目次

2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 9
2.6.6.3.1 SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（試験番号：[redacted]354-003） 10
2.6.6.3.2 幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験（試験番号：ch14.18 TOX-001） 14
2.6.6.3.3 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号：ch14.18 TOX-002） 18
2.6.6.4 遺伝毒性試験 24
2.6.6.5 がん原性試験 24
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 25
2.6.6.7 局所刺激性試験 25
2.6.6.8 その他の毒性試験 25
2.6.6.8.1 組織交差反応性試験 25
2.6.6.8.1.1 ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験（試験番号：IM2038） 26
2.6.6.8.1.2 SD ラットにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2189） 26
2.6.6.8.1.3 NZW ウサギにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2190） 27
2.6.6.8.1.4 幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2615） 27
2.6.6.8.2 疼痛に関する機序検討試験 28
2.6.6.8.2.1 SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価（Vriesendorp 1997） 28
2.6.6.8.2.2 ビーグル犬における 5 日間反復投与評価（Vriesendorp 1997） 29
2.6.6.8.2.3 SD ラットにおける単回静脈内投与評価（Slart 1997） 30
2.6.6.8.2.4 SD ラットにおける単回静脈内投与評価（Xiao 1997） 31
2.6.6.8.2.5 SD ラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価（Sorkin 2002） 32
2.6.6.9 考察及び結論 33
2.6.6.10 図表 36
2.6.6.11 参考文献 36

略語等一覧

略語	英語	日本語
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
A/G	Albumin / globulin	アルブミン／グロブリン
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
$AUC_{0\text{-}4h}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to 4 hours after the completion of dosing	投与終了時から投与終了後 4 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}48h}$	Area under the plasma concentration-time curve from the start of dosing to 48 hours after the dosing	投与開始（時間 0）から 48 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the plasma concentration-time curve from the start of final dosing to last time point quantitatable	最終投与開始時から，最終的に血漿中濃度が定量可能な時間（t）までの血漿中濃度―時間曲線下面積
$AUC_{24h\text{-}inf}$	Area under the plasma concentration-time curve from 24 hours after the completion of dosing to infinity	投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
BLQ	Below the lower limit of quantification	定量下限値未満
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
C_0	Plasma drug concentration at the completion of dosing	投与終了時の血漿中濃度
CDC	Complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CDER	Center for Drug Evaluation and Research	米国 FDA・医薬品評価研究センター
CGRP	Calcitonin gene-related peptide	カルシトニン遺伝子関連ペプチド
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
^{51}Cr	^{51}Chromium	クロム 51
ECG	Electrocardiogram	心電図
E:T	Effector cell : Target cell	エフェクター細胞：標的細胞
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法

略語	英語	日本語
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GAH-FITC	Fluorescein isothiocyanate-labelling Goat anti-human antibody	フルオレセイン標識ヤギ抗ヒト抗体
GAH-HRP	Horse radish peroxidase labelling Goat anti-human antibody	ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト抗体
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor	顆粒球コロニー刺激因子
GD	Disialoganglioside	ジシアロガングリオシド
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
HNSTD	Highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
HRP	Horse radish peroxidase	ホースラディッシュペルオキシダーゼ
^{125}I	^{125}Iodine	ヨウ素 125
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ID	Percentage of injected dose	投与放射能量に対する放射能の割合
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IHC	Immunohistochemistry	免疫組織染色法
IL-2	Interleukin-2	インターロイキン-2
^{111}In	^{111}Indium	インジウム 111
Kd	Dissociation constant	解離定数
K_2-EDTA	Dipotassium ethylenediaminetetraacetate	エチレンジアミン四酢酸二カリウム
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor	マクロファージコロニー刺激因子
MHC	Major histocompatibility complex	主要組織適合遺伝子複合体
NCI	National Cancer Institute	米国国立がん研究所
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NZW	New Zealand White	－

略語	英語	日本語
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
QC	Quality control	－
rhG-CSF	Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor	遺伝子組換え型ヒト顆粒球コロニー刺激因子
rhGM-CSF	Recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor	遺伝子組換え型ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
rhIL-2	Recombinant human interleukin-2	遺伝子組換え型ヒトインターロイキン-2
rmGM-CSF	Recombinant mouse granulocyte macrophage colony-stimulating factor	遺伝子組換え型マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
RPMI	Roswell Park Memorial Institute	－
SCID	Severe combined immunodeficiency	重症複合免疫不全
SD	Sprague-Dawley	－
SDS	Sodium dodecyl sulfate	ドデシル硫酸ナトリウム
SE	Standard error	標準誤差
SEM	Standard error of mean	平均値の標準誤差
SJL	Swiss Jim Lambert	－
$t_{1/2}$	Elimination half-life at terminal phase	終末相半減期
$t_{1/2\alpha}$	Elimination half-life at phase α	α相半減期
$t_{1/2\beta}$	Elimination half-life at terminal phase β	β相半減期
TEA	Touch evoked agitation	接触誘発興奮
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TMB	Tetramethyl benzidine	テトラメチルベンジジン
TRPV1	Transient receptor potential vanilloid subtype 1	－
UTC	United Therapeutics Corporation	－
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限値
Vd	Volume of distribution	分布容積

