平均の 1.23 倍）に起因する。さらに，リンパ球数の軽微な増加（1.2 倍の増加）が投与 30 日目に高用量群で認められたが，毒性学的意義はないと判断した。回復期間の動物の総タンパク値及びグロブリン値は，正常範囲内であった。

投与 1 日目及び 22 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h} により評価）は，用量の増加に伴って増加し，投与 22 日目の曝露量は投与 1 日目よりも高くなった。100 mg/kg/week から 300 mg/kg/week へ用量が 3 倍になると，投与 1 日目及び 22 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h}）も，用量の増加と近似した割合で増加した（2.5～3.2 倍）。

ADA 陽性反応は，投与 15 日目に 300 mg/kg/week 投与群の 1 例の動物で，投与 29 日目に 100 mg/kg/week 投与群の 1 例に認められた。試験に用いた動物で回復期間に ADA 陽性を示した動物はいなかった。100 mg/kg/week 群の 1 例における ADA の存在は，この群の他の動物と比較すると，投与期の最終週に測定した AUC が約 1/4 に減少したことと相関すると考えられる。ただし，300 mg/kg/week 群の 1 例の ADA と TK 測定結果に明らかな相関関係は認められなかった。

剖検所見又は病理組織学的所見は，いずれの容量にも認められなかった。これらの結果から，NOAEL は 300 mg/kg/week（AUC_{168h} = 515000 μg·h/mL）と判断した。この用量で算出した安全域（AUC に基づく）は，臨床用量である 225 mg を月 1 回 sc 投与したときの約 50 倍である。

2.6.6.3.2　3 ヵ月間毒性試験（10SN155 試験；[redacted] 8230269）

（概要表 2.6.7.7.5，報告書番号 10SN155/8230269）

サルを用いた 3 ヵ月間試験では，カニクイザル（各群雌雄 6 例ずつ）にフレマネズマブを 0，10，100 及び 300 mg/kg の用量で iv に，0，100 及び 300 mg/kg の用量で sc にそれぞれ週 1 回投与し，その後 4 ヵ月間の回復期間を設定した（10SN155 試験；8230269）。フレマネズマブの 3 ヵ月間投与時では，臨床検査，体重，眼科的検査，ECG 検査，体温，血圧，臨床病理検査及び剖検で被験物質に関連する影響はみられなかった。

病理組織学的検査では，眼の毛様体血管周囲の炎症が，300 mg/kg/week で iv 投与群の雄 1 例，300 mg/kg/week で sc 投与群の雄 1 例，及び 100 mg/kg/week で iv 投与群の雌 1 例に認められたが，10 mg/kg/week の iv 投与群又は 100 mg/kg/week の sc 投与群では所見はみられなかった。血管炎を認めた動物の血管周囲炎の程度は軽度であり，さまざまな炎症性細胞（リンパ球，マクロファージ，形質細胞，好中球及び少数の多核巨細胞）がみられた。この炎症は，300 mg/kg/week の iv 投与群の雄及び 100 mg/kg/week の iv 投与群の雌では片眼性であったが，300 mg/kg/week の sc 投与群の雄では両眼に認められた。この炎症が血管周囲に生じたこと並びに炎症の部位及び外景からは免疫介在性反応であることが示されるが，投与との関連性は不明確である。より長期の 6 ヵ月反復投与試験では，眼の毛様体に同様の所見はみられなかった。追加検討として病変のみられた眼に対し，免疫組織化学的検査（IHC）を行い，フレマネズマブ，サルの内在性 IgG，免疫グロブリン M，補体因子 C3 及びアルブミンを含む免疫複合体について検討した。免疫複合体沈着物の

軽度な増加が，血管周囲の炎症が認められた 3 例の動物の毛様体血管の内膜又は中膜あるいはその両方に認められたが，対照動物では免疫組織化学的検査で所見はみられなかった。過ヨウ素酸メセナミン銀（PAMS）染色法を使って眼の切片を染色したところ，iv 投与した 2 例の動物で，前毛様体血管の内膜，内弾性板及び中膜の均一性に変化が認められた。この原因は，血管周囲あるいは血管壁及びその両方への炎症性細胞浸潤による破綻と考えられた。対照動物又は染色で C3 陽性を示した 300 mg/kg/week の sc 投与群の動物には，このような変化はみられなかった。PAMS 染色法での変化は，対照群の雌雄又は 300 mg/kg/week で sc 投与した雄には認められなかった。

回復期間終了時にはいずれの動物にも眼の毛様体血管の周囲に炎症は認められなかった。しかしながら，毛様体血管に認められた炎症と同様の膝関節包の血管周囲の軽微な炎症及び滑膜の炎症が，300 mg/kg/week を iv 投与した回復群の雌 1 例に観察された。この所見は 1 例の動物の投与期間終了時にはみられていないことから，投与との関連性は低いと考えられた。

この炎症が血管周囲に生じたこと（程度は軽微）並びに炎症の部位及び外景観察から，免疫介在反応（ヒト化 mAb に対する免疫原性応答による種特有の反応）であることが考えられたが，サルを用いた 1 ヵ月試験又はより高い曝露における 6 ヵ月試験において本所見は認められていない。このため，これら 3 例の動物の毛様体血管に認められた血管周囲の炎症と投与が関連性は低いものと考えられた。

本試験では高用量群において炎症性変化がみられていることから，各投与経路における NOAEL は，iv 投与では 10 mg/kg/week，sc 投与では 100 mg/kg/week と判断した（サルを用いた 6 ヵ月試験の結果は入手していなかった）。sc 投与の安全域（AUC）を算出したところ，臨床用量である 225 mg を月 1 回 sc 投与したときの 24 倍であった。

投与 1 日目と比較すると，週 1 回 iv 投与したときの全体的な平均曝露量（AUC_{168h}）は，投与 11 週目では 1.6～3.1 倍，投与 13 週目では 1.8～3.6 倍となった。投与 1 日目と比べ，週 1 回 sc 投与したときの全体的な平均曝露量は，投与 11 週目では 1.8～2.8 倍，投与 13 週目では 2.0～3.1 倍となった。週 1 回 iv 投与及び sc 投与したときの投与 1 日目及び投与 13 週目の投与後の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h}）は，用量の増加に伴って増加した。このデータから，本試験の曝露量に明らかな雌雄差はないことが示されている。

100 及び 300 mg/kg/week の皮下投与群の全体的な平均絶対的バイオアベイラビリティは，（本試験の iv 投与後に測定された曝露量に対し）それぞれ投与 1 日目で 80.7%及び 82.3%，投与 11 週目で 85.9%及び 92.0%，投与 13 週目で 81.7%及び 89.3%であった。

投与期間に ADA が 10 例の動物の血清中から検出された。内訳は，対照群の雌 4 例，10 mg/kg/week の iv 投与群の雄 1 例及び雌 2 例，100 mg/kg の iv 投与群の雄 1 例，100 mg/kg の sc 投与群の雄 1 例（投与前にも認められた），及び 300 mg/kg/week の sc 投与群の雄 1 例であった。投与期終了時に ADA が検出された動物は，対照群では 4 例，投与群では 3 例のみであった（10 mg/kg/week の iv 投与群の雌 1 例及び雄 1 例，及び 100 mg/kg/week の sc 投与群の雄 1 例）。回復期間に移行した 2 例の対照動物では，抗体の陽性反応が継続して観察された。回復期間には，ADA は上記以外の雄 1 例及び雌 4 例に検出された。内訳は，100 mg/kg/week の iv 投与群の雌 1 例，100 mg/kg/weeksc 投与群の雄 1 例及び雌 1 例，並びに 300 mg/kg/week の iv 投与群の雌 2 例であった。iv 投与群では，フレマネズマブの曝露に対して ADA の存在による明らかな影響はなかったが，sc 投与群で

は，回復期間だけでなく，特に各投与の 168 時間後の時点で ADA が曝露量に影響を及ぼしたと考えられた。抗フレマネズマブ抗体が溶媒対照群の動物の 33.3%（12 例中 4 例）に検出されたことから，検査方法の特異性に疑問が生じ，ADA 検査結果の妥当性に対する疑問につながった。

ADA 検出方法について，特異性及び薬物耐性の評価法がないため，2.6.4 に記載したように，サルの血清試料を分析するために新規に改良された方法を，ブリッジング ELISA 法を用いてバリデートした。この新分析法において，サル血清中フレマネズマブ濃度が最高 336 µg/mL のとき，1005 ng/mL の陽性対照 ADA を検出することが可能であった。また，サル血清中の遊離 CGRP に対する耐性は最高 1200 ng/mL であった。この新規の方法は，サルを用いた 6 ヵ月慢性毒性試験で使用した（DS-2015-010 試験；8292076）。

2.6.6.3.3　6 ヵ月慢性毒性試験（8292076 試験；DS-2015-010）

（概要表 2.6.7.7.7，報告書番号 DS-2015-010/8292076）

カニクイザルを用いた 6 ヵ月慢性毒性試験を実施した（DS-2015-010/08292076）。雌雄のカニクイザルを 4 群に割り付けた（第 1～第 4 の各群に雌雄 4～6 例ずつ）。フレマネズマブは，各群に投与量を 2 mL/kg として，0（溶媒対照），10，100 又は 300 mg/kg/week で sc 投与した。

評価項目は，死亡率，一般状態，体重，体重の変化，身体的検査，バイタルサイン（体温，呼吸数及び心拍数），血圧測定，眼科的検査，ECG 及び臨床病理検査及び病理学検査に基づいて評価した。TK 及び ADA 分析用に血液を採取した。

投与期間中に死亡例はなかった。一般状態では被験物質に関連する所見はみられず，体重，体重増加，バイタルサイン，血圧測定，ECG 検査，眼科的検査，臨床病理検査でも被験物質に関連する変化はなかった。病理組織学的検査では毒性標的器官はみられず，投与部位における毒性所見も認められなかった。

本試験の NOAEL は，試験に用いた最高用量である 300 mg/kg/week と判断された。この用量での曝露量（AUC 及び C_{max}）に基づいて算出した安全域は，患者あたり 225 mg の用量で投与したときの臨床曝露量と比較すると 156 倍以上である。初回投与（投与 1 日目），投与 85 日目及び 176 日目の雌雄における血漿中濃度 - 時間プロファイルの特徴を明らかにした。さらに，300 mg/kg/week 投与群の回復期間の動物から TK 分析用の血漿試料を採取した。データの解析によって用量の増加に伴って曝露量が増加し，投与 1 日目，85 日目及び 176 日目の曝露量増加は用量比例的と考えられることが示された。すべての用量で，曝露量は投与 85 日目又は 1 日目よりも 176 日目の方が高かった。TK プロファイルに雌雄差を示唆する傾向はみられなかった。最終投与から最長 120 日後まで，回復期間の動物でフレマネズマブの血漿中濃度が測定可能であった（最終試料採取時点のすべての動物の血漿中濃度：18.4～76.7 µg/mL）。フレマネズマブの $t_{1/2}$ の特徴を回復期の動物で明らかにした。300 mg/kg/week で 26 週間投与後，雌雄の $t_{1/2}$ の範囲は 330～501 時間であった。ADA の分析から，合計 6 例の試料が低力価ながら陽性であることが示された（対照群の 12 例中 1 例，中用量群の 8 例中 3 例及び高用量群の 12 例中 3 例）。曝露量に対する明らかな影響はみられなかった。高用量群の 1 例では，ADA が投与前及び回復期間にのみ観察された。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

ICH S6（R1）に記載されたように，医薬品について実施が規定された遺伝毒性試験の範囲と種

類は，バイオテクノロジー応用医薬品には適用されない。このため，フレマネズマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

ICH S6（R1）ガイドライン（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床開発について考察）では，標準的ながん原性試験は，フレマネズマブのようなモノクローナル抗体を含むバイオテクノロジー応用医薬品には，一般的に適切ではないとしている。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

フレマネズマブを用いた受胎能及び胚・胎児発生（EFD）及び生殖発生に関する毒性試験が完了した。

妊娠 SD ラットを用いて 300 mg/kg までの用量で iv 投与した 2 件の用量設定試験（09GR291 試験及び 09GR439 試験）が終了したが，母動物又は胎児に対する毒性は認められなかった。これら 2 件の試験は，GLP 準拠のラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する複合試験の前に実施された。

また，EFD に関する用量設定試験はウサギを用いて実施し，その後に GLP 準拠のウサギを用いた EFD 試験を行った。ヒト，ラット及びウサギでのフレマネズマブの結合親和性試験結果から（2.6.2 にデータを示す），ウサギも毒性試験に適切な動物種と判断された。

さらに，GLP 準拠のフレマネズマブの一般毒性試験では，週 1 回，最長 6 ヵ月間 sc 投与したげっ歯類又は非げっ歯類のいずれにも，生殖器官に毒性所見はみられなかった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験を実施した（DS-2016-068 試験；AB21437）。

