目次

1. まとめ 2
2. 単回投与毒性試験....4
3. 反復投与毒性（トキシコキネティックス評価を含む）....4
3.1 雄のカニクイザルを用いたAMG 334の探索的な1カ月間反復皮下投与毒性試験（114005試験）....4
3.2 カニクイザルを用いたAMG 334の1カ月間反復皮下投与及び単回静脈内投与毒性試験並びに4カ月間回復性試験（113724試験）....5
3.3 AMG 334：カニクイザルを用いた3及び6カ月間反復皮下投与毒性試験並びに15週間回復性試験（113732試験）....6
4. 遺伝毒性試験....8
5. がん原性試験....8
6. 生殖発生毒性試験（トキシコキネティックス評価を含む）....9
6.1 AMG 334：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験並びに6カ月間の生後観察（113734試験）....9
6.2 幼若動物を用いた試験....11
7. 局所刺激性試験....11
8. その他の毒性試験....11
8.1 免疫原性試験....11
8.2 免疫毒性試験....12
8.3 作用機序解明試験....12
8.4 依存性試験 12
8.5 代謝物に関する試験....13
8.6 不純物に関する試験....13
8.7 その他の試験....13
8.7.1 AMG 334：一部のカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（117454試験）....13
8.7.2 ヒト組織を用いたAMG 334の*ex vivo*組織交差反応性試験（113722試験）....14
8.7.3 AMG 334：ヒト摘出冠動脈を用いた試験（121150試験）....14
9. 考察及び結論....14
10. 参考文献 16

1. まとめ

エレヌマブ（AMG 334）は、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いて遺伝子組換えにより製造されたヒト免疫グロブリンG2（IgG2）モノクローナル抗体である。本薬は1344個のアミノ酸で構成され、その分子量は約150 kDaである。エレヌマブはカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）受容体（-R）に対する抗体であり、CGRPの作用を阻害する。エレヌマブはCGRP-Rに高い親和性で結合し（解離平衡定数[K_d]は56 pM）、ヒトCGRP-RにおけるCGRPの作用を完全に阻害する。その50%阻害濃度（IC_{50}）は2.3 nMである。エレヌマブは、アドレノメデュリン-1受容体、アドレノメデュリン-2受容体、カルシトニン受容体及びアミリン受容体といった構造的関連のある受容体ファミリーのいずれに対しても活性を示さない。ヒト受容体における作用と同様に、エレヌマブはカニクイザルCGRP-Rを強力かつ完全に阻害し、そのIC$_{50}$は5.7 nMであるが、ラット受容体に対する阻害作用は認められない（IC_{50}は10 μM以上）。ヒトCGRP-R複合体に対するエレヌマブの結合親和性（解離定数［K_i］は20 pM）は、ウサギ又はイヌのCGRP-Rに対する結合親和性（K_iはそれぞれ230及び260 nM）と比較して、10000倍高い（モジュール2.6.2 第2.5項）。エレヌマブ結合領域のアミノ酸配列は、ラットとマウスで高い相同性のため、マウスを用いた交差反応性試験は実施しなかった。したがって、ラット、マウス、イヌ及びウサギは、非臨床毒性評価に適切でない。カニクイザルにおけるエレヌマブのCGRP-R阻害作用の薬力学的（PD）作用のエビデンスは、*in vivo*カプサイシン誘発による皮膚血流量増加に対する用量依存的な阻害作用により確認され、3 mg/kg以上の用量で最大の阻害作用が認められた（モジュール2.6.2 第2.6項）。このことから、臨床プログラムを担保するための非臨床毒性試験は、カニクイザルを用いて実施した。

臨床プログラムにおける予定投与経路に合わせるため、すべての反復投与毒性試験において皮下（SC）投与経路を使用した。反復投与毒性試験ではPD解析は実施しなかったが、評価した用量での薬物曝露量は、*in vivo*カプサイシン誘発による皮膚血流量試験において最大の薬理学的反応が得られた用量／曝露量を、大幅に上回っていた。エレヌマブの投与頻度は、反復投与毒性試験では週2回又は3回、拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（ePPND）では2週に1回（Q2W）とした。反復投与毒性試験及びePPND試験で使用した対照物質であるA52SuT緩衝液の組成は、10 mM酢酸ナトリウム、9.0%（w/v）精製白糖及び0.004%（w/v）ポリソルベート20（pH 5.2）である。すべての毒性試験におけるエレヌマブの全身曝露量を、遊離型エレヌマブを測定するための酵素免疫測定法を用いて評価した（モジュール2.6.4）。用量及び投与頻度は、医薬品規制調和国際会議ガイドライン（ICH S6(R1)）に従い、薬物曝露量の動的範囲及びヒトへのリスク評価を可能にする適切な曝露量比が、いずれも得られるように設定した。さらに、完全なヒト組織パネル及び特定のカニクイザル組織を用いた*in vitro*交差反応性試験並びにエレヌマブの血管作動性反応の有無を評価するための*in vitro*摘出ヒト冠動脈試験も実施した。毒性試験及びトキシコキネティクス（TK）試験（114005試験を除く）は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）規制に従って実施し、経済協力開発機構（OECD）の基準を満たすものであった。

エレヌマブの非臨床毒性試験の一覧表を表 1に示す。

表 1　非臨床毒性試験の一覧表

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Repeat-dose Studies			
1-Month Subcutaneous Injection Exploratory Toxicity Study of AMG 334 in Male Cynomolgus Monkeys	[redacted]	No	114005
A 1-Month Subcutaneous and Single Dose Intravenous Toxicity Study of AMG 334 in Cynomolgus Monkeys With a 4 Month Recovery Period		Yes	113724
AMG 334: 3 Month and 6 Month Subcutaneous Toxicology Study in the Cynomolgus Monkey With a 15 Week Recovery Period		Yes	113732
Reproductive and Developmental Toxicity Studies			
AMG 334: Enhanced Pre Postnatal Development Study in the Cynomolgus Monkey with a 6 Month Postnatal Evaluation		Yes	113734
Other Toxicity Studies			
AMG 334: Human Isolated Coronary Artery Study		No	121150
AMG 334: Tissue Cross Reactivity Study in Limited Cynomolgus Monkey Tissues		Yes	117454
Tissue Cross reactivity of AMG 334 With Human Tissues Ex Vivo		Yes	113722

GLP = Good Laboratory Practice

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図（ECG）検査、体温、呼吸数、臨床検査、肉眼観察及び器官重量において、エレヌマブ関連の毒性変化は認められなかった。一部の動物で、皮下投与部位の変化が観察された。さらに、免疫複合体関連病変と一致する血管炎症を反映した病理組織学的変化が一部の動物で観察され、循環血中抗エレヌマブ免疫複合体に起因すると考えられた。ヒトタンパク質をカニクイザルに投与すると、それに関連して、しばしばヒトタンパク質に対する抗体が発現するが、動物モデルにおける免疫原性は、ヒトにおける抗薬物抗体（ADA）の発現頻度又は免疫を介した有害事象についての予測的価値は低い（Ponce et al, 2009、Bugelski and Treacy, 2004、Koren et al, 2002）。3及び6カ月間反復投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）は、検討した最高用量である150 mg/kgの週2回投与に設定された。NOAELでみられた最高濃度（C_{max}）は2620 µg/mLであった。Day 0からDay 7までの血中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}7d}$）は15300 µg·day/mLであり、ヒトで用いられた用量の140 mg月1回投与（QM）の約123倍であった（表 5）。

ICH S6(R1) に従い、エレヌマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。がん原性リスクを評価するための非臨床試験は実施しなかったが、エレヌマブのがん原性の有無に関する包括的な評価を、薬物の標的及び経路に関する知見、効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験、非臨床試験で得られたデータ並びに特にがん原性リスクを検討した広範な文献のレビューに基づいて実施した。これらの評価によると、エレヌマブの長期臨床使用に関連するがん原性のリスクはないと結論される。

エレヌマブを妊娠カニクイザルに50 mg/kgの用量で2週に1回で妊娠20～22日から分娩まで皮下投与したときの忍容性は良好で、母動物毒性及び胎児／出生児死亡率への影響はみられず、生後6カ月までの出生児の成長及び発達への影響は認められなかった。母動物及び出生児発生に関する無影響量（NOEL）は50 mg/kg 2週に1回投与（$AUC_{0\ 14d}$は4280 µg·day/mL；C_{max}は422 µg/mL）に設定され、

ヒトで用いられた用量の140 mg 4週に1回投与（Q4W）との曝露量比（AUCに基づく）は約17倍であった（表 5）。分娩後（PPD）又は生後（BD）14、28及び91日におけるエレヌマブの母動物／出生児の平均血清中濃度は、それぞれ66／117 μg/mL、23／46 μg/mL及び0.009／0.188 μg/mLであった。生後1カ月間の出生児平均血清中濃度は、ヒトで用いられた用量の140 mg 月1回投与における定常状態でのC_{max}の約1.4～3.4倍であった。

以上、カニクイザルを用いた非臨床試験において、ヒトで用いられた用量の140 mg 月1回投与で得られた曝露量（AUC）の123倍まで（反復投与毒性試験）又は17倍まで（拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験）、エレヌマブ関連の毒性は認められなかった。これらの非臨床試験の結果により、ヒトへのリスクに関して懸念される安全性シグナルはないことが示唆される。