2.6.6.1 まとめ

ジヌツキシマブ（遺伝子組換え）（ch14.18とも表記，以下，「ジヌツキシマブ」）は，ヒト神経芽腫細胞表面に発現するジシアロガングリオシド（GD）2を特異的に認識し結合するマウス抗GD2モノクローナル抗体（Mab 14.18及び14.G2a）の可変部領域とヒト免疫グロブリンG（IgG1 κ）の定常領域からなるマウス-ヒトキメラ型モノクローナル抗体である．

ジヌツキシマブの開発にあたっては，可変領域遺伝子が同一である Mab 14.18 及び 14.G2a で得られた非臨床試験データも含めて評価した．Mab 14.18 は，GD2 を特異的に認識し結合するマウスモノクローナル IgG3 抗体である[1)]．また，14.G2a は，Mab 14.18 の IgG2a アイソタイプスイッチ変異型であり，親抗体と同程度の抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性，補体依存性細胞傷害（CDC）活性及びヌードマウスにおける神経芽腫増殖抑制作用を有する[2)]．なお，効力を裏付ける試験（2.4.2.1 及び 2.6.2.2 項参照）に記載したように，ch14.18 の結合親和性，結合パターン，*in vitro* 及び *in vivo* 生物学的活性は，Mab 14.18 及び 14.G2a と類似していた．

ジヌツキシマブは，米国国立がん研究所（NCI）により，高リスク神経芽腫の小児患者の治療薬 ch14.18 として約 20 年に渡って開発されてきた．第 III 相試験である ANBL0032（DIV-NB-301）試験で併用療法におけるジヌツキシマブの有効性が確認された後，2010 年 7 月に United Therapeutics Corporation（UTC）が NCI と共同研究開発契約を締結し，ジヌツキシマブの製造販売の承認申請のための非臨床評価を開始した．そのため，初期の開発段階では NCI が製造した製剤（ch14.18 と表記）を使用し，UTC が開発を開始した以降は UTC が製造した製剤（ジヌツキシマブと表記）を使用している．

毒性試験として，ラット及び幼若サルを用いた反復投与毒性試験並びにヒト及び動物の組織に対する組織交差反応性試験を実施した．独立した単回投与毒性試験は実施していないが，安全性薬理試験のために実施したサルにおける用量設定試験成績から単回投与時の毒性を評価した．また，その他の毒性試験として臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2a あるいは ch14.18 を用いて，マウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている（公表文献）．毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示した．

表 2.6.6.1-1　毒性試験一覧

試験の種類	動物種	投与経路（期間）	試験番号	GLP 適用	記載場所	備考
単回投与毒性試験	サル	静脈内	[redacted]354-004	非適	4.2.3.1-1	—
反復投与毒性試験	ラット	静脈内（28 日間）	[redacted]354-003	適	4.2.3.2-1	—
	幼若サル	静脈内（4 日間）	ch14.18 TOX-001	非適	4.2.3.2-2	—
	幼若サル	静脈内（5 ヵ月間）	ch14.18 TOX-002	適	4.2.3.2-3	—
遺伝毒性試験	—	—	—	—	—	ND*1
がん原性試験	—	—	—	—	—	ND*1
生殖発生毒性試験	—	—	—	—	—	ND*2
局所刺激性試験	—	—	—	—	—	ND*3
その他の毒性試験 組織交差反応性試験	ヒト小児及び成人組織	*in vitro*	IM2038	適	4.2.3.7.7-1	—
	ラット組織	*in vitro*	IM2189	適	4.2.3.7.7-2	—
	ウサギ組織	*in vitro*	IM2190	適	4.2.3.7.7-3	—
	幼若サル組織	*in vitro*	IM2615	適	4.2.3.7.7-4	—
疼痛に関する機序検討試験	マウス ラット ウサギ イヌ	腹腔内 静脈内又は腹腔内 静脈内 静脈内（5 日間）	Vriesendorp 1997	非適	4.3-9	—
	ラット	静脈内	Slart 1997	非適	4.3-10	—
	ラット	静脈内	Xiao 1997	非適	4.3-11	—
	ラット	静脈内又は髄腔内	Sorkin 2002	非適	4.3-12	—

－：特記事項なし，ND：実施せず

*1：ICH S6 ガイドラインにより実施なし

*2：生殖発生毒性試験を実施しないことが医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において確認された.

*3：SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験の成績から評価した.

ジヌツキシマブは小児での適用を予定していることから，幼若動物を用いた試験としてカニクイザルの 5 ヵ月間反復投与毒性試験を実施した．SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験は，「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日付け厚生省令第 21 号）（GLP），反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（平成 11 年 4 月 5 日付け医薬審第 655 号）（以下，「医薬品規制調和国際会議（ICH） S4A ガイドライン」）及びトキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて（平成 8 年 7 月 2 日付け薬審第 443 号）（以下，「ICH S3A ガイドライン」）に準じて実施した. 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験は, 経済協力開発機構（OECD）の GLP に準じて実施した．なお，単回投与時の毒性評価に用いたカニクイザルにおける安全性薬理試験のための用量設定試験は各国の GLP には準拠していない.

ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験は，FDA，OECD 及び厚生労働省の GLP に準じて実施した．SD ラットにおける組織交差反応性試験，New Zealand White （NZW）ウサギにおける組織交差反応性試験及び幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験は，FDA の GLP に準じて実施した.

臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2a あるいは ch14.18 を用いたマウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施され報告されていることから，その他の毒性試験としてそれらについても毒性を評価した．

ジヌツキシマブは組換えタンパクであり，デオキシリボ核酸，あるいはほかの染色体物質と直接反応する可能性が極めて低いこと，及び進行がんを適応症として開発中であることから，「「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について」（平成 24 年 3 月 23 日付け薬食審査発 0323 第 1 号）（以下，「ICH S6 ガイドライン」）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（平成 22 年 6 月 4 日付け薬食審査発 0604 第 1 号）（以下，「ICHS9 ガイドライン」）に従って，不要と考え，遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった．

生殖発生毒性試験は，[redacted]また，ヒト胎児において脳，神経幹細胞及び骨髄間葉系幹細胞に GD2 の発現が認められることから胚・胎児に対して有害作用を及ぼす可能性があると考え実施しなかった．なお，本方針については医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）にて確認している．

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験では，各群雄 2 例にジヌツキシマブを 10.5 mg/kg/日又は 21 mg/kg/日の用量で 30 分間静脈内投与した．その結果，陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与中又は投与終了直後～投与終了 2 時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中～投与終了 2 時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が 21 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与終了直後から 30 分の間に発現した．

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験では，5 mg/kg/日，15 mg/kg/日及び 45 mg/kg/日のジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，その後 6 週間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．肝臓毒性として，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），アルカリフォスファターゼ（ALP）及びコレステロールの増加，肝臓の小葉中心性うっ血，クッパー細胞の増加や肥大，肝細胞の核の大小不同及び肝細胞壊死並びに肝臓重量の増加などが用量相関的に観察された．また，病理組織学的検査の肝細胞の有糸分裂像の増加，肝細胞のびまん性の好塩基性変化及び中心静脈周囲・小葉間の線維化が認められた．その他，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，網状赤血球（%）の増加，肝臓，脾臓の髄外造血及び骨髄での造血亢進などが認められた．投与期間に認められた主な所見（小葉中心性うっ血及び中心静脈周囲・小葉間の線維化を除く）は，回復期間に回復又は回復傾向にあった．免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の増加が 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群で認められたが，この増加はジヌツキシマブの薬理作用を反映しているものと考えられた．また，抗薬物抗体（ADA）産生を示唆する所見として，脾臓の白脾髄での胚中心数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．さらにトキシコキネティクス（TK）では Day 22 で，Day 1 と比較して，5 mg/kg/日

投与群で投与終了時の血漿中濃度（C_0）及び投与終了時から投与終了後4時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}4h}$）が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに45 mg/kg/日投与群の雄では僅かな増加が認められた.

以上の結果から，本試験で無毒性量（NOAEL）は求められず，NOAELは5 mg/kg/日を下回ると考えられた.

幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験では，3 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び30 mg/kg/日のジヌツキシマブを4日間連続投与（カテーテル回復術のため1日休薬した動物については5日間のうち4日投与）し，その後24日間の回復期間を設けた．その結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経毒性として，背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった. その他, 病理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤, 心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後には回復または程度の減弱が認められ，回復性を確認できた. TKの結果, 投与開始（時間0）から48時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}48h}$）に性差は認められなかった．$AUC_{0\text{-}48h}$は用量に比例し増加したが，その増加の割合は用量比を下回った.

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは3 mg/kg/日を下回ると考えられた.

幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験では，1 mg/kg/日，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日のジヌツキシマブを4日間連続静脈内投与し，24日間休薬するサイクルを5回繰り返し，回復期間を168日間設けた．その結果，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった. 一般状態の変化として, 円背, 振戦, 運動性低下, 歩行異常, 散瞳, 皮膚の赤変化などが認められた. 神経系に, 用量相関性の病理組織学的所見が観察された. 延髄，脊髄，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経及び背根神経節の神経線維変性，背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経，腰部背根神経節及び脳の白質における泡沫状組織球浸潤，坐骨神経及び脛骨神経における単核細胞浸潤などが投与期間終了後に認められた．これらの変化は，168日間の回復期間終了時に回復あるいはその傾向が認められた．TKでDay 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加したが，2サイクル目（Day 33）以降に反復投与に伴う血漿中濃度の減少が認められ，ADA産生が示唆された.

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは1 mg/kg/日を下回ると考えられた．また，重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は10 mg/kg/日と判断された．

ヒト小児及び成人組織における組織交差反応性試験，SDラットにおける組織交差反応性試験，NZWウサギにおける組織交差反応性試験並びに幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験の染色結果は，既報のGD2発現部位とおおむね一致した．

臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2aあるいはch14.18を用いて，マウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている（公表文献）[3-6]．総じて，ジヌツキシマブ投与に伴う疼痛は，末梢神経又はミエリンあるいはその両方におけるGD2抗原へのジヌツキシマブの結合によって刺激された，機械的アロディニアの誘導が原因であることが示唆された．

2.6.6.2　単回投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1-1）

独立した単回投与毒性試験は実施していないが，カニクイザルにおける心血管及び呼吸系に対する安全性薬理試験のための用量設定試験の結果で評価した（試験番号：[redacted]354-004）．本試験では，カニクイザル（各群雄2例）にジヌツキシマブを10.5 mg/kg/日（126 mg/m^2/日，10.5 mg/kg/日にカニクイザルの体表面積換算12を乗じた値）[7]又は21 mg/kg/日の用量［252 mg/m^2/日，臨床予定用量（17.5 mg/m^2/日）の10倍以上］で30分間静脈内投与した．観察及び評価項目は一般状態とした．陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の2例で，投与中又は投与終了直後～投与終了2時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の1例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の1例で，投与中～投与終了2時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が21 mg/kg/日投与群の2例で，投与終了直後から30分の間に発現した．