幼若ラットを用いた用量設定試験（DS-2017-034 試験；AB21873）及び毒性試験を実施した（DS-2017-022 試験；AB21438）。

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1　妊娠ラットを用いた用量設定試験（09GR291 試験及び 09GR439 試験）

（概要表 2.6.7.11，報告書番号 09GR291）
（概要表 2.6.7.11，報告書番号 09GR439）

用量設定試験である 09GR291 試験（GLP 非準拠試験）では，受胎日既知の Sprague-Dawley［Crl:CD（SD）］ラット 8 例を 1 群とする 3 群に，フレマネズマブを妊娠 6 日目及び 12 日目に iv 投与した。用量 10，30 及び 100 mg/kg で投与量 10 mL/kg として投与した。同様に 8 例で構成された 1 群に，同じ投与経路と投与レジメンで溶媒を投与し，対照群とした。一般状態，体重及び摂餌量を観察した。生存ラットは，すべて妊娠 21 日目に帝王切開した。妊娠子宮の重量を測定し，正味の体重変化を算出した。黄体数，着床数，早期吸収胚数及び後期吸収胚数，生存胎児数及び死亡胎児数を記録した。胎盤は肉眼で観察した。各胎児の性別判定及び体重測定を行い，外表，内臓及び骨格の発生について検査を行った。上記の結果から，検討した評価項目において母動物又は胎児に対する毒性を示す証拠は示されなかった。採取した試料数は少なかったが，10～100 mg/kg での 2 回目の iv 投与後では用量の増加に伴って曝露量が増加することが確認された。胎児と母体の曝露量の比は用量の増加に伴って低下すると考えられ，10，30 及び 100 mg/kg で投与したときの

値はそれぞれ 1.95，0.6 及び 0.14 であった。

2 試験目のラットを用いた用量設定試験（09GR439 試験，GLP 非準拠試験）では，フレマネズマブを妊娠 SD ラットに妊娠 6，9，12 及び 15 日目に 150 mg/kg の用量で，妊娠 6 及び 12 日目に 300 mg/kg の用量で iv 投与した。検討した評価項目において，母動物又は胎児に対する毒性は見られなかった。150 mg/kg で週 2 回投与（妊娠 6，9，12 及び 15 日目）又は 300 mg/kg で週 1 回投与（妊娠 6 及び 12 日目）したところ，全身曝露量は同程度となった（妊娠 6 日目から 21 日目の AUC で評価）。両投与群とも妊娠 13 日目に t_{max} が観察され，150 mg/kg 週 2 回投与又は 300 mg/kg 週 1 回投与で報告された C_{max} 値は，それぞれ 1568 及び 2095 µg/mL であった。ラットにおけるこの曝露量は，1 時間かけて 900 mg を単回投与したときのヒト臨床 C_{max} 値（第 I 相 LBR-101-011 試験）である 185 µg/mL よりも 8～11 倍高い。帝王切開時（妊娠 21 日目）の胎児の曝露量も母動物への曝露量と併せて，すべての同腹仔について観察した。胎児と母動物の血漿中濃度比は，150 mg/kg 群及び 300 mg/kg 群で同程度であり，それぞれ 0.07 及び 0.08 であった。

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する複合試験（AB20856 試験；DS-2015-018）

（概要表 2.6.7.12，報告書番号 AB20856/ DS-2015-018）

GLP 準拠のラットを用いた受胎能及び EFD に関する複合試験（各群雌雄 24 例ずつ）が終了した。本試験（DS-2015-018 試験；AB20856）の主要目的は，フレマネズマブを 50，100 及び 200 mg/kg/week の用量で，ラットの配偶子形成期から交配期間，さらに硬口蓋の閉鎖までの期間，週 1 回 sc 投与したときの，雌雄の生殖能力及び胚胎児発生に及ぼす影響を評価することであった。母動物の全身曝露量も検討した。

本試験の用量は，非妊娠ラットに 300 mg/kg/week までの用量で iv 投与又は sc 投与した 3 ヵ月間毒性試験に基づいて選択した。当該試験では，フレマネズマブの動態が線形を示すと仮定すると，予定した高用量（200 mg/kg/week）での曝露量は，225 mg の用量で sc 投与したときのヒト曝露量の約 45 倍と予想された。

試験期間を通じて，雌雄の一般状態，体重及び摂餌量を観察した。性周期は，投与開始前から交尾が成立するまでの期間を通して，膣スメアで毎日観察した。各群の雄 9 例及び雌 9 例（各群雌雄 9 例ずつ）から TK 解析用血液試料を，投与初日及び投与最終週の剖検前に採取した。受胎した雌への投与は妊娠 0，6，12 及び 17 日目に実施し，妊娠 20 日目に帝王切開時検査を行い，胎児の検査を行った。また卵巣重量を記録した。雄は投与終了後に剖検した。精巣及び精巣上体は，重量測定後，精子検査に使用した。

剖検時には，雌は肉眼観察後，妊娠子宮の重量を測定した。すべての胎児の体重を測定し，性別判定及び外景異常の有無の検査を行った。各同腹児の半数の胎児について，内臓異常の有無を検査した後，骨格検査用に処理した。残りの半数の胎児は，連続切片による頭部の内臓検査用に固定処理した。

以上の測定及び検査結果から，上述した評価項目のいずれにも投与に関連する所見は示されなかった。フレマネズマブは，受胎能への影響，親動物毒性及び次世代毒性を示さなかった。フレ

マネズマブに関連する胚胎児生存性への影響，骨格又は内臓検査における発生異常は認められなかった。以上のことから，親動物及び胚・胎児の発生に対する NOAEL は，本試験の高用量である 200 mg/kg/week と判断された。

この用量での C_{max} 及び AUC_t 値は，投与 9 週目の雄（合計 10 回投与）でそれぞれ 3530 µg/mL 及び 460000 µg·h/mL，妊娠 17 日目の雌（合計 8 回投与）でそれぞれ 2060 µg/mL 及び 95500 µg·h/mL であった。雄ラットと比較して雌ラットの曝露量が低値であった原因は，妊娠期間及び分娩後の雌で IgG mAb の $t_{1/2}$ が雄の $t_{1/2}$ より短かったためと考えられる [3]。

曝露量（AUC）に基づいて算出した安全域は，ヒトに 225 mg の用量で sc 投与したときの曝露量と比較すると，雄で 43 倍以上，雌で 8.9 倍以上である。ただし，雌ラットの安全域は，最後のサンプルが週 1 回投与の投与間隔である 7 日後ではなく，投与後 72 時間（その後これらの動物に帝王切開時検査を行った）に採取されたため，過小評価された可能性があることを考慮しなければならない。

2.6.6.6.2.2 妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（AB20826 試験；DS-2015-008）

（概要表 2.6.7.11，報告書番号 AB20826/ DS-2015-008）

ニュージーランドホワイト（NZW）妊娠ウサギを用いた EFD 試験の用量設定試験（DS-2015-008 試験；AB20826，GLP 非準拠試験）を実施した。動物にフレマネズマブを 0，50，100 及び 200 mg/kg の用量で 6 日間ごとに 1 回（妊娠 6，12 及び 18 日目），1～2 ヵ所に sc 投与した。

本試験の目的は，次に実施するウサギの EFD 試験のために，適切な用量を選択できるようにするデータを得ること，及び規定した試験条件下での全身曝露量を評価することであった。TK 評価も含めた。雌ウサギを 5 群（各群 6 例）に割り付けた。試験デザインについては，以下の表 2 を参照。

表 2　　胚・胎児発生に関する用量設定試験のデザイン

群/投与	用量（mg/kg）	投与量（mL/kg）	投与部位の数	投与部位あたりの投与量（mL/kg）
1.対照	0	4	2	2
2.低用量	50	1	1	1
3.中用量I	100	2	2	1
4.中用量II	100	2	1	2
5.高用量	200	4	2	2

本試験の結果から，本試験の条件下でフレマネズマブを妊娠ウサギに sc 投与したところ，良好な忍容性が示され，いずれの用量でも母動物に対する明らかな毒性は誘発されなかった。胚・胎児に対する毒性を示す明らかな所見はいずれの投与群にも認められなかった。1 ヵ所に投与した動物と 2 ヵ所に分けて投与した動物の間に差異はみられなかった。

フレマネズマブの血漿中濃度が投与後 144 時間まで定量可能であったことから，本試験期間を通して，測定可能な濃度のフレマネズマブに動物が曝露していたことが示された。sc 投与部位からの吸収は緩徐で，フレマネズマブの最高血漿中濃度は概ね投与後 24～144 時間に観察された。C_{max} 及び AUC は，妊娠 6 日目及び 18 日目の両日で用量の増加に伴って増加した。妊娠 6 日目のフレマネズマブの全身曝露量は，50～200 mg/kg の範囲で用量比例的に増加したと考えられる。妊

娠 18 日目のフレマネズマブの全身曝露量は，50～100 mg/kg の範囲で用量比例的に増加し，100～200 mg/kg の範囲では，用量比例的増加割合を下回ったと考えられる。50 及び 100 mg/kg を投与したときの AUC 値は，妊娠 6 日目よりも 18 日目の方が高かったが，200 mg/kg を投与したときの AUC 値は，妊娠 6 日目と妊娠 18 日目で同程度であった。

2.6.6.6.2.3　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（AB20827 試験；DS-2015-022，GLP 準拠試験）

（概要表 2.6.7.13，報告書番号 AB20827/DS-2015-022）

EFD 試験では，24 例の交配した雌ウサギ（主試験群 20 例，サテライト群 4 例）に対し，フレマネズマブを 10，50 及び 100 mg/kg の用量で妊娠 6，12 及び 18 日目に sc 投与した（DS-2015-022 試験；AB20827）。

投与関連の一般状態又は投与部位に異常はみられず，平均体重又は摂餌量への悪影響はいずれの投与群でもみられなかった。剖検時，いずれの群でも投与に関連する肉眼的変化は認められなかった。

主試験では，最終帝王切開時の妊娠個体数は，対照群で 20 例中 17 例，10 mg/kg 投与群で 20 例中 17 例，50 mg/kg 投与群で 20 例中 14 例，100 mg/kg 投与群で 19 例中 14 例であり，これらのうち，100 mg/kg 群の 1 例を除いたすべての妊娠個体で生存胎児が認められた。フレマネズマブの中用量群及び高用量群の妊娠率が比較的低いのは偶発的であり，本薬との関連はないと判断される。その理由は，投与は着床後に開始しており，着床前及び着床後の死亡の徴候が認められなかったためである。

しかしながら，ICH S5（R2）ガイドラインに準拠し，各群で 16 例以上を評価するために，スポンサーは別の試験フェーズを設定し，対照群，中用量群及び高用量群に新たに追加した動物を使った試験を実施した。新たに追加された試験段階では，最終的帝王切開時の妊娠個体数は，対照群で 8 例中 8 例，50 mg/kg 投与群で 7 例中 7 例，100 mg/kg 投与群で 8 例中 8 例であり，このうち，50 及び 100 mg/kg 群の各 1 例を除いたすべての妊娠個体で生存胎児が認められた。合計すると，最終的帝王切開時の妊娠個体数は，対照群で 28 例中 25 例，10 mg/kg 投与群で 20 例中 17 例，50 mg/kg 投与群で 28 例中 21 例，100 mg/kg 投与群で 27 例中 22 例であった。

上記の結果から，妊娠 6 日目，12 日目及び 18 日目にフレマネズマブを 10，50 又は 100 mg/kg の用量で妊娠ウサギに sc 投与したときの忍容性は良好であり，検討した用量のいずれでも母動物に対する毒性は誘発されなかった。検討した用量のいずれでも，胚・胎児発生に対する明らかな形態学的影響を含む毒性作用は無かったため，母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL は，本試験で検討した最高用量である 100 mg/kg であると判断した。この用量での AUC_{144h} は 215000 μg·h/mL であり，算出した安全域は，ヒトに 225 mg を月 1 回 sc 投与したときの曝露量と比較すると，20 倍であった。

胎児の血漿中濃度は，本試験の妊娠 25 日目に測定した。100 mg/kg を投与したときの母動物の曝露量と比較した胎児の曝露量は，妊娠 18 日目の最終投与時に測定した C_{max} 値の約 9%であり，測定可能な最終濃度が認められた時点である妊娠 18 日目の投与後 144 時間の値の約 23%であった。

2.6.6.6.3　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

2.6.6.6.3.1　ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験（AB21437 試験；DS-2016-068）

（概要表 2.6.7.14，報告書番号 AB21437）

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する本試験（DS-2016-068 試験；AB21437）では，フレマネズマブを 0，50，100 及び 200 mg/kg の用量でラットの妊娠 6 日目から離乳時［生後 21 日目］まで sc 投与した場合の，母動物及び出生児への影響を評価した。また，TK 用の血液試料を採取し，母動物及び出生児の曝露量を確認した。