2. 単回投与毒性試験

1カ月間反復投与毒性試験（113724試験）には単回静脈内（IV）投与群（100 mg/kg）が含まれており、この用量で急性毒性は認められなかった。また、カニクイザルを用いた安全性薬理試験（モジュール2.6.2 第4.1項 113726試験）での単回投与後（225 mg/kg、皮下投与）及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（114005、113724及び113732試験）の初回投与後（225 mg/kgまでの用量）において、急性毒性は認められなかった。エレヌマブについて単回投与毒性試験は実施しなかった。

3. 反復投与毒性（トキシコキネティックス評価を含む）

3.1 雄のカニクイザルを用いたAMG 334の探索的な1カ月間反復皮下投与毒性試験（114005試験）

エレヌマブについて、探索的な1カ月間反復投与試験を実施した。雄のカニクイザル（1群3匹）に、エレヌマブを0、75又は225 mg/kgの用量で週2回、1カ月間皮下投与するか、又は75 mg/kgの用量で週3回、1カ月間皮下投与した。

TKパラメータを表 2に示す。

表 2 雄のカニクイザルにおけるAMG 334の平均（SD）血清中トキシコキネティクスパラメータ（114005試験）

Dose (mg/kg)	Frequency	Repeat-dose for One Month					
		Week 1 (after first dose)			Week 4 (after first dose)		
		t_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC [a] (μg·day/mL)	t_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC [a] (μg·day/mL)
75	2 × weekly	2	435 (61)	1291 (163)	2	932 (74)	3345 (351)
75	3 × weekly	2	428 (24)	1012 (30)	1	1259 (125)	3298 (296)
225	2 × weekly	2	1436 (324)	4585 (917)	1	2861 (520)	9854 (1506)

AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration during dosing interval; SD = standard deviation; t_{max} = time to C_{max} reported as median.

[a] AUC is from time 0 to 4 days post-dose for twice weekly dosing and from time 0 to 3 days post dose for 3 times weekly dosing

一般状態観察、摂餌量、体重、臨床検査、器官重量及び剖検において、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。エレヌマブ関連の病理組織学的変化はみられなかった。エレヌマブへの曝露量は、週2回75～225 mg/kg投与で、用量に比例していた。75 mg/kgの用量の投与頻度を週3回に増加させても、明らかな曝露量の増加は認められなかった。検討したいずれの投与法においても、最終投与24時間後の脳脊髄液中エレヌマブ濃度は、血清中濃度の0.1%未満であった。全例とも抗エレヌマブ抗体（ADA）陰性であった。すべてのエレヌマブ投与群において、高い薬物濃度がイムノアッセイによるADAの検出を妨害した可能性があることから、ADAの存在の有無を評価するため、循環血中免疫複合体（CIC）アッセイも実施した。CICアッセイにおいて、75 mg/kg群の1匹で低濃度のCICが認められた。

3.2 カニクイザルを用いたAMG 334の1カ月間反復皮下投与及び単回静脈内投与毒性試験並びに4カ月間回復性試験（113724試験）

エレヌマブを、カニクイザル（1群雌雄各3匹）に、0、25、75及び225 mg/kgの用量で週2回、1カ月間皮下投与した。別の群（雌雄各3匹）にエレヌマブを100 mg/kgの用量で単回静脈内投与した。0及び225 mg/kg皮下投与の用量では、回復試験群（1群雌雄各2匹）もおいた。

雌雄を合わせたTKパラメータを表 3に示す。C_{max}及びAUCの増加は用量に比例し、曝露量に性差は認められなかった。

本試験の投与期間中にADAは検出されなかった。すべてのエレヌマブ投与群において、高い薬物濃度がイムノアッセイによるADAの検出を阻害する可能性があることから、ADAの存在の有無を評価するため、CICアッセイを実施した。25 mg/kg群の1匹のみにおいて、循環血中抗エレヌマブ免疫複合体が認められた。225 mg/kg群の休薬期間中の4匹の動物前例で結合抗体が検出され、4匹中3匹で検出可能なADAが認められた。

表 3 カニクイザルを用いた1カ月間反復投与毒性試験における雌雄を併合したAMG 334の平均（SD）血清中トキシコキネティクスパラメータ（113724試験）

Dose [a] (mg/kg)	Twice Weekly Dosing for One Month					
	Week 1 (study days 1 to 7)			Week 4 (study days 22 to 28)		
	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}7d}$ (µg·day/mL)	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}7d}$ (µg·day/mL)
25	5.00 (4.00-6.00)	317 (55.3)	1520 (271)	4.00 (4.00-7.00)	414 (130)	2520 (962)
75	4.50 (4.00-5.00)	944 (181)	4560 (719)	4.00 (4.00-5.00)	1470 (160)	8610 (861)
225	4.00 (4.00-5.00)	2230 (448)	10800 (1850)	4.00 (1.00-5.00)	3000 (543)	16800 (2750)

$AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 7 days - measured after first dose of the week;
C_{max} = maximum observed concentration; SD = standard deviation; t_{max} = time to Cmax reported as median (range).

[a] Following a single AMG 334 100 mg/kg IV administration, mean (SD) C_{max} and AUC (0 to 14 days) were 2510 (298) µg/mL and 7780 (1060) µg·day/mL, respectively.

一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、ECG、体温、呼吸数、臨床検査、肉眼観察及び器官重量において、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。エレヌマブ関連の病理組織学的変化はみられなかった。皮下及び静脈内投与部位の変化は、投与に関連するものと考えられた。

25 mg/kg群の雌1匹は、循環血中抗エレヌマブ免疫複合体の発現による二次的な免疫複合体関連病変（リンパ節の化膿性肉芽腫性炎症）の合併症がみられたため、29日目に安楽死させた。エレヌマブの血清中濃度は、22日目以降、この群の他の動物と比較して減少し、22日目に血清中でCICが検出された。この用量の他の動物では循環血中免疫複合体は検出されず、他の用量ではいずれの動物にも検出されなかった。ヒトタンパク質をカニクイザルに投与すると、それに伴って、しばしばヒトタンパク質に対する抗体の発現がみられるため、動物モデルにおける免疫原性は予測的価値が低く、ヒトで免疫原性がみられる割合及び免疫関連有害事象の発現率を過大に推定するものである（Ponce et al, 2009、Bugelski and Treacy, 2004、Koren et al, 2002）。

要約すると、エレヌマブをカニクイザルに週2回、1カ月間皮下投与するか又は単回静脈内投与したときの忍容性は、225 mg/kg皮下投与及び100 mg/kg静脈内投与（検討した最高用量）において良好であった。エレヌマブに直接関連する変化は認められなかった。循環血中抗エレヌマブ免疫複合体の発現による二次的な免疫介在性病変と同様の病理組織学的変化が、25 mg/kg群の1匹で観察された。NOAELは高用量の225 mg/kg（週2回、皮下投与）に設定され、この用量におけるC_{max}は3000 µg/mL、$AUC_{0\text{-}7d}$は16800 µg·day/mLであった。100 mg/kgの用量で単回静脈内投与したときの曝露量は、C_{max}が2510 µg/mL、$AUC_{0\text{-}14\,d}$が7780 µg·day/mLであった。

3.3 AMG 334：カニクイザルを用いた3及び6カ月間反復皮下投与毒性試験並びに15週間回復性試験（113732試験）

エレヌマブを、カニクイザルに、0、25又は150 mg/kgの用量で週2回、3及び6カ月間皮下投与した。計画剖検を、3カ月間（1群雌雄各3匹）及び6カ月間（1群雌雄各4匹）の投与期間終了時に実施した。6カ月間投与のみについて、0及び150 mg/kgの用量で、1群雌雄各2匹の回復性試験群をおいた。

25 mg/kg群の14匹中3匹の動物で、投与期間中に抗エレヌマブに対する中和抗体（NAb）が検出され、これに関連して曝露量減少がみられたため、TK解析から除外した。別の2匹の動物（1匹は25 mg/kg群、1匹は150 mg/kg群［CICも陽性］）で、投与期間中にADAが検出されたが、曝露量の明らかな（測定可能な）変化は認められなかった。少数例でADAが発現したにもかかわらず、エレヌマブ投与群に認められた薬物曝露量は、試験期間全体での毒性の有無に関する確実な評価を可能にするものであった。対照動物の一部（18匹中8匹）で、投与期間中にADA反応が発現した。このうち2匹では、試験中の1時点（90日目）で、血清中薬物濃度は低いながらも検出可能な値であった。溶媒対照のコンタミネーション検査を実施したが、ADA反応の原因は特定できなかった。対照動物におけるADAの存在は、試験結果の解釈に影響を及ぼすものではなかった。

雌雄を併合した血清中TKパラメータを表 4に要約する。C_{max}及びAUCの増加は用量に比例していた。3及び6カ月間の投与後において、曝露量の性差は認められなかった。11週目のAUC曝露量は初回投与後の曝露量と比較して高く（約3倍以下）、血清中における低用量のエレヌマブの投与による血清中での蓄積量が少ない場合を反映していたが、24週目には更なる蓄積（11週目と比較して）は認められなかった。

表４　カニクイザルを用いた3及び6カ月間反復投与毒性試験における雌雄を併合したAMG 344の平均（SD）血清中トキシコキネティクスパラメータ（113732試験）

	week 1 (study days 1 - 7)			week 11 (study days 78 - 85)			week 24 (study days 169 - 176)		
Dose (mg/kg)	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-7d} (µg·day/mL)	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-7d} (µg·day/mL)	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-7d} (µg·day/mL)
Repeat dosing for 3 months									
25[a]	5.0 (4.0-7.0)	338 (45.7)	1680 (157)	5.0 (1.0-6.0)	832 (368)	4250 (1200)	NA	NA	NA
150	4.5 4.0-6.0	2070 (382)	10200 (1210)	4.0 (1.0-4.0)	3110 (656)	18200 (3230)	NA	NA	NA
Repeat dosing for 6 months									
25[a]	4.5 (4.0-6.0)	318 (39.3)	1570 (206)	4.0 (1.0-4.0)	788 (140)	4920 (911)	4.0 (2.0-4.0)	648 (120)	4020 (722)
150	4.0 (4.0-6.0)	1960 (484)	9800 (2090)	3.6 (0.25-5.0)	2780 (612)	16000 (2810)	4.0 (1.0-5.0)	2620 (537)	15300 (3190)

AUC_{0-7d} = area under the concentration-time curve from time zero to 7 days; C_{max} = maximum observed concentration; NA = not applicable; SD = standard deviation; t_{max} = time to C_{max}, reported as a median (range).