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験並びにSDラットにおける28日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験の初回投与から次回投与までにおいて，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず忍容性は良好であった．よってカニクイザル，ラット，幼若カニクイザルの概略の致死量はそれぞれ21 mg/kg/日超，45 mg/kg/日超，30 mg/kg/日超であると考えられた．

2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

反復投与毒性試験として，SDラットにおける28日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験を実施した．

カニクイザルを用いて長期間の反復投与試験を実施した理由は以下の通りである．なお，本方針は医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において確認されている．

1. [redacted]

2. [redacted]
3. [redacted]

2.6.6.3.1 SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（試験番号：[redacted]354-003）

（添付資料：4.2.3.2-1）

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（試験番号：[redacted]354-003）の目的は，SD ラットにジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，毒性を評価すると共に，その後 6 週間の回復期間を設け回復性を評価することであった．ジヌツキシマブの全身曝露（TK 試験）も評価した．

9 週齢の雌雄の SD ラットを，表 2.6.6.3.1-1 のように割り付けた．高投与量は臨床予定用量の 10 倍以上である 45 mg/kg/日（270 mg/m^2/日，45 mg/kg/日にラットの体表面積換算 6 を乗じた値）[7]，中投与量，低投与量は高投与量のそれぞれ 1/3，1/9 である 15 mg/kg/日（90 mg/m^2/日），5 mg/kg/日（30 mg/m^2/日）とした．対照群にはプラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8）を投与した．ジヌツキシマブを 1 日 1 回，投与速度 15 mL/kg/h で 1 時間，投与ポンプを用いて尾静脈に投与した（投与初日を Day 1 とした）．これを 4 日間連続投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返し，回復期間を 6 週間設けた．投与容量は 15 mL/kg/日とし，最新の体重を基に個別に算出した．投与濃度は 5 mg/kg/日で 0.33 mg/mL，15 mg/kg/日で 1 mg/mL，45 mg/kg/日で 3 mg/mL とした．観察及び検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，免疫表現型検査，器官重量，肉眼的観察，病理組織学的検査及び TK とした．本試験用動物及び回復試験用動物は，それぞれ投与期間終了後及び回復期間終了後に剖検した．

免疫表現型検査には CD3 陽性（CD3$^+$），CD3 陽性 CD4 陽性（CD3$^+$CD4$^+$），CD3 陽性 CD8a 陽性（CD3$^+$CD8a$^+$），CD3 陰性 CD45RA 陽性（CD3$^-$CD45RA$^+$）及び CD3 陰性 NKR-P1A 陽性（CD3$^-$NKR-P1A$^+$）をパラメータとして用いた．CD3 は胸腺細胞，末梢 T 細胞及び樹状表皮 T 細胞に発現する[8]．CD4 は大部分の胸腺細胞，クラス II 主要組織適合遺伝子複合体（MHC）拘束性 T 細胞（大部分のヘルパーT 細胞を含む），単球，マクロファージ及びいくつかの樹状細胞に発現する[9]．CD8a は大部分の胸腺細胞及びクラス I MHC 拘束性 T 細胞（大部分の制御性 T 細胞又は細胞傷害性 T 細胞を含む）に発現する[10]．CD45RA は CD45（B 細胞のみに発現）アイソフォームで，T 細胞及び B 細胞抗原受容体のシグナル伝達を制御する[11]．NKR-P1A はナチュラルキラー（NK）細胞，T 細胞サブセット，活性化単球及び樹状細胞に発現する[12]．

TK で，Day 1 及び Day 22 に C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ を算出した．また投与最終日（Day 25）の投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度—時間曲線下面積（$AUC_{24h\text{-}inf}$）及び Day 25 における終末相半減期（$t_{1/2}$）を算出した．

表 2.6.6.3.1-1 SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験の試験デザイン

用量（mg/kg/日）	投与速度（mL/kg/h）	投与容量（mL/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数（雌雄各）		
				本試験	回復試験	TK 試験
0	15	15	NA	10	5	8
5	15	15	0.33	10	NA	8
15	15	15	1	10	NA	8
45	15	15	3	10	5	8

NA：該当せず

投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．

血液学的検査で赤血球数の減少が，5 mg/kg/日投与群及び 15 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が，15 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群及び 15 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．加えて，網状赤血球（%）の増加が，5 mg/kg/日投与群及び 15 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．血小板数の増加が，5 mg/kg/日投与群及び 15 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．また，白血球数及びリンパ球数の増加が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雄並びに 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．好中球数及び単球数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．

血液生化学的検査で ALT の増加が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌雄で有意に認められた．AST 及び ALP の増加が，45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．コレステロールの増加が 15 mg/kg/日投与群の雄及び全投与群の雌で有意に認められた．総タンパク及びグロブリンの増加が全投与群の雌雄で有意に認められた．アルブミン／グロブリン（A/G）比の減少が，5 mg/kg/日投与群及び 15 mg/kg/日投与群の雄及び全投与群の雌で有意に認められた．