本試験期間において，母動物又は胚・胎児に対するフレマネズマブ関連の毒性は認められなかった。母動物へのフレマネズマブ投与は，F1 出生児の性成熟及び出生後の発育に影響を及ぼさなかった。

フレマネズマブの血漿中濃度は緩徐に上昇し，投与後 24～72 時間に t_{max} に達した。すべての群で，血漿試料の最後の濃度測定時点は投与後 120 時間であり，これは血液の最終採取時点であった。フレマネズマブの単回及び反復皮下投与時の曝露量（C_{max} 及び AUC_t）は用量比例的に増加した。すべての用量で，妊娠 6 日目から生後 21 日目までフレマネズマブの C_{max} 及び AUC_{last} 値は同程度であったが，生後 4 日目の値はわずかに低かった。平均すると，すべての用量で母動物のフレマネズマブ濃度は，出生児と比較して生後 4 日目で 1.3～1.6 倍，生後 21 日目で 2.1～2.5 倍であった。生後 4 日目と生後 21 日目の濃度比の差はすべての用量で一貫しており，妊娠期間及び分娩後の雌ラットで報告された IgG mAb の $t_{1/2}$ の短縮に起因すると考えられる [3]。

いずれの用量でもフレマネズマブに関連する影響がなかったことから，ラットの胚・胎児発生及び出生前・出生後の発生，並びに出生児の生殖能力に対する NOAEL は 200 mg/kg であると判断した。200 mg/kg の用量での AUC_{120h} は 147000 μg·h/mL となり，算出した安全域は，ヒトでの 225 mg 投与時の曝露量と比較して 14 倍であった。C_{max} から算出した安全域は，ヒトに 675 mg を sc 投与したときに測定された最高濃度の 13 倍である。

2.6.6.6.4　幼若動物を用いた試験

2.6.6.6.4.1　幼若ラットを用いた用量設定試験（AB21873 試験；DS-2017-034）

（概要表 2.6.7.11，報告書番号 AB21873/DS-2017-034）

用量設定試験（AB21873 試験；DS-2017-034，GLP 非準拠試験）では生後 28 日目のラット雌雄各 8 例を 1 群とする計 4 群に，フレマネズマブを PND28 から PND63 までの週 1 回，合計 6 回（生後 28，35，42，49，56，63 日）sc 投与した。用量は 0，50，150 及び 450 mg/kg として投与した。評価項目として一般状態，体重，摂餌量，臨床病理学的検査，剖検，生後発達（体重及び脛骨長で評価），性成熟検査（膣開口日及び陰茎亀頭包皮開裂日）を設定した。また，TK 用の血液試料を採取し，全身曝露量を評価した。本試験の条件下では，投与部位に一過性のごく軽度から境界明瞭な水腫がみられたのみであり，いずれの投与用量においてもフレマネズマブ投与による忍容性は良好であった。よって次に実施する幼若毒性試験における最高投与量は 450 mg/kg が選択された。

2.6.6.6.4.2　離乳後の幼若ラットを用いた週一回皮下投与による毒性試験（AB21438 試験；DS-2017-022）

（概要表 2.6.7.15，報告書番号 AB21438/DS-2017-022）

幼若動物を用いた毒性試験（AB21438 試験；DS-2017-022）を実施した。生後 28 日目のラット雌雄各 20 例を 1 群とする計 4 群に，フレマネズマブを 0，50，150 及び 450 mg/kg/week の用量で生後 28 日から生後 63 日までの週 1 回，合計 6 回（生後 28，35，42，49，56，63 日）sc 投与し，さらに 6 週間の休薬群を設けた。

投与期間を通じてフレマネズマブ投与による忍容性は良好で，主に 450 mg/kg/week 群の投与部位に軽度の一過性の水腫がみられたのみであった。150 及び 450 mg/kg/week 群の投与部位にみられた所見は，病理組織学的に皮下水腫及び亜急性炎症であったが毒性学的意義はないと考えられた。生後発達（体重，脛骨長及び骨密度），神経行動学的発達，性成熟及び交配能への影響は試験期間を通じて異常はみられなかった。臨床病理学的検査では，リンパ球数減少及びごく軽度のグロブリン値の上昇及び A/G 比の減少がみられたが，これらの所見は循環血中にフレマネズマブ（モノクローナル抗体）が存在することによる影響と考えられた。全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{168h} により評価）は，雌雄ともに 50，150 及び 450 mg/kg/week 群の用量に従って増加していた。フレマネズマブの週 1 回の反復投与により雌雄ともにいずれの投与群においても蓄積性を示した。

以上の結果から，NOAEL は最高用量の 450 mg/kg/week と判断した。

2.6.6.7　局所刺激性試験

（概要表 2.6.7.16，報告書番号 AB21806/DS-2017-025）

フレマネズマブの毒性プログラムでは，臨床投与経路として利用する iv と sc の一般毒性試験を実施しているため，それらの試験結果から投与部局所の忍容性を評価した。投与部位に関連してよくみられる軽微な病理組織学的所見が，対照群のサルに対し投与群で多く認められた。これらの所見は一過性のものであり，回復期間の動物には認められず，毒性所見ではないと判断された。サルを用いた 6 ヵ月間慢性毒性試験（DS-2015-010 試験）では，100 mg/kg 以上で投与した雌のすべての sc 投与部位に，軽微な血管周囲性単核細胞浸潤が認められた。これらの病変は雄では認められず，毒性所見ではないと判断した。

さらに，別途実施したウサギを用いたフレマネズマブの局所刺激性試験（DS-2017-025 試験；2.6.7.16）において，さまざまな投与経路を用いて実施した。NZW ウサギを 2 群に割り付け，各群雄 6 例とした。1 群には，動脈内及び筋肉内に 150 mg/mL の用量で単回投与し，2 群には，傍静脈，sc 及び iv に単回投与した。動物の右側には媒体，左側にはフレマネズマブを投与した。投与後 24 時間又は 96 時間（すなわち，投与 2 日目又は 5 日目）に動物を剖検した（3 例/群，それぞれの投与経路）。5 つの投与経路のいずれでも投与に関連する一般状態影響はみられず，溶媒対照の投与部位と比較においても影響は認められなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　免疫毒性試験

2.6.6.8.1.1　組織交差性試験

（概要表 2.6.7.17，報告書番号 IM1329, IM1355, IM1328, IM1327）

4 本の試験を実施し，Sprague Dawley ラット（IM1329 試験），ウサギ（IM1355 試験），カニクイザル（IM1328 試験）及びヒト（IM1327 試験）の組織の凍結切片に対し，フレマネズマブが示す可能性のある交差反応性及び結合性を 2 つの濃度（2 及び 20 µg/mL）で評価した。

これらの試験で使用した一連の組織は，「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」（PTC FDA 1997）[4] の推奨に従って選択した。概ね，検討した動物種全体で類似した染色パターンが認められた。フレマネズマブによる組織反応性がみられたのは，ラット及びサルの組織では甲状腺のコロイド，濾胞上皮及び傍濾胞（C）細胞，ウサギでは甲状腺（少数の傍濾胞［C］細胞）及び副甲状腺（少数の上皮細胞）であった。ヒト正常組織では，下垂体（前葉）の上皮と特異的に結合したことから，CGRP が下垂体の性腺刺激ホルモン分泌細胞によって産生・貯蔵されるという見解が裏付けられた [5]。動物種間の軽微な差異は，試料数が少なかったこと，検査したヒト甲状腺の傍濾胞細胞が非常に少なかったこと，並びにサル及びウサギでは染色の程度が弱かったことが原因であった可能性が考えられた。ラット，ウサギ，サル又はヒトでは，標的組織以外の組織との結合性は認められなかった。

フレマネズマブと適切な陽性対照との結合性，陰性対照物質との特異的反応性の欠如及び試験の再現性から，これらの試験は十分な感度と特異性を有することが示された。

2.6.6.8.1.2　ヒト全血を用いたサイトカイン放出試験

（概要表 2.6.7.17，報告書番号 111320）

IgG2 モノクローナル抗体であるフレマネズマブ（ロット番号 [redacted]）が炎症性サイトカインの放出を引き起こすことについて，サイトカイン濃度のベースの低いヒト全血を用いた探索的 GLP 非準拠試験で検討した（少なくとも 1 週間の休薬期間を設けた；111320 試験）。このサイトカイン放出試験は，131 His/His 対立遺伝子を保有し CD32 多型を認める 2 名を含む，健康な 8 名のドナーから得た全血を用いて実施した。マウス IgG1 抗ヒト CD3 抗体（5 及び 50 µg/mL）を陽性対照として使用し，抗 KLH IgG2 抗体（100 µg/mL）及び Dulbecco リン酸緩衝食塩水を陰性対照として使用した。100 µg/mL までの濃度で検討したところ，フレマネズマブはいずれのドナーの全血でもサイトカイン［TNFα，IL6，IFNγ 又は IL-1β］の顕著な放出を誘発しなかった。試験系の妥当性は，陽性対照とともにインキュベーション後にみられた反応から確認したが，本探索試験において抗 KLH IgG2 抗体（100 µg/mL）又は Dulbecco リン酸緩衝食塩水のいずれからもシグナルは得られなかった。

またフレマネズマブは，非免疫性かつ可溶性（非細胞結合性）の物質を標的とする IgG2 のアイソタイプであるため，臨床使用でのサイトカイン放出リスクは低いと判断された。

2.6.6.8.2　その他の試験

2.6.6.8.2.1　溶血性試験

（概要表 2.6.7.17，報告書番号 08GR369）

フレマネズマブの in vitro 血液適合性試験（GLP 非準拠試験）は，ヒト全血を用いて実施した（08GR369 試験）。フレマネズマブは，25.5 mg/mL までの濃度で溶血性を示さなかった。

2.6.6.9　考察及び結論

フレマネズマブを一連の毒性試験で評価した。試験を GLP に準拠して実施し，iv 及び sc の投与経路で週 1 回，最長 6 ヵ月間投与した。

in vitro 試験では，フレマネズマブ（100 μg/mL 以下の濃度）はサイトカイン放出の刺激能を示さず，また検討した最高濃度である 25.5 mg/mL までの濃度で溶血能を示さなかった。

フレマネズマブは，結合平衡除外法（KinExA 法）及び SPR 法（表面プラズモン共鳴法）のいずれの測定法でも示されたように，ヒト，カニクイザル（アミノ酸配列がヒトとほぼ同じ），ラット及びウサギの CGRP と高親和性で結合する。このため，安全性を評価するための適切な動物種として，ラット及びサルを選択した。サルは，反復投与に対する免疫原性応答が弱く，カプサイシン刺激による皮膚発赤モデルでフレマネズマブ投与に明確に反応したことから，長期試験用に選択した。

生命維持機能に及ぶ可能性のある影響を評価する安全性薬理試験では，安全性に関する懸念は示されなかった。

表 1 に要約したように，フレマネズマブを SD ラット及びカニクイザルを用いて一連の非臨床 in vivo 試験で検討した。フレマネズマブをラット及びサルに最長 3 ヵ月間，iv 又は sc 投与し，サルを用いた 6 ヵ月間慢性毒性試験では sc 投与した。これらの試験のすべてで投与に対する忍容性は良好で，投与部位病変は軽微であった。また，サルに 300 mg/kg/week までの用量で反復投与したところ，毒性学的懸念又は標的器官は認められなかった。算出した安全域は，225 mg を月 1 回 sc 投与したときのヒト曝露量の 158 倍以上である。

iv や sc 以外の投与経路でウサギに投与した，局所刺激性試験でも，一般毒性試験の結果と同様に，病理組織学的に毒性所見はみられなかった。

一連の生殖発生毒性評価項目を，ラット（受胎能，EFD 及び出生前・出生後の発生）及びウサギ（EFD）を用いて検討した。これらの試験のいずれでも，胚・胎児毒性を示す証拠は認められなかった。この結果から，検討したいずれの用量でも，交尾行動，生殖能力並びに胚・胎児の生存及び発生に対する投与関連の影響は示されなかった。幼若ラットを用いた毒性試験では，投与期間を通じて忍容性は良好であり，投与部位に軽度の皮下水腫がみられたが毒性学的意義はないと考えられた。

動物（ラット及びサル）におけるフレマネズマブの PK は，ヒト化 IgG2 分子に典型的なものであり，平均 CL は低く，V_{ss} は小さく，$t_{1/2}$ は長い。単回投与及び週 1 回反復投与後，C_{max} 及び AUC で規定される曝露量は，用量増加に対し線形に増加した。ラット又はサルでは，曝露量の雌雄差はみられなかった。ラット及びサルに sc 投与したときの平均全身曝露量（AUC_{168h} を用いて算出）は，同じ用量で iv 投与したときの，それぞれ 65%～67%及び 81%～92%であった。フレマネズマ

ブの $t_{1/2}$ の特徴は，6 ヵ月間毒性試験の回復期間の動物で明らかにした。300 mg/kg/week の用量で 6 ヵ月間投与したときの $t_{1/2}$ の範囲は，雌雄とも 330～501 時間であった。

投与に応答した ADA の産生がラットで検出され，ラットは慢性毒性試験では選択しなかった。サルで ADA の産生が低い割合で認められたものの，曝露量への影響はなく，当該試験の妥当性及び結論を損なうものではなかった。ヒト化抗体を投与したサルにおける ADA の産生は予想されるものであり，ヒト体内ではヒト化したアミノ酸配列が異物でないことを考慮すると，サルでの ADA 産生は，ヒトでの安全性に対する懸念はないものと考えられた。

結論として，フレマネズマブの投与に対する忍容性は，検討したすべての動物種において実施可能な最高用量まで良好であり，最高用量での曝露量はヒトで予定される曝露量よりはるかに高く，毒性標的器官は認められなかった。以上のように，非臨床安全性データから，ヒトへの使用における本薬の安全性上の懸念は低いと推測された。

2.6.6.10　参考文献

1 ICH Topic S6 (R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf

2 ICH Topic M3 (R2) - Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization For Pharmaceuticals. June 2009. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M3_R2/Step4/M3_R2_Guideline.pdf

3 Hubbard JJ, Laurenzana EM,Williams DK, Gentry WB, Owens SM. The fate and function of therapeutic antiaddiction monoclonal antibodies across the reproductive cycle of rats. J Pharm Exp Ther 2011;336(2):414-22.