[a] ADA positive animals, (1 male and 2 females) in the low dose (25 mg/kg group) were not included in the week 11 and week 24 toxicokinetic analysis.

投与期間を通して、エレヌマブ関連の一般状態の変化は観察されず、体重、摂餌量、体温及び呼吸数の変化は認められなかった。エレヌマブに関連したECG変化及び眼科学的変化はみられなかった。臨床検査パラメータ並びに骨形成及び骨吸収のマーカーには、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。エレヌマブに関連した器官重量の変化及び肉眼所見はみられなかった。

エレヌマブに関連した病理組織学的変化は、皮下投与部位の単核細胞浸潤のみであった。150 mg/kg群の雄1匹（6カ月間投与）で、抗エレヌマブ抗体及び免疫複合体の発現による二次的な病理組織学的変化として免疫介在性血管炎症が観察された。毒性標的器官及びエレヌマブ関連の肉眼的変化はみられなかったことから、回復性試験群については病理組織学的検査を実施しなかった。

以上、カニクイザルにエレヌマブを25及び150 mg/kgの用量で週2回、3及び6カ月間皮下投与したときの忍容性は良好であった。エレヌマブ関連の病理組織学的変化は、皮下投与部位の単核細胞浸潤のみであった。免疫複合体関連病変に一致する病理組織学的変化が1匹のサルにみられ、循環血中抗エレヌマブ免疫複合体に起因すると考えられた。NOAELは高用量の150 mg/kgに設定され、この用量におけるC_{max}は2620 µg/mL、$AUC_{0\text{-}7d}$は15300 µg·day/mLであった。

4. 遺伝毒性試験

エレヌマブは完全に天然アミノ酸から構成される遺伝子組換えモノクローナル抗体であり、無機リンカー、合成有機リンカー及びその他の非タンパク質部分を含有しない。これにより、エレヌマブがDNA又はその他の染色体物質と直接反応する可能性は極めて低いと考えられる。このため、ICH S6(R1) に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。

5. がん原性試験

ICH S6(R1) によると、がん原性評価が必要になるのは、その製品が一定の条件を満たす場合であり、エレヌマブに関しては、6カ月間を超えて本製剤が継続的に使用されると予想されることである。低分子治療薬については、マウス及びラットを用いたがん原性試験は、がん原性リスクを評価するための標準的な方法である。しかし、本薬はげっ歯類に対して生物活性を示さないモノクローナル抗体であり、エレヌマブでげっ歯類を用いたがん原性試験を実施することは適切ではない。エレヌマブはカニクイザルにおいて生物学的活性を示すが、この動物種はがん原性評価に適切なモデルではない。

がん原性リスクを評価するための非臨床試験は実施しなかったが、エレヌマブのがん原性の有無に関する包括的な評価を、予定している薬物の標的及び経路に関する知見、効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験、非臨床試験で得られたデータ並びに特にがん原性リスクを検討した広範な文献レビューに基づいて実施した。

評価を支持する重要な特徴を以下に記載するとともに、モジュール2.6.2 第3.8項で詳細に考察する。

- CGRP-Rは、種々の免疫細胞（ランゲルハンス細胞、樹状細胞、マクロファージ及びCD34陽性造血前駆細胞を含む）に発現する。CGRPは主に神経原性血管拡張のメディエーターであるが、炎症を低下又は回復させる作用もあり、樹状細胞、単球、マクロファージ、ナチュラルキラー細胞及びT細胞に対して広範な抑制作用を示す。腫瘍免疫は主にこれらの細胞によるものであ

るため、CGRPを阻害すると自然免疫及び適応免疫が亢進又は正常化する可能性があることから、腫瘍免疫は障害されないと予想される。

- CGRPと悪性腫瘍を関連付ける直接のエビデンスはない。CGRPノックアウトマウスに腫瘍を実験的に移植したところ、腫瘍サイズ及び血管新生が減少した。CGRPの上昇が、小細胞肺がん、前立腺がん、乳がん及び甲状腺がんを含む特定のヒト腫瘍から採取した血漿中及び腫瘍内に認められる。この動物モデルにおいて、過形成又は新生物を示唆するデータは認められない。
- エレヌマブはヒトモノクローナル免疫グロブリン（IgG2）であり、遺伝毒性はないと予想される。カニクイザルを用いた非臨床毒性試験では、ヒトで用いられた用量の140 mgの123倍（AUCに基づく）と高い状況において、細胞肥大、細胞過形成、組織傷害、免疫抑制／炎症、ホルモン変動又は前がん病変といった新生物の病理組織学的リスク要因のエビデンスは認められなかった。

これらの評価により、エレヌマブの長期臨床使用に関連するがん原性のリスクはないと結論される。

6. 生殖発生毒性試験（トキシコキネティックス評価を含む）

6.1 AMG 334：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験並びに6カ月間の生後観察（113734試験）

エレヌマブを、妊娠カニクイザルに、妊娠20～22日から分娩まで2週に1回皮下投与し（最多で1匹当たり合計11回投与）、母動物及びその出生児の発生への影響の有無を評価するとともに、妊娠中から出生にかけてエレヌマブを投与された母動物の出生児について、成長及び発達への影響を、生後6カ月まで評価した。生後観察として、外表、内臓及び骨格検査並びに行動観察を実施した。

投与開始時（妊娠20～22日）の年齢が6.0～9.2歳で、体重が3.0～7.1 kgの50匹からなる未処置の成熟した雌の妊娠カニクイザルを、対照群（20匹）又はエレヌマブ群（50 mg/kg；30匹）のいずれかに割り付け、意味のあるデータの解釈を可能にする十分な動物数を各群に確保した。エレヌマブ群のうち1匹は非妊娠が判明し（サル絨毛ゴナドトロピン分析に基づく）、6匹では器官形成期のエレヌマブ曝露量減少（TKデータに基づく）が認められたことから、これら7匹を試験から除外した。これはエレヌマブに対する既知の免疫原性に起因する可能性が示唆された。

妊娠動物を自然分娩させ、生後期間を通して母親に出生児を哺育させた。妊娠中の成熟雌について、妊娠状態検査（超音波による）、一般状態観察並びに摂餌量及び体重の測定を実施した。分娩後（生後）約6カ月間にわたって、一般状態観察及び体重測定（成熟及び出生児）、摂餌量測定（成熟）並びに成長及び発達の観察（出生児）を実施した。成熟雌あるいは出生児の血液検体を、妊娠期間及び分娩後（生後）期間を通した種々の時点で採取し、臨床検査パラメータ（血液学的検査及び血液生化学的検査）及びTKの解析を実施した。出生児は生後180 ± 2日に安楽殺した。すべての出生児について、外表検査及び内臓検査並びに組織の肉眼観察を含む完全な剖検を実施した。一部の器官の重量を測定し、組織を採取して保存したが、病理組織学的検査は実施しなかった。生後2週間以内に、神経行動学的評価を実施した。出生児の骨格検査は、生後120日に撮影したX線写真に基づいて行った。

TK解析によると、妊娠133日の投与後における成熟のエレヌマブ曝露量値（C_{max}及びAUC_{0-14d}）は、それぞれ422 µg/mL及び4280 µg·day/mLであった。分娩後（生後）観察期間中の分娩後（生後）14、28及び91日におけるエレヌマブの母動物／出生児平均血清中濃度は、それぞれ66／117 µg/mL、23／46 µg/mL及び0.009／0.188 µg/mLであった。カニクイザルにおけるIgG2モノクローナル抗体の既知の胎盤移行特性（Moffat et al, 2014）及び生後の出生児における母動物由来のIgGへの全身曝露量が無視できる程度であること（Van de Perre, 2003、Hurley and Theil, 2011）に基づくと、観察された出生児の曝露量は、子宮内で胎盤を介して生じた可能性がある。分娩後91日より後の成熟雌及び生後91日より後の全出生児において、エレヌマブの濃度はおおむね定量限界を下回った。

検出可能な濃度のエレヌマブが、対照群の2匹の母動物（1匹は妊娠48～76日、他の1匹は妊娠104～127日）で認められた。対照群の1匹の母動物及びその出生児で、検出可能な濃度のエレヌマブが、それぞれ分娩後14～28日及び生後14～98日に認められた。また、対照群の別の1匹の出生児で、検出可能な濃度のエレヌマブが、生後14日のみに認められた。溶媒対照のコンタミネーション検査を実施したが、検出可能な濃度のエレヌマブがみられた原因は判明しなかった。エレヌマブの曝露が一過性であったことから、この曝露はこれらの動物を対照として使用するための障害となるものではなく、TKを含めた本試験の全体の解釈に影響を及ぼすものでもないと考えられた。