免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の数（10^3/μL）の増加が 15 mg/kg/日投与群の雄及び 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められ，割合（%）の増加が 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．

器官重量で肺の重量増加が，45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．肝臓及び脾臓の重量増加が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌雄で有意に認められた．副腎の重量増加が，5 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．

病理組織学的検査では，肺において肉芽腫性炎症が，45 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．回腸においてパイエル板の肉芽腫性炎症が，45 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．肝臓において，小葉中心性うっ血が雌雄全投与群で認められた．クッパー細胞の増加や肥大が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雄並びに雌の全投与群で認められた．肝細胞の核の大小不同が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．肝細胞壊死が対照群の雌及び 45 mg/kg/日投与群の雄で認められた．肝細胞の有糸分裂像の増加が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雄並びに雌の全投与群で認められた．肝細胞のびまん性の好塩基性変化が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．中心静脈周囲・小葉間の線維化が，45 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投

与群の雌で認められた．髄外造血が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雄並びに雌の全投与群で認められた．大腿骨及び胸骨において骨髄での造血亢進が，雌雄全投与群で認められた．脾臓において髄外造血が，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雄並びに対照群及び全投与群の雌で認められた．本所見に関して，対照群の雌雄と発現例数や重症度を比較すると，5 mg/kg/日投与群の雌雄では同程度であるのに対し，15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌雄では用量の増加とともに発現例数及び重症度が増加した．このことから，5 mg/kg/日投与群の雌雄までは自然発生性の偶発的な所見で，15 mg/kg/日投与群以上の雌雄でジヌツキシマブによる影響が認められたと考える．白脾髄での胚中心数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．脾臓の白脾髄での胚中心数の増加は，ADA の産生を示唆していると考えられた．投与部位に認められた病理組織学的所見（血管周囲の出血，血管周囲の単核細胞浸潤，血管周囲の炎症細胞浸潤，血管壁の裂傷，中膜の肥厚及び血管周囲の浮腫）は，例数が少なかったこと，対照群と全投与群との間に差が認められなかったことなどからジヌツキシマブに関連した変化ではないと考えられた．

TK の結果を表 2.6.6.3.1-2 に示した．Day 1 において C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ はほぼ用量に比例して増加した．これらの薬物動態パラメータに性差はなかった．Day 22 において C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ は用量比を上回る増加が認められた．また Day 22 で，Day 1 と比較して，5 mg/kg/日投与群で C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び 45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに 45 mg/kg/日投与群の雄では僅かに増加が認められた．反復投与に伴う血漿中濃度の減少は，ADA 産生を示唆していると考えられた．4 サイクル（Day 25）投与終了後の血漿中濃度は，5 mg/kg/日投与群の消失が速く（投与終了後 48 時間で未検出），Day 25 の $AUC_{24h\text{-}inf}$ 及び $t_{1/2}$ は，15 mg/kg/日投与群と 45 mg/kg/日投与群の間で用量の増加と共に増加した．対照群は，全ての測定時点で定量下限値未満（BLQ）（25.0 ng/mL 未満）であった．

表 2.6.6.3.1-2　ラットに 4 週間反復静脈内投与（4 日間連続，各日 1 時間持続注入，3 日間休薬）したときの平均血漿中濃度（N=4／時点）より算出した薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg/日)	性別	C_0 (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}4h}$ (ng·h/mL)		$t_{1/2}$ (h)	$AUC_{24h\text{-}inf}$ (ng·h/mL)
		Day 1	Day 22	Day 1	Day 22	Day 25	Day 25
0	雄	NC	NC	NC	NC	NC	NC
	雌	NC	NC	NC	NC	NC	NC
5	雄*	98,000	1,690	358,000	12,500	NC	NC
	雌	179,000	36,300	307,000	33,200	NC	NC
15	雄	295,000	324,000	930,000	889,000	70.1	15,000,000
	雌	318,000	171,000	939,000	418,000	70.2	1,390,000
45	雄	774,000	1,550,000	2,800,000	5,440,000	98.2	159,000,000
	雌	1,020,000	1,120,000	2,950,000	3,640,000	132	153,000,000

NC：算出せず
＊：Day 22 に，雄 1 例が技術的な採血ミスにより死亡
引用元：4.2.3.2-1（[redacted]354-003）の Attachment 2 の表 13 から一部改変

回復試験において，免疫表現型検査で変化は認められなかった．血液学的検査でヘモグロビンの減少が 45 mg/kg/日投与群の雌雄で有意に認められ，ヘマトクリットの減少が 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．しかし，これらの変化は軽度であったため，回復傾向を示しているものと考えられた．血液生化学的検査で，グロブリンの増加が 45 mg/kg/日投与群の雌で，A/G 比の減少が 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．ALT の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄 1 例で認められた．しかし，これらの変化は投与期間終了後と比較してより軽度なものであった．器官重量で，脾臓の重量増加が 45 mg/kg/日投与群の雌で有意に認められた．病理組織学的検査で，回復期間終了後に肝臓において小葉中心性うっ血が，45 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．肝細胞の核の大小不同が，45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．中心静脈周囲・小葉間の線維化が，45 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．大腿骨において骨髄の造血亢進が 45 mg/kg/日投与群の雄で認められた．胸骨において骨髄の造血亢進が，45 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．副腎の束状帯内の脂肪消失が，45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．なお，投与期間に認められた主な所見（小葉中心性うっ血を除く）は，回復期間に回復又は回復傾向にあった．