4 Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use, FDA, 1997 (PTC 1997). Available from: http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/OtherRecommendationsforManufacturers/UCM153182.pdf

5 Gon G, Giaid A, Steel JH, O'Halloran DJ, Van Noorden S, Ghatei MA, et al. Localization of immunoreactivity for calcitonin gene-related peptide in the rat anterior pituitary during ontogeny and gonadal steroid manipulations and detection of its messenger ribonucleic acid. Endocrinology 1990;127:2618-29.

アジョビ皮下注 225 mg シリンジ

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験概要表

大塚製薬株式会社

目次

目次 2

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 10
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 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：主要な試験以外の試験 17
2.6.7.7 反復投与毒性試験：主要な試験 18
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 36
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 36
2.6.7.10 がん原性試験 36
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：主要な試験以外の試験 37
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 39
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 43
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機能に関する試験 45
2.6.7.15 生殖発生毒性試験：幼若試験 49
2.6.7.16 局所刺激性試験 53
2.6.7.17 その他の毒性試験 54

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（1）　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
単回投与毒性試験	ラット/Sprague-Dawley	iv	単回投与	0，10.7，32，107 mg/kg	非準拠	[redacted]所在地は不明）	07AM203	4.2.3.1-01（参考資料）
反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD（SD）	iv	週1回1ヵ月投与及び3ヵ月間回復期	0，10，30，100 mg/kg	準拠	[redacted]	08GR354	4.2.3.2-01
	ラット/Crl:CD（SD）	iv，sc	週1回3ヵ月投与及び4ヵ月間回復期	iv：0，30，100，300 mg/kg sc：0及び300 mg/kg	準拠		8244107/11LJ014	4.2.3.2-02
	カニクイザル	iv	週1回1ヵ月投与及び3ヵ月間回復期	0，10，30，100 mg/kg	準拠		08GR296	4.2.3.2-03
	カニクイザル	sc	週1回1ヵ月投与及び3ヵ月間回復期	0，100，300 mg/kg	準拠		09GR293	4.2.3.2-04
	カニクイザル	iv，sc	週1回3ヵ月投与及び4ヵ月間回復期	iv：0，10，100，300 mg/kg； sc：0，100，300 mg/kg	準拠		8230269/10SN155	4.2.3.2-05
	カニクイザル	sc	週1回26週間投与及び16週間回復期	0，10，100，300 mg/kg	準拠		8292076/DS-2015-010	4.2.3.2-06

2.6.7.1　　**毒性試験**　　**一覧表（2）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	
遺伝毒性試験	ICH ガイドライン S6 に記載されたように，医薬品について実施が規定された遺伝毒性試験の範囲と種類は，バイオテクノロジー応用医薬品には適切ではない。このため，フレマネズマブを用いた遺伝毒性試験は実施しなかった（ICH Topic S6(R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf）。
がん原性試験	がん原性試験は実施しなかった。ICH S6（R1）ガイドライン（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床開発についての考察）では，フレマネズマブのようなモノクローナル抗体を含むバイオテクノロジー応用医薬品の場合，標準的ながん原性試験は一般的に適切ではないとしている（ICH Topic S6(R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf）。

2.6.7.1　　**毒性試験**　　**一覧表（3）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
生殖発生毒性試験	用量設定試験							
	妊娠ラット/Crl:CD（SD）	iv	週1回（GD 6及び12），2週間	0，10，30，100 mg/kg	非準拠	[redacted]	09GR291	4.2.3.5.2-01（参考資料）
	妊娠ラット/Crl:CD（SD）	iv	用量0又は300 mg/kgで週1回（GD 6及び12），2週間 用量150 mg/kgで週2回（GD 6，9，12及び15），2週間	0，150，300 mg/kg	非準拠		09GR439	4.2.3.5.2-02（参考資料）
	妊娠ウサギ/ニュージーランドホワイト種 LAGO:INRA 1077 (Nzw) SPF	sc	6日ごとに1回（GD 6，12及び18），3週間	50及び100 mg/kg：1ヵ所の注射部位に投与 0，100及び200 mg/kg：2ヵ所の注射部位に分けて投与。	非準拠	[redacted]	AB20826/DS-2015-008	4.2.3.5.2-03（参考資料）
	幼若ラット/Crl:OFA（SD）	sc	週1回（PND28，35，42，49，56，63）計6回投与	0，50，150，450 mg/kg	非準拠	[redacted]	AB21873/DS-2017-034	4.2.3.5.4-01（参考資料）
	受胎能及び胚・胎児発生試験							
	ラット/Crl:OFA（SD）	sc	雄：交配前4週間～剖検まで週1回（10回投与） 雌:交配前2週間～交配中まで週1回, 妊娠期間はGD 0, 6，12及び17（最大8回投与）	0，50，100，200 mg/kg	準拠	[redacted]	AB20856/DS-2015-018	4.2.3.5.1-01

2.6.7.1　　**毒性試験**　　**一覧表（4）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
生殖発生毒性試験	胚・胎児発生試験							
	ウサギ/ニュージーランドホワイト種 LAGO:INRA 1077（Nzw）SPF	sc	6日ごとに1回（GD 6，12及び18），3週間	0，10，50，100 mg/kg	準拠	[redacted]	AB20827/DS-2015-022	4.2.3.5.2-04
	出生前・出生後の発生試験（母体機能を含む）							
	ラット/Crl:OFA（SD）	sc	GD 6，12，17及びPND 4，10，17，21，計7回投与	0，50，100，200 mg/kg	準拠	[redacted]	AB21437/DS-2016-068	4.2.3.5.3-01
	幼若試験							
	幼若ラット/Crl:OFA（SD）	sc	週1回（PND28，35，42，49，56，63）計6回投与	0，50，150，450 mg/kg	準拠	[redacted]	AB21438/DS-2017-022	4.2.3.5.4-02
局所刺激性試験	ウサギ/ニュージーランドホワイト種 Crl:KBL（NZW）	ia，im，pv，sc，iv	単回投与	0，150 mg/mL	準拠	[redacted]	AB21806/DS-2017-025	4.2.3.6-01

2.6.7.1　　**毒性試験**　　**一覧表（5）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
その他の毒性試験	免疫毒性試験							
	ラット/Sprague-Dawley, ex vivo	In vitro	2時間	2，20 µg/mL	準拠	[redacted]	IM1329	4.2.3.7.2-01
	ウサギ/系統の詳細は不明, ex vivo	In vitro	2時間	2，20 µg/mL	準拠	[redacted]	IM1355	4.2.3.7.2-02
	カニクイザル, ex vivo	In vitro	2時間	2，20 µg/mL	準拠	[redacted]	IM1328	4.2.3.7.2-03
	ヒト, ex vivo	In vitro	2時間	2，20 µg/mL	準拠	[redacted]	IM1327	4.2.3.7.2-04
	ヒト, ex vivo	In vitro	4時間	1，10，100 µg/mL	非準拠	[redacted]	111320	4.2.3.7.2-05（参考資料）
	in vitro 溶血性試験							
	ヒト, ex vivo	In vitro	30 分間インキュベーション	0.51～51 mg/mL	非準拠	[redacted]	08GR369	4.2.3.7.7-01（参考資料）

GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，GD＝ 妊娠日数，ia＝ 動脈内，PND＝ 生後日齢，im＝ 筋肉内，iv＝ 静脈内，sc＝ 皮下，pv＝ 傍静脈

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

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（1）被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
単回投与毒性試験[a]	ラット/Sprague-Dawley	iv	0，10.7，32及び107	非準拠	07AM203	4.2.3.1-01（参考資料）
単回投与安全性薬理試験 心血管系の評価	カニクイザル	iv	0及び100	準拠	08GR358	4.2.1.3-01
1ヵ月間反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD（SD）	iv，週1回	0，10，30及び100	準拠	08GR354	4.2.3.2-01
1ヵ月間反復投与毒性試験	カニクイザル	iv，週1回	0，10，30及び100	準拠	08GR296	4.2.3.2-03
1ヵ月間反復投与毒性試験	カニクイザル	sc，週1回	0，100及び300	準拠	09GR293	4.2.3.2-04
3ヵ月間反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD（SD）	iv，週1回 sc，週1回	iv：0，30，100及び300； sc：0及び300	準拠	8244107/11LJ014	4.2.3.2-02
3ヵ月間反復投与毒性試験	カニクイザル	iv，週1回 sc，週1回	iv：0，10，100及び300； sc：0，100及び300	準拠	8230269	4.2.3.2-05
6ヵ月間反復投与毒性試験	カニクイザル	sc，週1回	0，10，100及び300	準拠	8292076/DS-2015-010	4.2.3.2-06
用量設定試験	妊娠ウサギ/ニュージーランドホワイト種 LAGO:INRA 1077（Nzw）SPF	sc，6日ごとに1回（GD 6，12及び18）	50及び100：1ヵ所の注射部位に投与 0，100及び200：2ヵ所の注射部位に分けて投与	非準拠	AB20826/DS-2015-008	4.2.3.5.2-03（参考資料）

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（2）被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験の種類	系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	報告書番号	CTDの記載箇所（資料番号）
胚・胎児発生に関する試験	ウサギ/ニュージーランドホワイト種 LAGO:INRA 1077 （Nzw） SPF	sc，6日ごとに1回（GD 6，12及び18）	0，10，50及び100	準拠	AB20827/DS-2015-022	4.2.3.5.2-04
受胎能及び着床までの胚・胎児発生に関する試験	ラット/Crl:OFA（SD）	sc，週1回	0，50，100，200	準拠	AB20856/DS-2015-018	4.2.3.5.1-01
出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験	ラット/Crl:OFA（SD）	sc；GD 6，12，17及びPND 4，10，17，21 計7回投与	0，50，100，200	準拠	AB21437/DS-2016-068	4.2.3.5.3-01
幼若動物試験	幼若ラット/Crl:OFA（SD）	週1回（PND28，35，42，49，56，63）計6回投与	0，50，150，450	非準拠	AB21873/DS-2017-034	4.2.3.5.4-01

[a] 血漿中濃度のみ報告された。

GD＝ 妊娠日数，GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，iv＝ 静脈内，sc＝ 皮下，PND＝ 生後日齢。

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

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（1）被験物質: フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種	投与経路	期間	投与量（mg/kg）	最終投与後のトキシコキネティクスパラメータ				試験番号/試験実施依頼者の参照番号
				AUC_{168h} (μg·h/mL)		C_{max} (μg/mL)		
				雄	雌	雄	雌	
ラット	iv	1ヵ月（週1回）	10	20300	22300	252	252	08GR354
			30	74100	83600	967	919	
			100	207000	181000	2570	2570	
ラット	iv	3ヵ月（週1回）	30	100000	75900	1100	1070	8244107/11LJ014
			100	216000	208000	2960	2670	
			300	351000	343000	4430	5050	
	sc		300	164000	284000	1060	1930	
ラット	sc	M：週1回投与，合計10回投与 F：週1回投与，交配前2週間以降，交配期間中及びGD 0，6，12及び17	50	225000	22400	1430	476	AB20856/DS-2015-018
			100	328000	51100	2150	976	
			200	460000	95500	3530	2060	
ラット	sc	GD 6，12，17及びPND 4，10，17，21	50	該当せず	46900	該当せず	430	AB21437/DS-2016-068
			100	該当せず	91600	該当せず	846	
			200	該当せず	147000	該当せず	1410	
ラット	sc	PND28，35，42，49，56及び63（週1回）	50	129000	193000	927	1240	AB21873/DS-2017-034
			150	297000	405000	1850	2570	
			450	569000	869000	4260	5680	
ウサギ	sc	sc，6日ごとに1回（GD 6，12及び18）	50	該当せず	137822[a]	該当せず	1523	AB20826/DS-2015-008
			100[b]	該当せず	323586[a]	該当せず	2996	
			100	該当せず	279418[a]	該当せず	2691	
			200[b]	該当せず	355865[a]	該当せず	3321	