一般状態観察、摂餌量、体重、妊娠期間長及び妊娠成績／生後成績（すなわち胎児死亡率又は出生児死亡率）には、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。

エレヌマブ投与群における胎児死亡数と出生児死亡数を合わせた値（23匹中7匹、30.4%）は、対照群の値（20匹中5匹、25.0%）及び試験施設の背景対照値（平均29.1%、範囲：20.0～42.9%）と同程度であり、カニクイザルを用いた生存児出産試験で予想される結果の範囲内であった。妊娠期間及び出生児の性比には、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。

全体として、胎児死亡数は対照群で20匹中3匹（15.0%）、エレヌマブ 50 mg/kg群で23匹中4匹（17.4%）であった。エレヌマブ群の胎児死亡数（総数及び各トリメスター当たりの数）は、対照群と同程度であり、試験施設の背景対照値（2008～2015年に実施された18のePPND試験における平均胎児死亡率は22.5%、範囲は6.7～38.9%）を下回っていた。

総出生児死亡数（死亡率）は対照群で17匹中2匹（11.8%）、エレヌマブ 50 mg/kg群で19匹中3匹（15.8%）であり、2群間で同程度であるとともに、試験施設における過去18件のePPND試験での背景データ（平均出生児死亡率は10.1%、範囲：0～20%）の範囲内であった。本試験におけるすべての出生児死亡は、初妊娠のカニクイザルに共通した背景所見であり、早産又は母動物の育児放棄／出生児への傷害行為と関連していた。したがって、発現した出生児死亡は、母動物に対するエレヌマブの投与とは関連ないと考えられた。

妊娠成績／生後成績には、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。流産又は死産した胎児、死亡出生児又は途中安楽殺した出生児及び生後180 ± 2日の最終剖検時まで生存した出生児において、エレヌマブ関連の胎盤の変化はみられず（観察可能であった場合）、体重、形態計測値、肉眼病理学的検査、外表、内臓、心臓又は骨格検査並びに神経行動評価（該当する場合）においても、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。

以上、妊娠したカニクイザルにエレヌマブを50 mg/kg 2週に1回投与の用量で妊娠20～22日から分娩まで皮下投与したときの忍容性は良好であった。母動物毒性はみられず、胎児／出生児の死亡並

びに生後6カ月までの成長及び発達への影響も認められなかった。母動物及び出生児発生に関するNOELは50 mg/kg 2週1回投与であった。

6.2 幼若動物を用いた試験

エレヌマブは、小児（6歳以上、12歳未満）及び青少年（12歳以上、18歳未満）を含めた片頭痛発作の発症抑制の目的で開発中である。

反復投与毒性試験で評価した動物の年齢は、少なくともヒトの性成熟過程における小児期後期／前期思春期に相当する。たとえば、カニクイザルの1カ月間反復投与毒性試験（113724試験）では開始時2.5～4.3歳の動物を使用し、3及び6カ月間反復投与毒性試験（113732試験）では、開始時4.3～7.4歳の動物を使用した。上記の毒性試験における年齢の範囲は、概ねヒトでは約10歳以上に相当するが、一部の成長過程（免疫系の発達など）は、より若いヒトの年齢に外挿するのが適切と考えられる（Morford et al, 2011、Martin and Weinbauer, 2010、Beck et al, 2006）。これらの反復投与毒性試験によると、12歳以上の小児被験者を対象とした評価は、非臨床安全性の観点から支持される。

小児における安全性をさらに担保するための非臨床試験として、カニクイザル発生時の母動物曝露によりエレヌマブの影響の有無を評価するePPND試験を実施した。生後3カ月（ヒトでは0～2歳に相当する [Weinbauer et al, 2012]）までの新生児曝露（胎盤移行の結果）がみられたが、出生児の成長及び発達にはエレヌマブに関連した影響は認められなかった。第6.1項に記述したように、発生に関するNOELは50 mg/kg 2週1回投与であった。

今後の臨床試験への6歳以上、12歳未満の小児の組入れを担保するため、幼若カニクイザルを用いた毒性試験を計画中である。

7. 局所刺激性試験

エレヌマブについて、専用の局所刺激性試験は実施しなかった。エレヌマブの局所刺激性については、反復投与毒性試験で評価した。エレヌマブに起因すると考えられる局所不耐容を示唆する肉眼的変化及び病理組織学的変化はみられなかった。皮下投与部位に肉眼的変化あるいはは軽微から中等度の病理組織学的変化がみられたが、これらは皮下投与に起因すると考えられた。エレヌマブの単回静脈内投与による肉眼的変化はみられず、病理組織学的変化は対照と同様に静脈内投与に一致したものであり、エレヌマブとの関連は認められなかった。

8. その他の毒性試験

8.1 免疫原性試験

免疫原性を評価するために特異的にデザインされた試験は実施しなかった。その代わり、反復投与毒性試験（114005、113732及び113724試験）における一般毒性プログラムの一環として、免疫原性を評価した。探索的1カ月間反復投与毒性試験（114005試験）では、全例とも抗エレヌマブ抗体陰性であった。GLP適用の1カ月間反復投与毒性試験（113724試験）では、投与期間中に抗エレヌマブ抗体は検出されなかった。休薬期間中に4匹の動物全例で結合抗体が検出され、4匹中3匹でエレヌマ

ブに対するNAbが検出された。3及び6カ月間反復投与毒性試験（113732試験）では、投与期間中に低用量群（25 mg/kg）の14匹中3匹で抗エレヌマブに対するNAbが検出され、それに関連して投与期間中のエレヌマブ曝露量が減少した。これらの動物はTK評価から除外した。この試験では、他の2匹（25 mg/kg群の1匹及び150 mg/kg群の1匹）で抗エレヌマブ結合抗体も検出されたが、TKパラメータへの影響はみられなかったことから、エレヌマブの確実な安全性評価が可能となった。すべてのエレヌマブ投与群における高い血清中薬物濃度が投与期間中のイムノアッセイでのADA検出に干渉した可能性があるため、反復投与毒性試験（114005、113732及び113724試験）におけるADAの有無を評価するための代替法として、CICアッセイを実施した。循環血中抗エレヌマブ免疫複合体が少数例で検出され、一部の動物ではそれに関連して免疫介在性病変に一致する病理組織学的変化が認められた。ヒトタンパク質をカニクイザルに投与すると、それに関連して、しばしばヒトタンパク質に対する抗体が発現するため、動物モデルにおける免疫原性は、ヒトにおけるADAの発現又は免疫を介した有害事象についての予測的価値は低い（Ponce et al, 2009、Bugelski and Treacy, 2004、Koren et al, 2002）。

臨床試験において、ADAを評価した。免疫原性の結果及び影響の解析を、免疫原性総括報告書（モジュール5）に要約する。

8.2 免疫毒性試験

エレヌマブの反復投与毒性試験で得られた結果、本薬の薬理学的特性、予定対象患者集団及びICH S8に従って考慮した他の要因に基づくと、懸念は確認されなかったことから、更なる免疫毒性試験は必要ないと考えられた。

8.3 作用機序解明試験

非臨床毒性試験においてエレヌマブの毒性所見はみられなかったことから、作用機序解明試験は実施しなかった。

8.4 依存性試験

エレヌマブの薬物乱用又は誤使用の可能性を示唆するエビデンスはなく、いずれも認められていないことから、規制ガイドラインICH M3(R2) に従い、依存性試験は実施しなかった。他の抗体と同様に、エレヌマブの一部は血液脳関門を通過する可能性があるが、中枢における濃度（血中濃度の0.3%以下）及び活性は低いと予想される（St-Amour et al, 2013、Watts and Dennis, 2013、Yu and Watts, 2013、Frank et al, 2011、Jones and Shusta, 2007、Poduslo et al, 1994、Triguero et al, 1989）。カニクイザルを用いた探索的1カ月間反復投与毒性試験（114005試験）において脳脊髄液中のエレヌマブ濃度を測定したところ、血清中濃度の0.1%未満であった。神経行動変化に対するエレヌマブの影響を、テレメーター装着カニクイザルを用いた試験で評価した（モジュール2.6.2 第4.1項 113726試験）。検討した最高用量（225 mg/kg，皮下投与）までの神経学的評価において、エレヌマブ関連の変化は認められなかった。平均最高血清中濃度値は、ヒトで用いられた用量の140 mg 4週に1回投与での定常状態におけるヒトC_{max}の約38倍であった。また、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

（113724及び113732試験）では、ヒトで用いられた用量の140 mg 4週に1回投与で得られた最高血清中濃度の88倍までの血清中濃度で、出生児（113734試験）では3.4倍まで、神経行動に関する一般状態の変化はみられなかった。さらに、これらの試験において、神経組織の病理組織学的変化は認められなかった。最後に、文献（効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験を含む）の包括的レビューによると、CGRP及びCGRP-Rは、鎮静、多幸症、知覚及びその他の認知のゆがみ、幻覚並びに気分変化といった乱用の原因となることが確認されている正の向精神作用を示さないと考えられる。また、低分子CGRP-R拮抗薬のtelcagepantは、リクリエーショナル・ドラッグ使用者を対象とした臨床乱用性試験において、乱用の可能性を示さなかった（Blanchard et al, 2010）。