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験の結論として，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．

肝臓毒性として，血液生化学的検査の AST，ALT，ALP 及びコレステロールの増加，病理組織学的検査の肝臓の小葉中心性うっ血，クッパー細胞の増加や肥大，肝細胞の核の大小不同及び肝細胞壊死並びに器官重量の肝臓の重量増加などが用量相関的に認められた．また，病理組織学的検査の肝細胞の有糸分裂像の増加，肝細胞のびまん性の好塩基性変化及び中心静脈周囲・小葉間の線維化が認められた．

その他，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，網状赤血球（%）の増加，肝臓，脾臓の髄外造血及び大腿骨，胸骨の骨髄での造血亢進などが認められた．

投与期間に認められた主な所見（小葉中心性うっ血及び中心静脈周囲・小葉間の線維化を除く）は，回復期間に回復又は回復傾向にあった．

免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の数（10^3/μL）や割合（%）の増加が 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群で認められたが，この増加はジヌツキシマブの薬理作用［抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性における免疫細胞の主体である NK 細胞の増加］を反映しているものと考えられた．

また，ADA 産生を示唆する所見として，脾臓の白脾髄での胚中心数の増加が 45 mg/kg/日投与群の雄並びに 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．さらに TK では Day 22 で，Day 1 と比較して，5 mg/kg/日投与群で C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び 45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに 45 mg/kg/日投与群の雄では僅かに増加が認められた．

以上の結果から，本試験で NOAEL は求められず，NOAEL は 5 mg/kg/日を下回ると考えられた．

2.6.6.3.2　幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験（試験番号：ch14.18 TOX-001）

（添付資料：4.2.3.2-2）

幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験（試験番号：ch14.18 TOX-001）の目的は，幼若カニクイザルにジヌツキシマブを4日間静脈内投与した際の忍容性及び毒性プロファイルを検討することであった．さらに，末梢性ニューロパチー発症の可能性を，病理組織学的及び電気生理学的検査によって検討した．

17～18ヵ月齢の雌雄の幼若カニクイザルを，表 2.6.6.3.2-1のように割り付けた．高投与量，中投与量及び低投与量をそれぞれ臨床予定用量の20倍以上，約7倍及び約2倍に相当する30 mg/kg/日（360 mg/m^2/日），10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）及び3 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）とした．対照群にはプラセボ（20 mmol/Lヒスチジン，150 mmol/L塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート20，pH 6.8）を投与した．ジヌツキシマブを1日1回，投与速度1.5 mL/kg/hで10時間，外科的に埋め込まれた大腿静脈内留置カテーテルを介して投与した（投与初日をDay 1とした）．これを4日間連続投与，あるいはカテーテル再留置のため1日休薬した動物については5日間のうち4日投与した．回復試験用動物については，その後24日間の回復期間を設けた．投与濃度は3 mg/kg/日で0.200 mg/mL，10 mg/kg/日で0.667 mg/mL，30 mg/kg/日で2.0 mg/mLとした．観察及び検査項目は，死亡，一般状態（摂餌量の評価を含む），体重，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量，肉眼的観察，病理組織学的検査及びTKとした．本試験用動物及び回復試験用動物（回復試験を行った動物でTK試験も行った）は，それぞれ投与終了後2日（Day 6あるいは Day 7）及び回復期間終了後に剖検した．

表 2.6.6.3.2-1　幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験の試験デザイン

用量（mg/kg/日）	投与速度（mL/kg/h）	投与濃度（mg/mL）	動物数（雌雄各）		
			本試験	回復試験	TK 試験
0	1.5	0	1	NA	
3	1.5	0.200	1	2	
10	1.5	0.667	1	2	
30	1.5	2.0	1	2	

NA：該当せず

投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった. 眼科学的検査, 心電図, 神経学的評価, 神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった.

一般状態の変化として，後述する所見が回復期間も含め，認められた．円背，振戦，運動性低下が全投与群の雌雄で認められた．食欲不振が全投与群の雄並びに対照群及び全投与群の雌で認められた．食欲不振は，異常な便又は無便，嘔吐，痩せなどの所見や後述する体重変動と相関していた．これらの所見は，対照群においてはDay 6又はDay 7までしか観察していないこと及び例数が1例であることなどデータに限界があるものの，雌雄の異常な便又は無便及び痩せ，雄の食欲不振，雄の嘔吐は対照群で認められていないこと，雌の食欲不振及び嘔吐は対照群と比較して発現例数が多いこと又は発現期間が長いことから，3 mg/kg/日投与群以上の雌雄（ただし雄の嘔吐は10 mg/kg/日投与群以上）でジヌツキシマブによる影響が認められたと判断している．歩行

異常が30 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群及び30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．散瞳が全投与群の雄並びに3 mg/kg/日投与群及び30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．協調障害が10 mg/kg/日投与群及び30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．筋緊張の低下が30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．脱力が10 mg/kg/日投与群及び30 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．過剰な引っかき及び皮膚の赤変化が対照群及び全投与群の雌雄で認められた．過剰な引っかき及び皮膚の赤変化は，対照群で認められていたこと又は投与前から発現が認められたことから，いずれの用量でもジヌツキシマブによる影響ではなく，自然発生性の偶発的な所見と考えられる．