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（2）被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種	投与経路	期間	投与量（mg/kg）	最終投与後のトキシコキネティクスパラメータ				試験番号/試験実施依頼者の参照番号
				AUC_{168h} (μg·h/mL)		C_{max} (μg/mL)		
				雄	雌	雄	雌	
ウサギ	sc	GD 6，12及び18	10	該当せず	27000	該当せず	246	AB20827/DS-2015-022
			50	該当せず	86500	該当せず	1030	
			100	該当せず	215000	該当せず	2430	
サル	iv	単回投与	100	288000[c]	該当せず	3500	該当せず	08GR358
サル	iv	1ヵ月（週1回）	10	40900	39600	442	442	08GR296
			30	69500	98500	1010	1260	
			100	307000	291000	3660	3220	
サル	sc	1ヵ月（週1回）	100	194000	該当せず	1410	該当せず	09GR293
			300	515000	該当せず	3540	該当せず	
サル	iv	3ヵ月（週1回）	10	40200	34200	311	267	8230269
			100	345000	284000	2710	2360	
			300	479000	504000	3810	4460	
	sc		100	239000	274000	1650	1940	
			300	411000	468000	2980	3390	
サル	sc	6ヵ月（週1回）	10	131000	66900	1720	550	8292076/ DS-2015-010
			100	470000	792000	3480	6370	
			300	2500000	1700000	24800	17100	

[a] AUC_{144h}

[b] 2ヵ所の注射部位に分けて投与した。

[c] AUC_{316h}

AUC_t = 投与後 0 時間から最終測定可能時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度，F = 雌，GD = 妊娠日数，iv = 静脈内，PND = 生後日齢，M = 雄，sc = 皮下。

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

2.6.7.4　毒性試験　　使用ロット（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

ロット番号	試験番号/試験依頼者の参照番号	試験の種類
[redacted]	08GR354	ラットを用いた1ヵ月間反復投与毒性試験
	08GR296	サルを用いた1ヵ月間反復投与毒性試験
	09GR293	サルを用いた1ヵ月間反復投与毒性試験
	09GR291	妊娠ラットを用いた用量設定試験
	09GR439	妊娠ラットを用いた用量設定試験
	08GR358	安全性薬理試験 - サルの心血管系の評価
	08GR369	ヒト血液を用いた血液適合性を検討するin vitro溶血性試験
[redacted]	8244107/11LJ014	ラットに3ヵ月間反復投与したときのトキシコキネティクス及び毒性に関する試験
[redacted]	8230269	サルに3ヵ月間反復投与したときのトキシコキネティクス及び毒性に関する試験
[redacted]	8292076/ DS-2015-010	カニクイザルに26週間反復投与したときのトキシコキネティクス及び毒性に関する試験
[redacted]	AB20856/ DS-2015-018	ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する試験
	AB20826/ DS-2015-008	妊娠ウサギを用いた用量設定試験
	AB20827/ DS-2015-022	ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験
[redacted]	IM1329	ラット正常組織を用いた交差反応性試験
	IM1355	ウサギ正常組織を用いた交差反応性試験
	IM1328	カニクイザル正常組織を用いた交差反応性試験
	IM1327	ヒト正常組織を用いた交差反応性試験
	111320	ヒト全血を用いたサイトカイン放出試験

2.6.7.4　　**毒性試験**　　**使用ロット（2）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

ロット番号	試験番号/試験依頼者の参照番号	試験の種類
[redacted]	AB21806/ DS-2017-025	局所刺激性試験
	AB21437/ DS-2016-068	出生前及び出生後の発生（母体機能を含む）に関する試験
	AB21439/ DS-2017-011	Irwin法を用いてラットに対する作用プロファイルを検討する試験
	AB21440/ DS-2017-014	ラットの呼吸系パラメータの測定
	AB21873/DS-2017-034	幼若ラットを用いた用量設定試験
	AB21438/DS-2017-022	幼若ラットを用いた毒性試験

2.6.7.4　　**毒性試験**　　**使用ロット（3）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験項目	各ロットの結果				
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
外観	合格	合格	合格	合格	NR
タンパク質濃度（mg/mL）	52	52.0	53	51.9	9.91
pH	5.6	5.6	5.7	5.6	NR
CGE（非還元型）（%, IgG）	97.6	97.9	98.3	97.8	NR
CGE（還元型）（%，IgG）	99.5	99.4	99.0	99.4	NR
サイズ排除HPLC（%，IgGモノマー）	98.8	98.7	98.9	98.3	NR
宿主細胞由来タンパク質（ng/mg）	<2	29	<2	NR	NR
捕捉ELISA	標準物質の名目上の活性の95%；比活性949 AU/mg	標準物質の名目上の活性の101%；比活性1012 AU/mg	標準物質の名目上の活性の109%；比活性1094 AU/mg	48711 AU/mL	NR
バイオバーデン	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	増殖は検出されなかった。	NR
エンドトキシン	体重1 kgあたり5 EU以下	体重1 kgあたり0.01 EU	体重1 kgあたり5 EU以下	NMT 0.01 EU/mg	NR
Lys-Cマップで測定した酸化（Fc-Met-1における酸化率，%）	1.9	1.8	NR	3.6	NR
iCE（荷電種）	標準物質と同程度	標準物質と同程度	標準物質と同程度	標準物質と同程度	NR

AU＝ 活性単位，CFU＝ コロニー形成単位，CGE=キャピラリーゲル電気泳動法，ELISA＝ 酵素結合免疫吸着法，EU＝ エンドトキシン単位，HPLC＝ 高速液体クロマトグラフィー，iCE＝ イメージングキャピラリー電気泳動，IgG＝ 免疫グロブリン G，LOQ＝ 定量限界，NR＝ 報告なし，NMT =未満。

2.6.7.4　　毒性試験　　使用ロット（4）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

試験項目	各ロットの結果（続き）				
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
外観	合格	合格	合格	合格	合格
タンパク質濃度（mg/mL）	144.1	144.8	151.7	142.1	155.7
pH	5.4	5.6	5.5	5.5	5.6
CGE（非還元型）（%，IgG）	97.0	96.9	97.1	96.9	95.9
CGE（還元型）（%，IgG）	99.6	99.2	99.2	99.3	100.0
サイズ排除HPLC（%，IgGモノマー）	97.3	98.4	98.5	98.7	98.4
宿主細胞由来タンパク質（ng/mg）	NR	NR	NR	NR	NR
捕捉ELISA	139796 AU/mL	119704 AU/mL	144672 AU/mL	112414 AU/mL	標準物質に対し91%
バイオバーデン	0 CFU/プレート	0 CFU/プレート	0 CFU/プレート	増殖なし	検出された増殖なし
エンドトキシン	1.00 EU/mL未満	1.00 EU/mL未満	1.00 EU/mL未満	0.0033 EU/mg未満	0.01 EU/mg以下
Lys-Cマップで測定した酸化（Fc-Met-1における酸化率，%）	3.3	3.3	3.5	2.9	LOQ未満
iCE（荷電種）	標準物質と同程度	標準物質と同程度	標準物質と同程度	標準物質と同程度	同一性が確認された。

AU＝ 活性単位，CFU＝ コロニー形成単位，CGE=キャピラリーゲル電気泳動法，ELISA＝ 酵素結合免疫吸着法，EU＝ エンドトキシン単位，HPLC＝ 高速液体クロマトグラフィー，iCE＝ イメージングキャピラリー電気泳動，IgG＝ 免疫グロブリン G，NR＝ 報告なし。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験　　主要な試験以外の試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種/ 系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与量 （mg/kg）	各群の雄動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所 （資料番号）
ラット/ Sprague- Dawley	静脈内投与（25 mM 酢酸ナトリウム，275 mM ソルビトール，及び 0.02%ポリソルベート 20 を含有する pH 5.5 の溶液）	0，10.7，32 及び 107	主要試験群：5 血漿中濃度測定群：3	有害な被験物質関連の影響は認められなかった。	07AM203	4.2.3.1-01 （参考資料）

2.6.7.6　反復投与毒性試験：主要な試験以外の試験

主要な試験以外の反復投与毒性試験は実施していない。初期の主要な反復投与毒性試験の投与量は，単回投与安全性薬理試験から得た結果に基づいて選択した。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：主要な試験

2.6.7.7.1　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　3 ヵ月間の回復期間を設けたラットを用いたフレマネズマブの 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験

動物種/系統：　ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：　投与期間：1 ヵ月間（週 1 回）　報告書番号：　08GR354

投与開始週齢：　試験開始時週齢：約 8 週齢　回復期間：　3 ヵ月間　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-01

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted]～[redacted] 日　投与方法：　静脈内投与　GLP 適用：　準拠

溶媒/投与形態：　20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液

無毒性量：　100 mg/kg

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		30		100	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数								
主試験群	10	10	10	10	10	10	10	10
回復群	5	5	0	0	0	0	5	5
トキシコキネティクス測定群	6	6	8	8	8	8	8	8
トキシコキネティクス								
AUC_{168h} (μg·h/mL)								
投与1日目	NA	NA	12900	14300	38300	31400	111000	106000
投与22日目	NA	NA	20300	22300	74100	83600	207000	181000
C_{max} (μg/mL)								
投与1日目	NA	NA	230	260	722	688	2090	2000
投与22日目	NA	NA	252	252	967	919	2570	2570

2.6.7.7.1　**反復投与毒性試験**　　**主要な試験（2）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		30		100	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
特記所見：								
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査（血清）	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
抗薬物抗体（陽性動物数/検査動物数）	NA	NA	0/4	2/4	2/4	1/4	0/4	3/4

- = 特記すべき所見なし，AUC = 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度，EDTA = エチレンジアミン四酢酸，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，NA = 該当せず。

2.6.7.7.2　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　4 ヵ月間の回復期間を設けラットを用いた 3 ヵ月間静脈内投与及び皮下投与によるフレマネズマブの毒性及びトキシコキネティクスに関する試験

動物種/系統：　ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：　3 ヵ月間（週 1 回）　報告書番号：8244107
試験実施依頼者の参照番号：11LJ014

投与開始週齢：　6～7 週齢　休薬期間：　4 ヵ月間　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-02

初回投与年月日：　20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：　iv 又は sc　GLP 適用：　準拠

溶媒/投与形態：　20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液

無毒性量：　300 mg/kg/week（iv 及び sc）

投与量（mg/kg/week）	0（iv及びsc）		30（iv）		100（iv）		300（iv）		300（sc）	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数										
主試験群	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
回復群	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
トキシコキネティクス測定群	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
トキシコキネティクス										
AUC_{168h} (μg·h/mL)										
投与1週目	NA	NA	24400	22700	92700	76700	223000	178000	92300	176000
投与13週目	NA	NA	100000	75900	216000	208000	351000	343000	164000	284000
C_{max} (μg/mL)										
投与1週目	NA	NA	500	528	1700	2800	5210	4270	696	1670
投与13週目	NA	NA	1100	1070	2960	2670	4430	5050	1060	1930

投与量（mg/kg/week）	0（iv及びsc）		30（iv）		100（iv）		300（iv）		300（sc）	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
特記所見：										
死亡又は瀕死屠殺動物数[a]										
主試験群	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
回復群	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
トキシコキネティクス測定群	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（%）[b]										
主試験群　投与85～91日目	194 g	130 g	88%*	91%	90%*	94%	91%*	94%	102%	102%
回復群　投与105～111日目	216 g	171 g	84%	76%	85%	76%	83%*	72%	97%	81%
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査（血清）										
グロブリン（g/dL）										
主試験群　投与93日目	2.8	2.4	2.9	2.6	3.1*	2.8*	3.5*	3.3*	2.9	2.7*
回復群　投与113日目	3.7	3.2	3.3	3.3	3.6	3.0	3.6	3.1	3.5	3.3
アルブミン/グロブリン比										
主試験群　投与93日目	1.6	2.3	1.6	2.1	1.5*	2.1*	1.3*	1.8*	1.6	2.1
回復群　投与113日目	1.2	1.7	1.3	1.7	1.3	1.8	1.2	1.8	1.3	1.8
総タンパク（g/dL）										
主試験群　投与93日目	7.4	7.9	7.4	8.2	7.6	8.4*	8.0*	9.0*	7.3	8.4*
回復群　投与113日目	8.1	8.7	7.6	8.8	8.1	8.5	8.0	8.9	7.9	9.2