これまでに実施されたエレヌマブの臨床試験において、乱用性を特徴づける有害事象は確認されていない（モジュール2.7.3及びモジュール2.7.4）。

8.5 代謝物に関する試験

モノクローナル抗体の代謝の結果として、通常の異化的分解により、低分子ペプチド及び個々のアミノ酸が生成すると予想されることから、代謝物に関する試験は適切でないと考えられる（モジュール2.6.4 第7項）。このため、代謝物に関する試験は必要ないと考えられた。

8.6 不純物に関する試験

エレヌマブはバイオテクノロジー医薬品であり、ICH Q3A(R2)/B(R2) ガイドラインに記述された不純物の毒性試験は該当しない。

8.7 その他の試験

8.7.1 AMG 334：一部のカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（117454試験）

エレヌマブ結合の交差反応性を検討するため、Alexa-エレヌマブを、2つのタンパク質濃度（5及び25 µg/mL）で、3匹の正常なカニクイザルから採取した小脳、大脳皮質及び脊髄組織の凍結切片を用いて、免疫組織化学的検査により結合を評価した。この試験は、以下に述べる完全なヒト組織パネルを用いて実施した組織交差反応性試験の追跡調査として実施した。

3匹全例において、特異的なAlexa-エレヌマブ染色が、カニクイザルの小脳及び脊髄に認められた。小脳では、Alexa-エレヌマブ特異的染色として、強度が2+（軽度）ないし3+（中等度）のびまん性染色が、プルキンエ細胞の細胞質及び突起を含む分子層灰白質の神経網にみられた。脊髄では、5及び25 µg/mLの抗体濃度で、強度が2+ないし3+のびまん性染色が中心部灰白質の神経網にみられ、神経膠突起の細線維状染色として外側白質に進展していた。いずれの動物においても、大脳皮質には特異的染色は認められなかった。

8.7.2　ヒト組織を用いたAMG 334の*ex vivo*組織交差反応性試験（113722試験）

エレヌマブ結合の交差反応性を検討するため、Alexa Fluor 488標識エレヌマブ（Alexa-エレヌマブ）を、2つのタンパク質濃度（5及び25 µg/mL）で、完全なヒト組織パネルの凍結切片を使用し、エレヌマブとの結合を免疫組織化学的検査により評価した。

特異的Alexa-エレヌマブ染色が、ヒトの小脳、脊髄及び下垂体（予想される発現に一致）に認められた。小脳では、強度が2+のびまん性染色が分子層灰白質の神経網にみられ、脊髄では、強度が2+の散在性細線維状染色が神経網に認められた。強度が2+の顆粒状染色が、25 µg/mLのみにおいて、下垂体前葉細胞の細胞質にも認められた。他には、Alexa-エレヌマブによる特異的染色はみられなかった。

組織交差反応性試験における免疫組織化学的検査は、人工的で非生理的な条件において示すものであり、この方法では、モノクローナル抗体がヒト組織の切片と直接反応する。。これにより、*in vivo*投与では通常到達しない細胞及び組織に抗体が接近する。モノクローナル抗体は大型分子であり、非病的状態では血液脳関門を容易に通過しないため（Boado et al, 2010、Pardridge, 2007）、小脳及び脊髄にはほとんど接近できない。同様に、エレヌマブはモノクローナル抗体であり、細胞膜を通過できないため、細胞質に接近できないと予想される。下垂体の細胞への結合は、エレヌマブに関して安全性上の懸念となるものではないと考えられる。カニクイザルを用いた最長6カ月間の反復投与毒性試験において、神経行動変化はみられず、脳、脊髄及び下垂体の病理組織学的変化も認められなかった。また、カニクイザルを用いたePPND試験において、出生児の神経行動変化はみられなかった。したがって、組織交差反応性試験でみられた染色は、ヒトにおける安全性上の懸念を提示するものではない。

8.7.3　AMG 334：ヒト摘出冠動脈を用いた試験（121150試験）

この探索的な*in vitro*試験として、エレヌマブの血管収縮能の有無を、ヒト冠動脈を用いて検討し、5-$HT_{1B/1D}$受容体アゴニストのスマトリプタン（陽性対照）と比較した。7例のドナーの心臓弁（54～81歳、平均年齢64歳）からヒト冠動脈の近位部及び遠位部を採取し、エレヌマブの血管収縮能の有無を検討した。

エレヌマブは、検討した最高濃度（1 µmol/L）まで、冠動脈の近位及び遠位の収縮を誘発しなかった。エレヌマブはCGRPを介した血管拡張を競合的に阻害した。スマトリプタンは血管収縮を誘発し、エレヌマブとスマトリプタンの併用による作用はスマトリプタン単独での作用と同じであった。

9.　考察及び結論

エレヌマブの臨床使用及び承認申請のため、該当する規制ガイドライン（ICH S6[R1]）に従って、包括的な一連の毒性試験を実施した。エレヌマブの種特異性に基づき、臨床プログラムを担保するための毒性試験にはカニクイザルを使用した。

実施した非臨床毒性試験は、探索的1カ月間反復投与毒性試験（週2回又は週3回の皮下投与）、1カ月間反復投与毒性試験（週2回の皮下投与、単回静脈内投与群を含む）、3及び6カ月間反復投与

毒性試験（週2回の皮下投与）並びに胚・胎児発生／出生後発達の評価であった。また、完全なヒト組織パネル及び特定のカニクイザル組織を用いた*ex vivo*組織交差反応性試験並びにエレヌマブの血管作動性反応の有無を評価するための*in vitro*摘出ヒト冠動脈試験も実施した。

いずれも試験においても、ヒトで用いられた用量140 mg 月1回投与の用量で得られる曝露量を大幅に上回り（AUCは最大で123倍）で、エレヌマブを介した毒性は認められなかった（表 5）。

以上、これらの非臨床試験データから、ヒトへのリスクとして懸念される安全性シグナルはないと考えられる。

表 5　カニクイザルを用いたエレヌマブの主要な毒性試験における曝露量比

	Human Exposure [a]		Exposure Multiple (Based on $AUC_{0\text{-}T}$)		Exposure Multiple (Based on C_{max})	
Human Dose (mg)	$AUC_{0\text{-}28d}$ (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	Monkey 6 month [b]	Monkey ePPND [c]	Monkey 6 month [b]	Monkey ePPND [c]
140 QM SC	496	34	123	17	77	12

AUC = area under the unbound AMG 334 serum concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration; ePPND = enhanced pre-postnatal development; GLP = good laboratory practice; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = no observed effect level; QM = once a month; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic.

[a] Predicted from human population PK model Pharmacometrics Report 123319)

[b] Calculation based on TK parameters at the NOAEL of 150 mg/kg SC on day 169 from the 6 month GLP monkey toxicology study (Study 113732); $AUC_{0\text{-}7d}$ = 15300 μg·day/mL, C_{max} = 2620 μg/mL

[c] Calculation based on TK parameters at the NOEL of 50 mg/kg SC on gestation day 133 from the GLP ePPND study in the cynomolgus monkey (Study 113734); $AUC_{0\text{-}last}$ (last = 336h [14d]) = 4280 μg·day/mL, C_{max} = 422 μg/mL

The exposure margins were calculated by the following equations:

$$\text{AUC Exposure Margin} = \frac{\text{Monkey AUC}}{\text{Human AUC}} \times \frac{\text{Human AUC interval (28d)}}{\text{Monkey AUC interval (7 or 14d)}}$$

$$C_{max}\ \text{Exposure Margin} = \frac{\text{Monkey } C_{max}}{\text{Human } C_{max}}$$

10. 参考文献

Beck MJ, Padgett EL, Bowman CJ, et al. Nonclinical juvenile toxicity testing. In: Hood RD, ed. *Developmental and Reproductive Toxicology: A Practical Approach.* 2nd ed. CRC Press; 2006;263 327.

Blanchard RL, Sun H, McCrea JB, et al. A Clinical Study Demonstrates No Potential for Recreational Abuse of Telcagepant. American Headache Society, 52nd Annual Scientific Meeting, 2010.

Boado RJ, Zhou Q-H, Lu JZ, Hui EK-W, Pardridge WM. Pharmacokinetics and brain uptake of a genetically engineered bifunctional fusion antibody targeting the mouse transferring receptor. *Mol Pharm.* 2010;7:237-244.

Bugelski PJ, Treacy G. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. *Curr Opin Mol Ther.* 2004;6:10-16.

Frank RT, Aboody KS, Najbauer J. Strategies for enhancing antibody delivery to the brain. *Biochim Biophys Acta (BBA) – Reviews on Cancer.* 2011;1816:191-198.

Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients* 2011:3:442-474

International Conference on Harmonisation (ICH). Harmonized Tripartite Guideline M3(R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. June 2009.

International Conference on Harmonisation (ICH). ICH Harmonized Tripartite Guideline Q3A(R2). Impurities in New Drug Substances. October 2006.

International Conference on Harmonisation (ICH). ICH Harmonized Tripartite Guideline Q3B(R2). Impurities in New Drug Products. June 2006.

International Conference on Harmonisation (ICH). ICH Harmonized Tripartite Guideline S6(R1). Addendum to ICH S6 Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals. June 2011.

International Conference on Harmonisation (ICH). ICH Harmonized Tripartite Guideline S8. Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. Sept 2005.