全投与群の雌雄に回復期間も含め，体重の減少傾向が認められた．

血液学的検査で，全投与群において，投与前（雌で Day －25，雄で Day －3）と比較して，投与終了後 2 日に，白血球数及び好中球数の増加が 3 mg/kg/日投与群及び 10 mg/kg/日投与群の雄で，単球数及びフィブリノーゲンの増加が 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌雄で，好酸球数の増加が全投与群の雌雄で認められた．好酸球数の増加に明確な用量相関性は認められなかった．

血液生化学的検査で，全投与群において，投与前（雌で Day －25，雄で Day －3）と比較して，投与終了後 2 日に，アルブミンの減少が 3 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌で，グロブリンの増加が 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌雄で，A/G 比の低下が全投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌で，トリグリセリドの増加が 30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．

器官重量で対照群と比較して，肝臓，腎臓，脾臓及び副腎の重量増加が，30 mg/kg/日投与群の雄で，胸腺の重量減少が，30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．胸腺の重量減少は，リンパ球の枯渇に関連していると考えられた．

肉眼的観察で後述する病理組織学的検査と一致する所見が認められた．肺の異常な堅さ（変色）が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．回腸の膨隆性粘膜（変色，堅い）が 3 mg/kg/日投与群の雄で認められた．気管のリンパ節の腫大が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．脾臓の腫大が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．胸腺の不規則な表面（変色）が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められ，胸腺の小型化が 30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．投与部位の堅い結節（変色）が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．投与部位の肥厚が 10 mg/kg/日投与群の雌で認められ，カテーテル挿入部位の大腿静脈から後大静脈まで広がっていた．

病理組織学的検査で，肺において線維素化膿性細気管支炎が，30 mg/kg/日投与群の雄で認められた（肉眼的観察での肺の異常な堅さと一致）．回腸においてパイエル板の肉芽腫性炎症が，3 mg/kg/日投与群の雄で認められた［肉眼的観察での回腸の膨隆性粘膜（変色，堅い）と一致］．肝臓においてクッパー細胞の過形成や肥大（類洞白血球の過形成や肥大を伴う）が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．クッパー細胞内の色素沈着が，30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．胆管周囲混合細胞浸潤が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．肝細胞の空胞化が，30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．心臓において混合細胞（主に好酸球）の炎症が，30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．脳において髄膜内の好中球性炎症及び白質内グリオーシスが，

30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．灰白質の血管や血管周囲の炎症が，10 mg/kg/日投与群及び30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．背根神経節において神経線維変性が，10 mg/kg/日投与群の雄（頸部及び腰部）で，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 3 mg/kg/日投与群の雌（胸部）で認められた．神経細胞壊死が，10 mg/kg/日投与群の雄及び 30 mg/kg/日投与群の雌（頸部及び胸部）で，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌雄（腰部）で認められた．30 mg/kg/日投与群の雌の頸部で認められた背根神経節の神経細胞壊死は，随伴増殖を伴っていて，30 mg/kg/日投与群の雄の腰部で認められた背根神経節の神経細胞壊死は，神経細胞の空胞化を伴っていた．気管のリンパ節において好酸球浸潤が，30 mg/kg/日投与群の雄で認められた（肉眼的観察での気管のリンパ節の腫大と一致）．膵リンパ節において好酸球浸潤が，10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．腸間膜リンパ節において好酸球性肉芽腫が，10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．脾臓において赤脾髄内のマクロファージ肥大や過形成が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた（肉眼的観察での脾臓の腫大と一致）．胸腺においてリンパ球枯渇が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた［肉眼的観察での胸腺の不規則な表面（変色）及び小型化と一致］．単核細胞浸潤が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた［肉眼的観察での胸腺の不規則な表面（変色）と一致］．副腎において束状帯内の好中球性炎症が，30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．投与部位において血管や血管周囲の炎症が，30 mg/kg/日投与群の雄及び 10 mg/kg/日投与群の雌で認められた［肉眼的観察での投与部位の堅い結節（変色）及び肥厚と一致］．30 mg/kg/日投与群の雄で認められた投与部位の血管や血管周囲の炎症は血栓形成を伴っていたため，カテーテル留置に関与しているものと考えられた．

TK の結果を表 2.6.6.3.2-2 に示した．最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は，概して最終投与終了後 0 時間（最終投与開始後 10 時間）であった．最高血漿中濃度（C_{max}）及び $AUC_{0\text{-}48h}$ は用量の増加に伴って増加したが，その増加の割合は用量比を下回った（用量比 3～3.33 に対してパラメータの比 1.72～2.56，2.6.5.4.2 項参照）．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ の性差は認められなかった（パラメータの雌／雄比：0.857～1.29，2.6.5.4.2 項参照）．