投与量（mg/kg/week）	0（iv及びsc）		30（iv）		100（iv）		300（iv）		300（sc）	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トリグリセリド（mg/dL）										
主試験群　投与93日目	51	42	69	43	87*	50	85*	46	54	40
回復群　投与113日目	86	112	128	160	134	141	112	96	104	66
ナトリウム（mmol/L）										
主試験群　投与93日目	148	146	148	146	147	145	147	144*	147	145
回復群　投与113日目	147	144	147	144	147	143	148	145	146	144
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
抗薬物抗体反応	NA	NA	0/19	1/18	0/19	0/19	1/19	0/18	2/10	3/19
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] トキシコキネティクス測定用対照群の 1 匹の雌が，投与 8 日目の血液採取後に死亡した。剖検時に注目すべき所見がみられなかったことから，当該動物の死亡は血液採取に関連すると判断した。毒性試験の対照群の雌 1 匹は，皮膚/皮下組織の腫瘤により回復期の投与 105 日目に瀕死状態となったため安楽死させた。乳腺癌の顕微鏡所見と関連するこの腫瘤は偶発的所見である。

[b] 対照群については群の平均値を示す（g/動物/期間）。その他の群は，対照群の値に対する割合（%）を示す。統計学的有意差は（比較した割合でなく）実際のデータに基づいて算出。

*＝$p < 0.05$，-＝ 特記すべき所見なし，AUC＝ 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max}＝ 最高血漿中濃度，GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，iv＝ 静脈内，NA＝ 該当せず，sc＝ 皮下。

2.6.7.7.3　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　3 ヵ月間の回復期を設けサルを用いたフレマネズマブの 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験
動物種/系統：　カニクイザル　　投与期間：　1 ヵ月間（週 1 回）　　報告書番号：　08GR296
投与開始週齢：　3 歳齢以上　　休薬期間：　3 ヵ月間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-03
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted]～[redacted] 日　　投与方法：　静脈内　　GLP 適用：　準拠
溶媒/投与形態：　溶媒/処方：20 mM ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液
無毒性量：　100 mg/kg/week

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		30		100	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数								
主試験群	3	3	3	3	3	3	3	3
回復群	2	2	0	0	0	0	2	2
トキシコキネティクス								
AUC_{168h} (μg·h/mL)								
投与1日目	NA	NA	21200	22500	51100	68200	202000	184000
投与22日目	NA	NA	40900	39600	69500	98500	307000	291000
C_{max} (μg/mL)								
投与1日目	NA	NA	327	353	852	1140	3500	3460
投与22日目	NA	NA	442	442	1010	1260	3660	3220
特記所見：								
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3　反復投与毒性試験　　主要な試験（2）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		30		100	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査/心拍数	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧/呼吸数/体温	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査（血清）	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
抗薬物抗体発現率	NA	NA	0/3	0/3	1/3	1/3	2/5	3/5
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査（主試験群）								
注射部位								
皮膚の炎症								
軽微	0	0	0	0	0	0	1	1
皮下出血								
軽微	0	0	1	1	1	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
皮下炎症								
軽微	0	1	2	1	1	0	0	1
皮下線維化								
軽微	0	0	0	1	0	0	0	1
中等度	0	0	1	0	0	0	0	0
血管の炎症								
軽微	0	0	0	0	0	1	0	0

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		30		100	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血管周囲の炎症								
軽微	0	0	0	1	0	0	1	0
皮下浮腫								
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓								
胆管肥大								
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
病理組織学的検査（回復群）								
注射部位	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
胆管肥大								

- = 特記すべき所見なし，NA = 該当せず，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，AUC = 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度。

2.6.7.7.4　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　3 ヵ月間の回復期を設けサルを用いたフレマネズマブの 1 ヵ月間皮下投与毒性試験

動物種/系統：	カニクイザル	投与期間：	1 ヵ月間（週 1 回）	報告書番号：	09GR293
投与開始年齢：	2.5 歳齢超	休薬期間：	3 ヵ月間	CTD における記載箇所（資料番号）：	4.2.3.2-04
初回投与年月日：	20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	皮下	GLP 適用：	準拠

溶媒/投与形態：　溶媒/処方：20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液

無毒性量：　300 mg/kg/week

投与量（mg/kg/week）	0（対照）	100	300
性別	雄	雄	雄
動物数			
主試験群	3	3	3
回復群	2	2	2
トキシコキネティクス			
AUC_{168h} (μg·h/mL)			
投与1日目	NA	106000	329000
投与22日目	NA	194000	515000[a]
C_{max} (μg/mL)			
投与1日目	NA	823	2620
投与22日目	NA	1410	3540[a]
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0
一般状態	-	-	-
体重	-	-	-
摂餌量	-	-	-
眼科的検査	-	-	-
心電図検査	-	-	-

投与量（mg/kg/week）		0（対照）	100	300
性別		雄	雄	雄
血液学的検査				
リンパ球数（10^3/μL）				
投与前	投与7日前	5.938	5.910	6.308
主試験群	投与30日目	5.272	6.088*	7.592**
回復群	投与114日目	4.710	6.590	6.205
生化学検査（血清）				
グロブリン（単位）				
投与前	投与7日前	2.80	2.98	2.96
主試験群	投与30日目	2.98	3.26*	3.64*
回復群	投与114日目	3.15	3.15	3.15
総タンパク（g/dL）				
投与前	投与7日前	7.48	7.56	7.60
主試験群	投与30日目	7.54	7.70	8.16**
回復群	投与114日目	7.90	7.70	7.75
尿検査		-	-	-
抗薬物抗体発現率		NA	1/5	1/5
器官重量		-	-	-
剖検所見		-	-	-
病理組織学的検査		-	-	-

[a] n＝4；異常なプロファイルのため1匹の動物を除外した。

*＝$p<0.05$，**＝$p<0.01$，-＝ 特記すべき所見なし，AUC＝ 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max}＝ 最高血漿中濃度，GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，NA＝ 該当せず。

2.6.7.7.5　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　4 ヵ月間の回復期を設けサルを用いたフレマネズマブの 3 ヵ月間の静脈内ボーラス投与時及び皮下投与時の毒性及びトキシコキネティクスに関する試験

動物種/系統：　カニクイザル　　投与期間：　3 ヵ月間（週 1 回）　　試験番号：8230269

試験実施依頼者の参照番号：10SN155

投与開始年齢：　2～3 歳齢　　休薬期間：　4 ヵ月間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-05

初回投与年月日：　20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　投与方法：　iv 又は sc　　GLP 適用：　準拠

溶媒/投与形態：　溶媒/処方：20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液

無毒性量：　10 mg/kg/week（静脈内投与）及び 100 mg/kg/week（皮下投与）

投与量（mg/kg/week）	0（対照） iv及びsc		10 iv		100 iv		100 sc		300 iv		300 sc	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数												
主試験群	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
回復群	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
トキシコキネティクス												
AUC_{168h} (μg·h/mL)												
投与1週目	NA	NA	9780	10900	87300	120000	76400	91500	276000	279000	198000	258000
投与11週目	NA	NA	30500	32300	286000	270000	220000	258000	455000	410000	382000	413000
投与13週目	NA	NA	40200	34200	345000	284000	239000	274000	479000	504000	411000	468000
C_{max} (μg/mL)												
投与1週目	NA	NA	96.8	105	916	1160	574	708	2990	2800	1560	2150
投与11週目	NA	NA	218	241	2110	2150	1570	1870	3500	3310	2800	3030
投与13週目	NA	NA	311	267	2710	2360	1650	1940	3810	4460	2980	3390

2.6.7.7.5　反復投与毒性試験　　主要な試験（2）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照） iv及びsc		10 iv		100 iv		100 sc		300 iv		300 sc	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
特記所見：												
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査/心拍数	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧/体温	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査（血清）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
抗薬物抗体発現率	0/6	4/6	1/6	2/6	1/6	1/6	2/6	1/6	0/6	2/6	1/6	0/6
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査（主試験群）												
眼												
毛様体の血管周囲の炎症												
軽微	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0

2.6.7.7.5　**反復投与毒性試験**　　**主要な試験（3）**　　**被験物質**：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照） iv及びsc		10 iv		100 iv		100 sc		300 iv		300 sc	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
病理組織学的検査（回復群）												
毛様体の血管周囲の炎症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
関節												
関節包の血管周囲の炎症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
免疫組織化学的検査 検査を行った動物数	2	2	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
眼												
動脈/細動脈の内膜/中膜における顆粒状沈着物の増加												
フレマネズマブ	-	-	NA	NA	NA	<1↑	NA	NA	-	NA	<1↑	NA
サルIgG	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	-	NA	-	NA
サルIgM	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	1↑	NA	-	NA
アルブミン	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA		NA
C3	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	1↑	NA	-	NA
顆粒状沈着物及び/又は細胞質顆粒，マクロファージの増加												
フレマネズマブ	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA

2.6.7.7.5　反復投与毒性試験　　主要な試験（4）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照） iv及びsc		10 iv		100 iv		100 sc		300 iv		300 sc	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
サルIgG	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
サルIgM	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
アルブミン	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA		NA
C3	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	1↑	NA
染色された単核細胞の浸潤増加												
フレマネズマブ	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
サルIgG	-	-	NA	NA	NA	2↑	NA	NA	-	NA	2↑	NA
サルIgM	-	-	NA	NA	NA	2↑	NA	NA	-	NA	2↑	NA
アルブミン	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
C3	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
血管周囲間質への血清中タンパクの漏出増加												
フレマネズマブ	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	-	NA	-	NA
サルIgG	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	-	NA	1↑	NA
サルIgM	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	-	NA	1↑	NA
アルブミン	-	-	NA	NA	NA	1-2↑	NA	NA	-	NA	1-2↑	NA
C3	-	-	NA	NA	NA	1↑	NA	NA	-	NA	-	NA

2.6.7.7.5　反復投与毒性試験　　主要な試験（**5**）　　**被験物質**: フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照） iv及びsc		10 iv		100 iv		100 sc		300 iv		300 sc	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
過ヨウ素メセナミン銀染色法												
不整な弾性板に沿った斑点の増加	-	-	NA	NA	NA	-	NA	NA	1	NA	-	NA
前毛様体血管の内膜，内弾性板及び中膜の不均一性	-	-	NA	NA	NA	1	NA	NA	-	NA	-	NA

1↑ = 免疫組織学的検査で染色された細胞の軽微な増加，2↑ = 免疫組織学的検査における染色された細胞の軽度の増加，- = 特記すべき所見なし，AUC = 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C3 = 補体因子 C3，C_{max} = 最高血漿中濃度，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，IgG = 免疫グロブリン G，IgM = 免疫グロブリン M，iv = 静脈内，NA = 該当せず，sc = 皮下。

2.6.7.7.6　反復投与毒性試験　　主要な試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：　16 週間の回復期を設けカニクイザルを用いたフレマネズマブの 26 週間週 1 回皮下注射での慢性毒性及びトキシコキネティクスに関する試験

動物種/系統：　カニクイザル　　投与期間：　26 週間（週 1 回）　　試験番号：8292076

試験実施依頼者の参照番号：DS-2015-010

投与開始年齢：　2～3 歳齢　　休薬期間：　16 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-06

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　皮下　　GLP 適用：　準拠

溶媒/投与形態：　0.79 mg/mL L-ヒスチジン及び 3.13 mg/mL L-ヒスチジン塩酸塩一水和物，84 mg/mL 低エンドトキシンショ糖，0.2 mg/mL ポリソルベート 80 及び 0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物を含有する pH 5.5 ± 0.1 の溶液を，注射用滅菌水（UPS）で調製した。

無毒性量：　300 mg/kg/week

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		100		300	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数								
主試験群	4	4	4	4	4	4	4	4
回復群	2	2	0	0	0	0	2	2
トキシコキネティクス								
AUC_{168h} (μg·h/mL)								
投与1日目	NA	NA	14400	16400	137000	208000	456000	622000
投与85日目	NA	NA	30800	39900	384000	326000	1530000	1300000
投与176日目	NA	NA	131000	66900	470000	792000	2500000	1700000
C_{max} (μg/mL)								
投与1日目	NA	NA	102	120	974	1720	3630	5020
投与85日目	NA	NA	242	287	2810	2730	14300	10400
投与176日目	NA	NA	1720	550	3480	6370	24800	17100