Jones AR, Shusta EV. Blood-brain barrier transport of therapeutics via receptor mediation. *Pharm Res*. 2007;24:1759-1771.

Koren E, Zuckerman LA, Mire-Sluis AR. Immune responses to therapeutic proteins in humans - clinical significance, assessment and prediction. *Curr Pharmaceut Biotech.* 2002;3:349-360.

Martin PL, Weinbauer GF. Developmental toxicity testing of biopharmaceuticals in nonhuman primates: previous experience and future directions. *Int J Toxicol.* 2010;29:552-568.

Moffat GJ, Retter MW, Kwon G et al. Placental transfer of a fully human IgG2 monoclonal antibody in the cynomolgus monkey, rat and rabbit: a comparative assessment from during organogenesis to late gestation. *Birth Defects Res Part B* 2014;101:178-188.

Morford LL, Bowman CJ, Blanset DL, et al. Preclinical safety evaluations supporting pediatric drug development with biopharmaceuticals: strategy, challenges, current practices. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2011;92:359-380.

Pardridge WM. Drug targeting to the brain. *Pharmaceut Res.* 2007;24:1733-1744.

Poduslo JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:5705-5709.

Ponce R, Abad L, Amaravadi L, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: Assessment and interpretation of nonclinical safety studies. *Regul Tox Pharm.* 2009;54:164-182.

St-Amour I, Pare I, Alata W et al. Brain bioavailability of human intravenous immunoglobulin and its transport through the murine blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33:1983-1992.

Triguero D, Buciak JB, Yang J, Pardridge WM. Blood-brain barrier transport of cationized immunoglobulin G: Enhanced delivery compared to native protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:4761-4765

Van de Perre P. Transfer of antibody via mother's milk. *Vaccine.* 2003;21:3374-3376

Watts RJ, Dennis MS. Bispecific antibodies for delivery into the brain. *Curr Opin Chem Biol.* 2013;17:393-399.

Weinbauer GF, Chellman GJ, Rasmussen AD, Vogelwedde E. Use of Primate Pediatric Model. In: Hoberman AM, Lewis EM, eds. *Pediatric Nonclinical Drug Testing: Principles, Requirements, and Practices.* Wiley; 2012;255-279.

Yu YJ, Watts RJ. Developing therapeutic antibodies for neurodegenerative disease. *Neurotherapeutics.* 2013;10:459-472.

表 1　毒性試験の概要

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Repeat-dose Toxicity	Monkey cynomolgus	SC	4 weeks	0, 75, 225 (2x/week) 75 (3x/week)	No	[redacted]	114005 ([redacted])
	Monkey cynomolgus	SC or IV	SC: 4 weeks IV: Single dose	SC: 0, 25, 75, 225 (2x/week) IV: 0, 100	Yes	[redacted]	113724 ([redacted])
	Monkey cynomolgus	SC	13 or 26 weeks	0, 25, 150 (2x/week)	Yes	[redacted]	113732 ([redacted])
Pre-postnatal Development	Monkey cynomolgus	SC	GD 20 – 22, GD 35, then Q2W to parturition (up to 11 doses per animal)	0, 50 (Q2W)	Yes	[redacted]	113734 ([redacted])
Other Studies							
Other - Tissue Cross-reactivity	Monkey cynomolgus	*Ex vivo*	NA	5 and 25 µg/mL	Yes	[redacted]	117454 ([redacted])
	Human	*Ex vivo*	NA	5 and 25 µg/mL	Yes	[redacted]	113722 ([redacted])
Other	Human	*Ex vivo* (coronary artery)	NA	1 nM to 1 µM	No	[redacted] The Netherlands	121150 (none)

CRO = contract research organization; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; Q2W = every 2 weeks; SC = subcutaneous

[a] Unless otherwise specified.

表 2　トキシコキネティクス試験の概要

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Amgen (CRO) Study Number
Repeat-dose Toxicity	Monkey, cynomolgus	SC: 4 weeks	0, 75, 225 (2x/week); 75 (3x/week)	No	114005 ([redacted])
	Monkey, cynomolgus	SC: 4 weeks IV: Single dose	SC: 0, 25, 75, 225 (2x/week) IV: 0, 100	Yes	113724 ([redacted])
	Monkey, cynomolgus	SC: 13 or 26 weeks	0, 25, 150 (2x/week)	Yes	113732 ([redacted])
Pre-postnatal Development	Monkey, cynomolgus	SC	0, 50 (Q2W)	Yes	113734 ([redacted])

CRO = contract research organization; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; Q2W = every 2 weeks; SC = subcutaneous

表 3　トキシコキネティクスデータの概要

被験物質：エレヌマブ

		Mean (SD) Steady State Exposure in Cynomolgus Monkeys		Human Exposure [a]	
Dose (mg/kg)	Dose Frequency	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·day/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·day/mL)
25 [b]	Twice weekly	414 (130)	2520 (962)		
25 [c]	Twice weekly	648 (120)	4020 (722)		
50 [d]	Every two weeks	422 (69.7)	4280 (849)		
75 [b]	Twice weekly	1470 (160)	8610 (861)		
150 [c]	Twice weekly	2620 (537)	15300 (3190)		
225 [b]	Twice weekly	3000 (543)	16800 (2750)		
140 mg	Once monthly			34	496

AUC_{last} = area under the concentration-time curve during the interval; C_{max} = maximum observed concentration during a dosing interval; PK = pharmacokinetic; SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

[a] Dosing in humans was SC once monthly. Predicted from human population PK model (PK report 123319)

[b] Study 113724, dosed SC for 4 weeks, combined male and female data.

[c] Study 113732, dosed SC for 13 or 26 weeks, combined male and female data.

[d] Study 113734, enhanced pre- and postnatal development study dosed SC during the gestation period.

表 4　毒性試験：原薬／製剤

被験物質：エレヌマブ

Lot #	Purity (%)	Placebo Lot #	Amgen (CRO) Study Number	Type of Study
106375-26	[a]	0010029986	114005 (20008172)	Repeat-dose in cynomolgus monkey
0010081147	98.9	0010074069	113724 (20012155)	Repeat-dose in cynomolgus monkey
0010081147	98.9	0010074069, 0010112618	113732 (20016566)	Repeat-dose in cynomolgus monkey
0010081147 [b]	98.9	NA	121150 (none)	Other Studies - Other
0010081147	98.9	0010211425	113734 (20061712)	Pre-postnatal development
103858-34 Alexa-AMG334	> 98	NA	113722 (20010115)	Other Studies - Tissue cross-reactivity - Human
103858-34 Alexa-AMG334	> 98	NA	117454 (20037822)	Other Studies - Tissue cross-reactivity - Monkey

CRO = contract research organization; NA = not applicable.

[a] purity data not available

[b] A certificate of analysis was not included in the report for study 121150. Purity is based on the certificates of analysis for the same lot in the study 113724 and 113732 reports.

表 5　単回投与毒性試験

被験物質：エレヌマブ

Single dose studies using AMG 334 were not conducted. However, in the repeat-dose study 113724, a single-dose IV arm was conducted(表 7A).

表 6　反復投与毒性試験：主要な試験以外の試験

被験物質：エレヌマブ

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Monkey/ Cynomolgus	SC Lot #: 106375-26 (10 mM sodium acetate, 9.0% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2)	1 month	0, 75 2x weekly, 75 3x weekly 225 2x weekly	3M	not applicable (exploratory study)	No effects. Exposure was dose proportional between twice weekly 75 and 225 mg/kg regimens. Dosing 3x weekly did not significantly increase exposure. AMG 334 concentrations in cerebral spinal fluid were less than 0.1% of serum concentrations at 24 hours after the last dose. One animal at 75 mg/kg 3x weekly had a low level of CIC; however, based on lack of ADAs or CICs in other animals, immunogenicity results did not interfere with interpretation of the study results.	114005 (non-GLP)

ADA = anti-drug antibodies; CIC = circulating immune complex; GLP = Good Laboratory Practice; NOAEL = no observable adverse effect level; M = male; SC = subcutaneous

表 7A　反復投与毒性試験：主要な試験

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: A 1-Month Subcutaneous and Single Dose Intravenous Toxicity Study of AMG 334 in Cynomolgus Monkeys with a 4-Month Recovery Period	Test Article: AMG 334, Lot #0010081147
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: SC: 4 weeks, 2x weekly (9 doses). IV: single dose	Amgen Study No. 113724
Age at Initiation: 2.5 to 4.3 years	Duration of Postdose: 17 weeks	[redacted] Study No. [redacted]
Date of First Dose: 09 May 2011	Method of Administration: SC, IV	
	Vehicle/Formulation: 10 mM sodium acetate, 9.0% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2	GLP Compliance: Yes
Special Features: Circulating immune complex		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg IV, 225 mg/kg SC		

Dose (mg/kg) [a]	0 (IV, SC)		25 (SC)		75 (SC)		225 (SC)		100 (IV)	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3
Toxicokinetics, Mean (SD):										
AUC $_{(0\text{-}7d[SC],\ 0\text{-}14d[IV])}$ (μg·day/mL)										
Day 1	BQL[b]		1520 (271)		4560 (719)		10800 (1850)		NA	
Day 15	BQL		NA		NA		NA		7780 (1060)	
Day 22	BQL		2520 (962)		8610 (861)		16800 (2750)		NA	
C_{max} (μg/mL)										
Day 1	NA		317 (55.3)		944 (181)		2230 (448)		NA	
Day 15	NA		NA		NA		NA		2510 (298)	
Day 22	NA		414 (130)		1470 (160)		3000 (543)		NA	
Anti-AMG 334 binding antibodies – Positive/Total (%)[c]	1/4 (25) during recovery		0		0		4/4 (100) during recovery		0	

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7A　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 113724									
Dose (mg/kg)	0 (IV, SC)		25 (SC)		75 (SC)		225 (SC)		100 (IV)	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3
Anti-AMG 334 neutralizing antibodies – Positive/Total (%)[c]	0		0		0		3/4 (75) during recovery		0	
Circulating immune complex - Positive/Total (%)[d]	NA		1/6 (17) on day 22		NA		NA		NA	
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized	0	0	0	1[d]	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vital Signs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7A　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 113724									
Dose (mg/kg)	0 (IV, SC)		25 (SC)		75 (SC)		225 (SC)		100 (IV)	
Postdose Evaluation (Recovery) Number Evaluated	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0
Noteworthy Findings	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	NA	NA

- No noteworthy findings; ADA = anti-drug antibodies; AUC = area under the serum drug concentration-time curve from time 0 to 7 days (groups 1 to 4; [SC]) or 14 days (group 5 [IV]); BQL = below the quantifiable limit; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

[a] Animals in the 0 and 100 mg/kg groups received a single IV dose on day 15.