2.6.7.7.6　反復投与毒性試験　　主要な試験（2）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		10		100		300	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
特記所見：								
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査（血清）	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
抗薬物抗体発現率	0/6	1/6	0/4	0/4	1/4	2/4	0/6	2/6
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査（主試験群）								
注射部位A								
わずかな血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	2
注射部位B								
わずかな血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	2	0	3
注射部位C								
わずかな血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	1
注射部位D								
わずかな血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	3	0	1

投与量	0（対照）		10		100		300	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
病理組織学的検査（回復群）								
注射部位A～D								
血管周囲性単核細胞の浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0

- = 特記すべき所見なし，AUC = 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，NA = 該当せず。

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

ICH ガイダンス S6（R1）に記載されたように，医薬品について実施が規定された遺伝毒性試験の範囲と種類は，バイオテクノロジー応用医薬品には適用されない。このため，フレマネズマブを用いた遺伝毒性試験は実施しなかった（ICH Topic S6(R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf）。

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

ICH ガイダンス S6（R1）に記載されたように，医薬品について実施が規定された遺伝毒性試験の範囲と種類は，バイオテクノロジー応用医薬品には適用されない。このため，フレマネズマブを用いた遺伝毒性試験は実施しなかった（ICH Topic S6(R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf）。

2.6.7.10　がん原性試験

がん原性試験は実施していない。ICH S6（R1）ガイドライン（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床開発について考察）では，標準的ながん原性試験は，フレマネズマブのようなモノクローナル抗体を含む，バイオテクノロジー応用医薬品には一般的には適切ではないとしているためである（ICH Topic S6(R1) - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals June 2011. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf）。

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：主要な試験以外の試験

2.6.7.11　生殖発生毒性試験　　主要な試験以外の試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
妊娠ラット/Crl:CD（SD）	iv（溶液[a]）	週 1 回，2 週間（GD 6 及び 12）	0，10，30 及び 100	8F	母動物又は胎児に対する毒性は認められなかった。	09GR291	4.2.3.5.2-01（参考資料）
妊娠ラット/Crl:CD（SD）	iv（溶液[a]）	0 及び 300 mg/kg で週 1 回，2 週間（GD 6 及び 12）；150 mg/kg で週 2 回，2 週間（GD 6，9，12 及び 15）	0，150 及び 300	8F	被験薬に関連する毒性は認められなかった。フレマネズマブ 150 mg/kg を週 2 回投与したときの曝露量は，300 mg/kg を週 1 回投与したときの曝露量と同程度であった。これは，過去の妊娠ラットを用いた試験で，低用量で投与したときにみられた傾向と同じであった（09GR291）。	09GR439	4.2.3.5.2-02（参考資料）
妊娠ウサギ/ニュージーランドホワイト種 LAGO:INRA 1077（Nzw）	sc（溶液[a]）	6 日ごとに 1 回（GD 6，12 及び 18）	50 及び 100：1 ヵ所の注射部位に投与。0，100 及び 200：2 ヵ所の注射部位に分けて投与。	6F	すべての投与量での忍容性は良好であり，母動物又は胚・胎児に対する毒性を引き起こさなかった。1 ヵ所の部位に投与した動物と 2 ヵ所の部位に分けて投与した動物との間で，差異はみられなかった。	AB20826/DS-2015-008	4.2.3.5.2-03（参考資料）
幼若ラット/Crl:OFA（SD）	sc（溶液[b]）	週 1 回，5 週間（PND 28, 35, 42, 49, 56, 63）	0，50，150 及び 450	8M, 8F	すべての投与量での忍容性は良好であり，投与部位へ一過性の水腫がみられたのみであった。	AB21873/DS-2017-034	4.2.3.5.4-01

[a] 投与した溶媒は，20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液であった。

[b] 投与した溶媒は，16 mM ヒスチジン，6.6%スクロース，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.136 mg/mL EDTA を含有する pH 5.5 の溶液であった。

AUC = 血漿中濃度 - 時間曲線下面積，CGRP = カルシトニン遺伝子関連ペプチド，F = 雌，GD = 妊娠日数，iv = 静脈内，M=雄，sc = 皮下。

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.7.12　生殖発生毒性試験　　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：Sprague Dawley ラットを用いた週 1 回皮下注射による雌雄の受胎能及び胚・胎児発生に関する複合試験

試験計画の ICH 4.1.1 及び ICH 4.1.3 への準拠：準拠

投与期間：　M：交配前 4 週間，交配期間中，及び剖検まで，週 1 回投与（合計 10 回投与）。
F：交配前 2 週間，交配期間中は週 1 回，及び妊娠期間は GD 0，6，12 及び 17 に投与（合計 8 回投与）。

報告書番号：AB20856
試験実施依頼者の参照番号：DS-2015-018

動物種/系統：　ラット/Crl:OFA（SD）
試験開始週齢：　9 週齢
初回投与年月日：　M：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
F：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日

交尾成立日：GD 0
帝王切開日：GD 20
投与方法：皮下

CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.1-01

GLP 適用：準拠

溶媒/投与形態：20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5 の溶液
無毒性量（F0 雄，F0 雌，F1 胎児）：200 mg/kg/回

投与量（mg/kg）		0（対照）	50	100	200
雄					
トキシコキネティクス：					
AUC_t (μg·h/mL)	投与1日目	NA	49400	86200	144000
	投与9週目	NA	225000	328000	460000
C_{max} (μg/mL)	投与1日目	NA	356	712	1230
	投与9週目	NA	1430	2150	3530
評価動物数		24	24	24	24
死亡又は瀕死屠殺動物数		0	0	0	0

2.6.7.12　生殖発生毒性試験　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（2）　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg）		0（対照）	50	100	200
雄					
一般状態		-	-	-	-
剖検所見		-	-	-	-
体重		-	-	-	-
摂餌量		-	-	--	
平均交配所要日数		3.1	3.4	3.2	2.4
交尾成立雄数		24	24	24	23
受胎能が確認された雄数		23	22	23	23
平均総精子数（$\times 10^6$/精巣）		111.3	116.9	114.8	108.5
精巣上体精子の運動率（%）		92	86	92	91
雌					
トキシコキネティクス：					
AUC_t (μg·h/mL)	投与1日目	NA	59600	104000	204000
	妊娠17日目	NA	22400	51100	95500
C_{max} (μg/mL)	投与1日目	NA	442	762	1570
	妊娠17日目	NA	476	976	2060
評価動物数		24	24	24	24
死亡又は瀕死屠殺動物数		0	0	0	0
一般状態		-	-	-	-
剖検所見		-	-	-	-
交配前の体重		-	-	-	-
妊娠期間の体重		-	-	-	-
交配前の摂餌量		-	-	-	-
妊娠期間の摂餌量		-	-	-	-
平均発情周期回数		-	-	-	-

2.6.7.12　生殖発生毒性試験　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（3）　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
平均交配所要日数	3.1	3.4	3.2	2.4
交尾成立雌数	24	24	24	23
妊娠雌数	23	21	23	22
未交尾雌数	0	0	0	1
平均妊娠子宮重量	81.98	83.00	91.63	85.33
平均黄体数	15.7	15.8	16.8*	16.3*
平均着床数	14.9	15.0	16.5*	15.6*
平均着床前死亡率（%）	4.45	5.62	1.78	4.08
生存胎児数	14.0	14.2	15.6	14.4
平均早期吸収胚数	0.8	0.8	0.9	1.2
平均後期吸収胚数	0.0	0.0	0.0	0.0
死亡胎児を有する母体数	0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）	5.81	4.85	5.40	9.62
平均胎児体重（g）	3.89	3.85	3.92	3.99
胎児の雌雄比［雄の割合（%）］	47.91	45.82	49.35	49.78
胎児の形態異常：				
胎児の外表異常				
検査胎児数（母体数）	323 (23)	299 (21)	358 (23)	317 (22)
異常を有する胎児数（母体数）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
鎖肛，脊柱後弯症及び無尾，矮小	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胎児の内臓異常				
検査胎児数（母体数）	323 (23)	299 (21)	358 (23)	317 (22)
異常を有する胎児数（母体数）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
副腎欠損，泌尿生殖器の複合異常及び奇静脈欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格異常				
検査胎児数（母体数）	168 (23)	154 (21)	184 (23)	166 (22)
異常を有する胎児数（母体数）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
椎骨の複合異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
異常を有する胎児数	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

* = $p < 0.05$，** = $p < 0.01$，- = 特記すべき所見なし，AUC_t = 投与後 0 時間から最終測定可能時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度，F = 雌，GD = 妊娠日数，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，ICH = 日米 EU 医薬品規制調和国際会議，M = 雄。

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 生殖発生毒性試験　　胚・胎児発生に関する試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：TEV-48125 - ウサギを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験（Segment II）
試験計画の ICH 4.1.3 への準拠：準拠　　投与期間：　GD 6，12 及び 18　　報告書番号：AB20827
試験実施依頼者の参照番号：DS-2015-022
動物種/系統：ニュージーランドホワイト種ウサギ，LAGO:INRA 1077 (NZW) EOPS　　交尾成立日：GD 0　　CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.2-04
投与開始時週齢：17～19 週齢　　帝王切開日：GD 29
初回投与年月日：　　投与方法：皮下　　GLP 適用：準拠
サテライト動物：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
第 I 相主試験動物：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted]～[redacted] 日
第 II 相試験動物：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
溶媒/投与形態：　20 mM L-ヒスチジン，84 mg/mL トレハロース二水和物，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウム二水和物，0.1 mg/mL L-メチオニンを含有する pH 5.5～5.9 の溶液
特記事項：追加の相（第 II 相）の試験を実施した。これは主試験（第 I 相）の中用量及び高用量群で，妊娠率が偶発的に低かったためであった（それぞれ母動物 14 匹及び 13 匹）。母動物を各群 16 匹以上とする ICH S5（R2）ガイドラインに準拠するため，第 II 相試験では，対照群，中用量群及び高用量群に 8 匹の動物を追加した。
トキシコキネティクス評価用の試料は，第 I 相試験では各群 4 匹のウサギで構成する 4 群のサテライト群から，第 II 相試験では各群の雌 8 匹中 4 匹から GD 6 及び GD 18 の規定した時点で採取した。さらに，第 I 相試験では，サテライト群のすべての母動物の胎児から GD 25 に試料を採取した。
無毒性量：F0 雌，母動物毒性：100 mg/kg/week，F1 胎児，胚・胎児毒性：100 mg/kg/week

投与量（mg/kg/week）		0（対照）	10	50	100
トキシコキネティクス：					
母動物					
AUC_t (µg·h/mL)	妊娠6日目	NA	16700	83500	163000
	妊娠18日目	NA	27000	86500	215000
C_{max} (µg/mL)	妊娠6日目	NA	147	687	1350
	妊娠18日目	NA	246	1030	2430

投与量（mg/kg/week）	0（対照）	10	50	100
胎児				
濃度（μg/mL）　妊娠25日目	NA	49	148	270
母動物				
妊娠動物数	25	17	21	22
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	1[a]	1[a]
一般状態	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-
平均黄体数	11.4	10.9	10.4	10.4
平均着床数	10.2	9.8	9.8	8.8
平均着床前死亡率（%）	10.8	10.8	6.3	18.3
胎児：				
評価腹数	25	17	20	20
生存胎児数	234	158	186	182
平均吸収胚数	0.9	0.5	0.9	0.5
死亡胎児を有する母体数	0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）	8.7	5.2	10.3	14.2
平均胎児体重（g）	39.3	38.2	36.5	38.2
胎児の性比［雄の割合（%）］	57	54	42**	54
胎児の異常	-	-	-	-
異常を有する胎児数（母体数）	4 (3)	2 (2)	1 (1)	7 (5)

[a] 本死亡は，被験物質と関連なしと判断した。

** = $p < 0.01$，- = 特記すべき所見なし，AUC_t = 0 時間から最終測定可能時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max} = 最高血漿中濃度，GD = 妊娠日数，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，ICH = 日米 EU 医薬品規制調和国際会議，NA = 該当せず。

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機能に関する試験

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機能に関する試験（1）

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：TEV-48125 - Sprague Dawley ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生に関する試験 (Segment III)
試験計画は ICH 4.1.2 に準拠: 準拠　　投与期間：　GD 6，12，17；PND 4，10，17，21（合計 7 回投与）　　試験番号：AB21437
試験実施依頼者の参照番号：DS-2016-068

動物種/系統：ラット/Crl:OFA（SD）　　交尾成立日：GD 0　　CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.3-01
投与開始時週齢：10～15 週齢　　投与方法：皮下
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　同腹児の調整/非調整：調整　　GLP 適用：準拠
溶媒/投与形態：16 mM ヒスチジン，6.6%スクロース，0.2 mg/mL ポリソルベート 80 及び 0.136 mg/mL EDTA を含有する pH 5.5 の溶液
特記事項：なし
無毒性量：F0 雌，F1 雄，F1 雌：200 mg/kg/回