[b] All samples BQL (<10 ng/mL) except for one female (all samples between days 1 [including prestudy] through 11, had values slightly greater than the lower limit of quantification).

[c] All animals were negative pre-dose and during the dosing period. Positive results represent ADA detected at end of recovery period (2/sex/group [n = 4]).

[d] One female at 25 mg/kg was euthanized on day 29 due to dehiscence of a surgical site following excision of bilaterally enlarged inguinal lymph nodes on day 25. This was a consequence of immune complex-associated inflammation and not a direct effect of AMG 334. The animal had the following associated findings: decreased AMG 334 serum concentrations, detection of circulating immune complexes, low food consumption, decreased albumin, increased globulin and fibrinogen concentrations, increased neutrophil count, Döhle bodies, rare band neutrophils, decreased erythrocyte mass, increased reticulocyte count, dark red foci at the injection site, enlarged axillary and inguinal lymph nodes, small thymus, pyogranulomatous inflammation in the axillary and inguinal lymph node, pyogranulomatous vasculitis with fibrinoid necrosis of the vascular wall of coronary artery and aorta, granulomatous inflammation of the spleen, extramedullary hematopoieses in the spleen, myeloid hypercellularity of the bone marrow, hemorrhage and mixed cell infiltrate at the SC injection site.

表 7B　反復投与毒性試験：主要な試験

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity Species/Strain: Monkey/Cynomolgus Age at Initiation: 4.3 to 7.4 years Date of First Dose: 11 October 2011 Special Features: Bone biomarkers No Observed Adverse Effect Level: 150 mg/kg	Report Title: AMG 334: 3-Month and 6-Month Subcutaneous Toxicology Study in the Cynomolgus Monkey with a 15-Week Recovery Period Duration of Dosing: 13 or 26 weeks, 2x weekly (26 or 52 doses) Duration of Postdose: 15 weeks Method of Administration: Subcutaneous Vehicle/Formulation: 10 mM sodium acetate, 9.0% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2			Test Article: AMG 334, Lot #0010081147 Amgen Study No. 113732 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: Yes		
Dose (mg/kg)	0		25		150	
Number of Animals[a]	M: 9	F: 9	M: 7	F: 7	M: 9	F: 9
Toxicokinetics:						
$AUC_{0\text{-}7d}$ (µg·day/mL) Mean (SD)						
Day 1	BQL[b]		1620 (188)		9940 (1820)	
Day 78[c]	BQL[b]		4600 (1130)		16700 (3040)	
Day 169[c]	BQL		4020 (722)		15300 (3190)	
C_{max} (µg/mL) Mean (SD)						
Day 1	NA		326 (41.7)		1990 (444)	
Day 78[c]	NA		828 (285)		2890 (628)	
Day 169[c]	NA		648 (120)		2620 (537)	

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7B　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 113732					
Dose (mg/kg)	0		25		150	
Number of Animals[a]	M: 9	F: 9	M: 7	F: 7	M: 9	F: 9
Anti-AMG 334 binding antibodies – Positive/Total (%) [d]						
3 month study phase	5/18 (28)		3/14 (21)		0/18 (0)	
6 month study phase	8/12 (67)		4/8 (50)		1/12 (8)	
Recovery	3/4 (75)		NA		0/4 (0)	
Anti-AMG 334 neutralizing antibodies – Positive/Total (%)						
3 month study phase	4/18 (22)		3/14 (21)		0/18 (0)	
6 month study phase	8/12 (67)		3/8 (38)		0/12 (0)	
Recovery	3/4 (75)		NA		0/4 (0)	
Noteworthy Findings[d]						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-
Vital Signs	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7B　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 113732					
Dose (mg/kg)	0		25		150	
Number of Animals[a]	M: 9	F: 9	M: 7	F: 7	M: 9	F: 9
Noteworthy Findings[d]	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry						
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Bone Biomarkers	-	-	-	-	-	-
Terminal Procedures, Week 13, Number Evaluated	3	3	3	3	3	3
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Histopathology[e]						
Injection Sites: Infiltrate Mononuclear Cell Focal						
Injection Site 1						
Minimal	0	0	1	1	3	2
Injection Site 2						
Minimal	1	0	1	0	2	1
Injection Site 3						
Minimal	0	0	2	1	1	3
Mild	0	0	0	0	2	0
Injection Site 4						
Minimal	0	2	2	1	1	1
Mild	0	0	1	0	2	2
Terminal Procedures, Week 26, Number Evaluated	4	4	4	4	4	4
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7B　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity	Amgen Study No. 113732					
Dose (mg/kg)	0		25		150	
Number of Animals[a]	M: 9	F: 9	M: 7	F: 7	M: 9	F: 9
Histopathology[e]						
Injection Sites: Infiltrate Mononuclear Cell Focal						
Injection Site 1						
Minimal	0	0	2	3	1	2
Mild	0	0	0	0	2	1
Injection Site 2						
Minimal	0	0	1	4	2	2
Mild	0	0	0	0	2	1
Injection Site 3						
Minimal	2	2	3	3	2	2
Mild	0	0	0	0	2	1
Injection Site 4						
Minimal	0	0	3	3	3	3
Mild	0	0	0	0	1	1

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 7B　反復投与毒性試験：主要な試験（続き）

被験物質：エレヌマブ

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 113732	
Dose (mg/kg)	0		25		150	
Number of Animals[a]	M: 9	F: 9	M: 7	F: 7	M: 9	F: 9
Histopathology[e]						
Injection Sites: Infiltrate Mixed Cell Focal						
Injection Site 3						
Mild	0	0	0	1	0	0
Injection Site 4						
Mild	0	0	0	1	0	0
Postdose Evaluation (Recovery)						
Number Evaluated	2	2	0	0	2	2
Noteworthy Findings	-	-	NA	NA	-	-

- No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 7 days; BQL = below the quantifiable limit; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; SD = standard deviation.

[a] Three/sex/group were euthanized after 13 weeks of dosing. Four/sex/group were euthanized after 26 weeks of dosing. Two/sex/group at 0 and 150 mg/kg underwent 26 weeks of dosing and were euthanized after 15 weeks of recovery.

[b] All samples BQL (< 10 ng/mL) except for one male where every sample, including prestudy, had values slightly greater than the lower limit of quantification. This animal was in the interim necropsy group. Values were confirmed by repeat analysis.

[c] Animals positive for neutralizing anti-drug antibodies were excluded from group means.

[d] One male at 150 mg/kg had the following findings that were a consequence of immune complex formation and not a direct effect of AMG 334: increased globulin, decreased albumin, pyogranulomatous vasculitis of the coronary artery and several arteries adjacent to the gallbladder, inflammation of small arteries adjacent to the femorotibial joint, multifocal increase in glomerular cellularity and scattered tubular red cell casts in the kidney. This animal was assessed and tested positive for anti-AMG 334 binding antibody and circulating immune complexes.

[e] Incidence is presented.

表 8　遺伝毒性試験：*In vitro*

被験物質：エレヌマブ

AMG 334 is a recombinant monoclonal antibody made up entirely of naturally-occurring amino acids and contains no inorganic or synthetic organic linkers or other non-protein portions. This indicates that it is highly unlikely that AMG 334 would react directly with DNA or other chromosomal material. Therefore, no genotoxicity studies have been conducted, in accordance with ICH Harmonised Tripartite Guideline S6, "Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals" (ICH S6(R1), June 2011).

表 9　遺伝毒性試験：*In vivo*

被験物質：エレヌマブ

AMG 334 is a recombinant monoclonal antibody made up entirely of naturally-occurring amino acids and contains no inorganic or synthetic organic linkers or other non-protein portions. This indicates that it is highly unlikely that AMG 334 would react directly with DNA or other chromosomal material. Therefore, no genotoxicity studies have been conducted, in accordance with ICH Harmonised Tripartite Guideline S6, "Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals" (ICH S6(R1), June 2011).

表 10　がん原性試験

被験物質：エレヌマブ

Carcinogenicity studies using AMG 334 were not conducted because there is no suitable rodent model. An assessment of carcinogenic risk is provided in Section 3.8 of Module 2.6.2, Pharmacology Written Summary.

表 11　生殖発生毒性試験：主要な試験以外の試験

被験物質：エレヌマブ

Nonpivotal reproductive and developmental toxicity studies using AMG 334 were not conducted.

表 12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（主要な試験）

被験物質：エレヌマブ

Pivotal fertility and early embryonic development to implantation studies using AMG 334 were not conducted.

表 13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）

被験物質：エレヌマブ

Pivotal studies on the effects on embryo-fetal development using AMG 334 were not conducted

表 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（主要な試験）

被験物質：エレヌマブ

Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function Species/Strain: Monkey/Cynomolgus Initial Age: 6.0 to 9.2 years Date of First Dose: 22 Apr 2015 Special Features: None Developmental No Observed Effect Level: 50 mg/kg Q2W	Report Title: AMG 334: Enhanced Pre-Postnatal Development Study in the Cynomolgus Monkey with a 6-Month Postnatal Evaluation Duration of Dosing: Once on GD 20, 21 or 22, GD35, then Q2W until parturition Day of Conception: GD0 Day of Birth: BD1 Method of Administration: Subcutaneous injection Vehicle/Formulation: 10 mM sodium acetate, 9.0% (w/v) sucrose, 0.004% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2	Test Article: AMG 334, Lot #0010081147 Amgen No.: 113734 [redacted] Study No.: [redacted] GLP Compliance: Yes
Dose (mg/kg)	0	50
Number of Adult Females (F_0 Females)	20	23 [a]
Maternal Toxicokinetics Mean (SD) [b] GD133		
C_{max} (µg/mL)	BQL [c]	422 (69.7)
AUC_{last} (µg·day/mL)	BQL	4280 (849)
Mean (SD) maternal serum concentration (µg/mL)		
PPD14	BQL	66 (41)
PPD28	BQL	23 (17)
PPD91	BQL	0.009 (0.013)
Mean (SD) infant serum concentration (µg/mL)		
BD14	BQL	117 (40)
BD28	BQL	46 (18)
BD91	BQL	0.188 (0.196)

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 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（主要な試験）（続き）

被験物質：エレヌマブ

Reproductive and Developmental Toxicity		Amgen No. 113734	
Dose (mg/kg)		0	50
Number of Adult Females		20	23 [a]
F_0 Females	No. Pregnant	20	23
	Mean Gestation Length (days) [d]	159 ± 9	157 ± 6
	Pregnancy/Fetal Losses: % (incidence/n)		
	Overall Loss (GD20 - term)	15.0 (3/20)	17.4 (4/23)
	First Trimester (GD20 - 50)	0.0 (0/20)	0.0 (0/23)
	Second Trimester (GD51 - 100)	5.0 (1/20)	4.3 (1/23)
	Third Trimester (> GD100) [e]	10.0 (2/20)	13.0 (3/23)
	No. Live Births: male, female [f]	11, 6	9, 10
	Maternal Mortality (GD20 - 22 through PPD180 ± 2)	0	0
	Clinical Observations	-	-
	Food Consumption (qualitative)	-	-
	Body Weight (Gestation and Postpartum)	-	-
	Postpartum/Lactation Observations (PPD1 and PPD2)	-	[g]
	Hematology	-	-
	Clinical Chemistry	-	-

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 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（主要な試験）（続き）

被験物質：エレヌマブ

Reproductive and Developmental Toxicity		Amgen No. 113734	
Dose (mg/kg)		0	50
F_1 (M/F)	No. Live Births: male, female [f]	11, 6	9, 10
	Mortality of Infants [h]		
	Overall Loss (BD1 – BD8): % (incidence)	11.8 (2/17)	15.8 (3/19)
	Infant Losses due to maternal care issues	1	2
	Infant Losses not due to maternal care issues – preterm deliveries	1	1
	No. Infants Evaluated (BD1 through BD180 ± 2), (male, female) [i]	15 (9, 6)	16 (7, 9)
	Body Weight	-	-
	Clinical Observations	-	-
	Veterinary Physical Examinations and Heart Rate	-	-
	External Assessment and Morphometric Measurements	-	-
	Neonatal Neurobehavioral Assessment	-	-
	Skeletal Evaluations [j]	-	-
	Hematology	-	-
	Clinical Chemistry	-	-
	Terminal Evaluations [k]		

Footnotes and abbreviations are defined on last page of this table

表 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（主要な試験）（続き）

被験物質：エレヌマブ

Reproductive and Developmental Toxicity	Amgen No. 113734	
Dose (mg/kg)	0	50
Fetal and Early Death Infant Evaluations No. aborted/stillborn/died/euthanized	2/0/1/1	2/1/2/1

- No noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (336 hours); BD = birth day; BQL = below the quantifiable limit; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; F_0 = parental generation; F_1 = first filial generation; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantification; PPD = postpartum day; Q2W = once every 2 weeks; SD = standard deviation; [redacted] = [redacted].

[a] Seven females in the original AMG 334 group (n = 30) were removed from the study; one was determined not pregnant (based on monkey chorion gonadotropin analysis) and six had low exposure to AMG 334 during organogenesis (based on TK data).

[b] During the postpartum evaluation phase, AMG 334 concentrations were generally below the LLOQ by PPD91 in the adult females and BD180 in the infants.

[c] Serum AMG 334 concentrations were not quantifiable in samples collected pre-dose (GD20 - 22) from any animal or from the control article-treated animals and their infants, with the exception of a total of 11 values observed in three control-treated animals and two infant animals. The values ranged from 13.0 to 330000 ng/mL. These values were confirmed by reassay, and cannot be explained by the in-life conduct of the study. There is no effect on the interpretation of the toxicokinetics from this study.

[d] Values were calculated excluding abortions (GD100 - 139) and stillbirths (≥ GD140), and including C-section deliveries.

[e] Pregnancy losses after GD100 include abortions (GD101 - 139) and stillbirths (≥ GD140).

[f] Two control male infants were delivered by C-section because they were not delivered by GD175. All remaining infants were delivered by natural birth.

[g] One male infant in the AMG 334 group was neglected by its birth mother on BD1 and BD2 and was successfully cross-fostered to an adult female which had a stillbirth at GD155, just 4 days earlier. Per protocol, the PPD for the foster mother was adjusted to be the same as the BD of the cross-fostered infant.

[h] Infant losses were not considered related to maternal administration of AMG 334.

[i] Excludes infants found dead or euthanized early unless noted otherwise.

[j] No AMG 334-related skeletal findings were noted in the infants that died or were euthanized before scheduled necropsy or that survived to the scheduled radiography at BD120 ± 2.

[k] For fetuses that were aborted or stillborn, infants that died or were euthanized early, and infants that survived until the terminal necropsy at BD180 ± 2, there were no AMG 334-related effects in the placenta (when available) or in body weights, morphometric measurements, gross pathology, or teratologic external, visceral, heart, or skeletal evaluations, where applicable.

表 15　幼若動物における試験

被験物質：エレヌマブ

Studies in juvenile animals using AMG 334 have not yet been conducted.

表 16　局所刺激性試験

被験物質：エレヌマブ

Studies for local tolerance using AMG 334 were not conducted. Injection sites were evaluated in the repeat-dose toxicology studies.

表 17　その他の試験 - その他

被験物質：エレヌマブ

Species/Strain or Test Model	Method of Administration	Concentration (μg/mL)	Number of Individual Donors	Noteworthy Findings	Amgen Study Number (CRO Study Number)
Monkey/Cynomolgus: Tissue Cross-reactivity	*Ex vivo*	5 and 25 of Alexa-AMG 334	3	Limited panel of brain and spinal cord. Specific staining was observed in the cerebellum and spinal cord in all 3 individual donors. For the cerebellum, staining consisted of 2+ (mild) to 3+ (moderate) intensity diffuse staining of the neuropil of the gray matter of the molecular layer, including Purkinje cell cytoplasm and processes. For the spinal cord, 2+ to 3+ intensity diffuse staining was present in the neuropil of the central gray matter and extended into the peripheral white matter as fibrillar staining of neuroglial processes. No specific staining was observed in the cerebral sections of any donor.	117454 ([redacted]) GLP
Human: Tissue Cross-reactivity	*Ex vivo*	5 and 25 of Alexa-AMG 334	3	Full panel of human tissues. Specific staining was observed in human cerebellum, pituitary, and spinal cord. In the cerebellum, staining consisted of 2+ intensity diffuse staining of the neuropil of the gray matter in the molecular layer at both antibody concentrations. In the spinal cord, 2+ intensity scattered fibrillar staining was present in the neuropil at both antibody concentrations. In the pituitary, intracellular staining of cytoplasmic granules of 2+ in cells in the pars distalis was observed only at 25 μg/mL.	113722 ([redacted]) GLP
Human: Isolated Coronary Artery Study	*Ex vivo* in proximal and distal segments of human coronary arteries	AMG 334 1 nM to 1 μM IgG2 antibody 1 nM to 1 μM (negative control) Sumatriptan 1 nM to 100 μM (positive control)	7	AMG 334 did not induce any contraction of the proximal or distal coronary artery segments up to the highest concentration tested (1 μM), blocked CGRP-mediated vasodilation in a competitive manner, and did not interfere with sumatriptan-mediated vasoconstriction.	121150 (none) Non-GLP

CGRP = human calcitonin gene-related peptide; CRO = contract research organization; GLP = Good Laboratory Practice;