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
F0雌				
トキシコキネティクス				
AUC_t (μg·h/mL)				
GD 6	NA	42500	81700	142000
PND 4	NA	32500	49600	92900
PND 21	NA	46900	91600	147000
C_{max} (μg/mL)				
GD 6	NA	433	906	1570
PND 4	NA	339	525	988
PND 21	NA	430	846	1410
妊娠動物数	23	24	24	24

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機能に関する試験（2）

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
F0雌				
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
流産又は全胚吸収母体数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
局所反応	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
妊娠期間の体重	-	-	-	-
授乳期間の体重	-	-	-	-
妊娠期間の摂餌量	-	-	-	-
授乳期間の摂餌量	-	-	-	-
平均妊娠期間（日）	22.1	22.0	22.0	22.0
異常分娩	-	-	-	-
F1出生児（離乳前）				
評価腹数	23	24	24	24
平均着床数	13.9	13.5	14.0	13.3
平均出産児数/腹	12.7	12.2	12.6	11.9
平均出生児数/腹	12.6	12.0	12.5	11.6
死産児数/腹	4	3	3	7
生後4日までの生存児数	12.4	12.0	12.3	11.5
離乳時までの生存児数	7.7	7.9	7.5	7.9
全同腹児死亡母動物数	0	0	0	0
出生児の体重変化	-	-	-	-
出生児の性比［雄の割合（%）］	45.7	44.1	52.6	54.6
出生児の一般状態	-	-	-	-
出生児の剖検所見	-	-	-	-

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機能に関する試験（3）

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
F1雄（離乳後）				
離乳後評価動物数	20	20	20	20
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
体重変化	-	-	-	-
包皮の分離	-	-	-	-
感覚機能	-	-	-	-
運動機能	-	-	-	-
学習及び記憶	-	-	-	-
平均交配所要日数	2.4	3.6	2.7	2.6
交尾成立雄数	19	20	19	19
受胎能が確認された雄数	17	19	17	19
F1雌（離乳後）				
離乳後評価動物数	20	20	20	20
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
交尾前の体重変化（g）	-	-	-	-
妊娠期間の体重変化（g）	-	-	-	-
感覚機能	-	-	-	-

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機能に関する試験（4）

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg）	0（対照）	50	100	200
F1雌（離乳後）				
運動機能	-	-	-	-
学習及び記憶	-	-	-	-
平均交配所要日数	2.4	3.6	2.7	2.6
交尾成立雌数	19	20	19	19
妊娠動物数	17	19	17	19
平均黄体数	16.2	16.6	16.8	17.6
平均着床数	16.1	16.1	16.1	17.2
平均着床前死亡率（%）	1.08	2.92	3.86	2.37

- = 特記すべき所見なし，GD = 妊娠日数，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，ICH = 日米 EU 医薬品規制調和国際会議，PND = 生後日齢。

2.6.7.15　生殖発生毒性試験：幼若試験

2.6.7.15　　生殖発生毒性試験　　幼若試験（1）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

報告書の題名：TEV-48125 - Sprague Dawley の離乳後の幼若ラットを用いた週一回皮下投与による毒性試験
試験計画は EMEA/CHMP/SWP/169215/2005 に準拠:　投与期間：　PND 28, 35, 42, 49, 56, 63（合計 6 回投与）　試験番号：AB21438
試験実施依頼者の参照番号：DS-2017-022

動物種/系統：ラット/Crl:OFA（SD）　投与方法：　sc　CTD における記載箇所：4.2.3.5.4-02
投与開始時週齢：PND28
初回投与年月日：　GLP 適用：準拠
20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted], [redacted], [redacted], [redacted] 日（主試験群），20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日（休薬群）
溶媒/投与形態：16 mM ヒスチジン，6.6%スクロース，0.2 mg/mL ポリソルベート 80 及び 0.136 mg/mL EDTA を含有する pH 5.5 の溶液
無毒性量：450 mg/kg/week
特記事項：なし

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		50		150		450	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数								
主試験群（Sub group 1）	20	20	20	20	20	20	20	20
休薬群（回復性，発達過程及び生殖機能の評価群（Sub group 2））	20	20	20	20	20	20	20	20
トキシコキネティクス（TK）測定群	4	4	16	16	16	16	16	16
トキシコキネティクス								
AUC_{168h} (μg·h/mL)								
初回投与日（PND28）	NA	NA	44300	40000	118000	109000	352000	310000
最終投与日（PND63）	NA	NA	124000	196000	301000	513000	610000	864000
C_{max} (μg/mL)								
初回投与日（PND28）	NA	NA	341	280	949	816	2620	2500
最終投与日（PND63）	NA	NA	813	1360	1940	3830	3880	6100

2.6.7.15　　生殖発生毒性試験　　幼若試験（2）　　被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		50		150		450	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
死亡又は瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位の観察								
水腫（投与4回目後）	-	-	-	-	-	-	13	3
水腫（投与5回目後）	-	-	-	-	-	-	6	2
水腫（投与6回目後）	-	-	-	-	-	-	5	1
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
脛骨長	-	-	-	-	-	-	-	-
性成熟	-	-	-	-	-	-	-	-
水迷路試験	-	-	-	-	-	-	-	-
オープンフィールド試験	-	-	-	-	-	-	-	-
聴覚性驚愕反射	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査								
白血球数　（10^9/L）								
主試験群	10.697	7.657	9.614*	6.547*	9.243*	6.613*	9.290*	6.382**
休薬群	9.158	6.329	9.565	5.802	9.151	5.935	8.974	4.951**
リンパ球数　（10^9/L）								
主試験群	8.911	6.556	7.936*	5.352**	7.527*	5.429**	7.614*	5.320**
休薬群	7.436	5.228	7.341	4.742	7.189	4.761	7.171	4.007**
生化学検査（血清）								

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		50		150		450	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
カルシウム（mmol/L）								
主試験群	2.651	2.552	2.606*	2.515	2.597**	2.512	2.567**	2.522
回復群	2.565	2.563	2.550	2.513*	2.597	2.533*	2.611*	2.505**
グロブリン（g/L）								
主試験群	29.54	28.15	29.54	28.23	29.96	29.37**	31.37**	32.07**
回復群	30.16	31.28	29.60	30.66	30.73	31.12	30.58	31.37
アルブミン（g/L）								
主試験群	31.44	31.73	30.82*	31.24	30.52**	30.89	30.48**	31.04
回復群	31.27	34.92	31.18	33.66*	31.03	33.66*	31.35	33.86*
総タンパク（g/L）								
主試験群	60.97	59.87	60.36	59.47	60.48	60.26	61.85	63.11**
休薬群	61.43	66.19	60.77	64.31	61.76	64.78	61.93	65.22
A/G比								
主試験群	1.06	1.12	1.05	1.11	1.02**	1.05**	0.98**	0.98**
休薬群	1.04	1.12	1.05	1.10	1.01	1.10	1.03	1.08
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
交配能（Sub group 2）								
平均交配所要日数	NA	3.9	NA	2.3	NA	1.9	NA	2.5
交尾成立雌数	NA	19	NA	20	NA	20	NA	20
妊娠雌数	NA	18	NA	16	NA	18	NA	20
帝王切開所見（Sub group 2）								
妊娠雌数（生存胎児がみられた動物）	NA	17	NA	16	NA	18	NA	20
着床前所見	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-
着床後所見	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-

投与量（mg/kg/week）	0（対照）		50		150		450	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
病理学的検査								
成熟前死亡動物数	0	0	0	0	1（TK群）	0	0	0
剖検所見（Sub group 1）								
水腫（最終投与部位）	0	0	0	0	1	0	9	5
暗色巣（最終投与部位）	9	4	3	10	9	8	16	12
病理組織学的検査（主試験群）								
皮下水腫（最終投与部位）								
ごく軽度	0	0	0	0	2	3	0	4
軽度	0	0	0	0	5	0	13	10
中等度	0	0	0	0	0	0	3	1
皮下の亜急性炎症（最終投与部位）								
ごく軽度	13	3	3	10	8	5	9	14
軽度	0	0	0	0	1	3	10	4
皮下の出血（最終投与部位）								
ごく軽度	9	2	3	5	5	5	14	11
軽度	0	0	0	0	2	2	1	
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
骨密度測定	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, 対照群については，群の平均値を示す。

- = 特記すべき所見なし，GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準， PND = 生後日齢。

2.6.7.16　局所刺激性試験

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種/系統	投与経路	投与濃度（mg/mL）	性別及び各群の動物数	特記所見	試験番号及び試験依頼者の参照番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ウサギ/NZW	第 1 群：動脈内，筋肉内 第 2 群：傍静脈，皮下，静脈内	0（溶媒/処方）[a]，150	6M	フレマネズマブを静脈内，動脈内，傍静脈，皮下及び筋肉内の投与経路で単回投与したところ，局所刺激について良好な忍容性を示した。大部分の所見の発現率及び/又は程度は，対照部位と投与部位とで同程度であったため，被験物質の影響ではなく操作に起因する変化と考えられた。この結果から，フレマネズマブの局所刺激性が忍容できることが示された。	AB21806/ DS-2017-025	4.2.3.6-01

[a] 溶媒は，16 mM ヒスチジン，6.6%スクロース，0.2 mg/mL ポリソルベート 80 及び 0.136 mg/mL EDTA を含有する pH 5.5 の溶液であった。1 回の投与量は，動脈内投与及び静脈内投与で 2 mL，筋肉内投与で 1 mL，傍静脈投与で 0.5 mL，皮下投与で 5 mL であった。投与液の剤形は溶液であった。

EDTA = エチレンジアミン四酢酸，M = 雄。

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17 その他の毒性試験

被験物質：フレマネズマブ（遺伝子組換え）（JAN）

動物種/ 系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	適用 時間	投与量 （mg/kg）	特記所見	報告書番号	CTD の記載箇所 （資料番号）
ラット/SD	In vitro	2 時間	2 及び 20 µg/mL	フレマネズマブ投与により，甲状腺のコロイド並びに傍濾胞細胞の細胞質及び細胞質顆粒が特異的に染色された。全般的に，組織交差反応性試験における SD ラットで認められたフレマネズマブ投与による染色パターンは，本被験物質を用いた今後の毒性試験において適切な試験動物種であることを示した。ただし，使用する可能性のある 3 種の試験動物（カニクイザル，ウサギ及び SD ラット）のうち，SD ラットで認められたフレマネズマブの染色パターンは，規定に従って染色したヒト組織で認められたフレマネズマブの染色パターンとの類似度が最も低かった。	IM1329	4.2.3.7.2-01
ウサギ/NZW	In vitro	2 時間	2 及び 20 µg/mL	フレマネズマブ投与により，稀に，副甲状腺の上皮の細胞質及び細胞質顆粒，並びに甲状腺の傍濾胞細胞が特異的に染色された。概ね，フレマネズマブの染色パターンは，ウサギ組織とヒト組織とで類似していた。このため，ウサギは今後の毒性試験における適切な動物種であると考えられた。	IM1355	4.2.3.7.2-02

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
カニクイザル	In vitro	2 時間	2 及び 20 µg/mL	フレマネズマブ投与により，甲状腺のコロイド，濾胞上皮及び傍濾胞細胞が特異的に染色された。概ね，フレマネズマブの染色パターンは，カニクイザル組織とヒト組織とで類似していた。このため，カニクイザルは，本被験物質を用いた今後の毒性試験における適切な試験動物種であると考えられた。	IM1328	4.2.3.7.2-03
ヒト	In vitro	2 時間	2 及び 20 µg/mL	1 名のドナーの組織では，下垂体（下垂体前葉）の上皮において，細胞質及び細胞質顆粒に，稀に被験物質特異的な染色がみられた。in vivo における組織交差反応性が持つ意義は，細胞膜が染色される場合に大きくなると判断された。その理由は，生体内の無傷の細胞では，本被験物質は，細胞質よりも細胞膜に到達しやすいためである。規定に従って処理した組織では，フレマネズマブによる膜状部位の明らかな染色はみられなかった。ただし，被験物質が細胞質部分に到達する可能性に疑問があるため，in vivo における細胞質染色との関連は不明確であった。	IM1327	4.2.3.7.2-04
ヒト	In vitro	4 時間	1，10，100 µg/mL	フレマネズマブは，検討した 3 種類のヒト炎症促進性サイトカイン（腫瘍壊死因子 α，インターロイキン 6 及びインターフェロン γ）の統計学的に有意な放出を誘発しなかった。	111320	4.2.3.7.2-05（参考資料）
ヒト	In vitro	30 分間インキュベーション	0.51～51 mg/mL	フレマネズマブは，ヒト全血において溶血を引き起こさず，ヒトドナーの血漿との適合性を示した。	08GR369	4.2.3.7.7-01（参考資料）