表 2.6.6.3.2-2　幼若カニクイザルに 4 日間静脈内投与（10 時間持続注入）したときの薬物動態パラメータ（平均値±標準偏差，N＝3）

用量 (mg/kg/日)	性別	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}48h}$ (ng･h/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ *1 (ng･h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL(mL/h/kg)	Vd (mL/kg)
3	雄*2	10.4 ±0.644	127,000 ±37,300	3,940,000 ±1,010,000	5,640,000 ±666,000	28.2 (n=2)	1.47 (n=2)	64.2 (n=2)
	雌*3	11.3 ±0.00981	142,000 ±29,900	5,090,000 ±1,010,000	7,690,000 ±1,550,000	45.5 (n=2)	1.15 (n=2)	77.4 (n=2)
10	雄*4	10.0 ±0.00	260,000 ±47,000	8,560,000 ±1,250,000	14,700,000 ±4,910,000	52.8 (n=2)	2.04 (n=2)	157 (n=2)
	雌*5	10.6 ±0.497	295,000 ±108,000	8,730,000 ±3,690,000	14,400,000 ±9,460,000	389 (n=2)	1.59 (n=2)	1,040 (n=2)
30	雄*6	12.7 ±4.62*7	667,000 ±109,000*7	18,300,000 ±4,510,000	29,500,000 ±15,400,000	146 ±188*6	2.70 ±0.297	566 ±742
	雌*8	10.4 ±0.0438	610,000 ±105,000	15,700,000 ±3,710,000	20,800,000 ±1,470,000	31.6*8 (n=2)	3.05 (n=2)	155 (n=2)

CL：クリアランス，Vd：分布容積
＊1：最終投与開始時から，最終的に血漿中濃度が定量可能な時間（t）までの AUC
＊2：動物番号 2103 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
＊3：動物番号 2601 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
＊4：動物番号 3003 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
＊5：動物番号 3501 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
＊6：動物番号 4102 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
＊7：動物番号 4003 は最終投与終了後 0 時間を欠測とした（定量限界を超えていたため）.
＊8：動物番号 4501 は最終投与開始後 2 日まで採取した.
引用元：4.2.3.2-2（ch14.18 TOX-001）の Appendix 16 の表 2 から一部改変

回復期間において，血液生化学的検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態，体重及び摂餌量で投与期間中に認められた変化が回復期間でも認められた．血液学的検査でフィブリノーゲンの増加が，10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．器官重量で胸腺の重量減少が 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに雌の全投与群で認められた．肉眼的観察で回復期間終了後に後述する病理組織学的検査と一致する所見が認められた．胸腺の小型化が 10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．投与部位の堅い腫瘤又は結節（変色）が 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．投与部位の肥厚が 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌で認められ，カテーテルの先端又はカテーテル挿入部位の大腿静脈からカテーテルの先端まで広がっていた．病理組織学的検査で肝臓のクッパー細胞内の色素沈着が，30 mg/kg/日投与群の雌で認められた．脳の白質内変性が 30 mg/kg/日投与群の雌雄で認められ，グリオーシスが，30 mg/kg/日投与群の雄で認められた．延髄，背索，背根神経節，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢及び前肢の神経線維変性が，雌雄全投与群で認められた．背根神経節の神経細胞消失が，3 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌（頸部）で，30 mg/kg/日投与群の雌雄（胸部）で，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに雌の全投与群（腰部）で認められた．背根神経節の随伴増殖が，3 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 30 mg/kg/日投与群の雌（頸部）で，30 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌（胸部）で，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 30 mg/kg/日投与群の雌（腰部）で認められた．背根神経節

の神経細胞の空胞化が，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群の雌（頸部）で，10 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌（胸部）で，10 mg/kg/日投与群の雌（腰部）で認められた．胸腺のリンパ球枯渇が，10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雄で認められた（肉眼的観察での胸腺の小型化と一致）．投与部位の血管や血管周囲の炎症が，30 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群及び 30 mg/kg/日投与群の雌で認められた［肥厚あるいは堅い腫瘤又は結節（変色）と一致］．

幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験の結論として，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．

一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．

神経毒性として，病理組織学的検査の背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった．

その他，病理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤，心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後には回復または程度の減弱が認められ，回復性を確認できた．

TK の結果，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ は用量の増加に伴って増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ の性差は認められなかった．

以上の結果から，本試験の NOAEL は求められず，NOAEL は 3 mg/kg/日を下回ると考えられた．

2.6.6.3.3 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号：ch14.18 TOX-002）

（添付資料：4.2.3.2-3）

幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号：ch14.18 TOX-002）の目的は，幼若カニクイザルにジヌツキシマブを 4 日間連続静脈内投与した後，24 日間休薬するサイクル（28 日間）を 5 回繰り返した場合の毒性を評価することであった．さらにジヌツキシマブによる末梢性ニューロパチー発症の可能性を，病理組織学的及び電気生理学的検査によって検討した．また TK も実施した．

13～18 ヵ月齢の雌雄の幼若カニクイザルを，表 2.6.6.3.3-1 のように割り付けた．高投与量及び中投与量は，それぞれ臨床予定用量の約 10 倍及び約 3 倍である 10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）及び 3 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）とした．低投与量は臨床予定用量とほぼ同程度である 1 mg/kg/日（12 mg/m^2/日）とした．対照群にはプラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8）を投与した．ジヌツキシマブを 1 日 1 回，投与速度 1.5 mL/kg/h で 10 時間，外科的に埋め込まれた大腿静脈内留置カテーテルを介して投与した（投

与初日を Day 1 とした）．これを 4 日間連続投与し，24 日間休薬するサイクルを 5 回繰り返し，その後 168 日間の回復期間を設けた．投与濃度は 1 mg/kg/日で 0.067 mg/mL，3 mg/kg/日で 0.200 mg/mL，10 mg/kg/日で 0.667 mg/mL とした．観察及び検査項目は，死亡，一般状態（摂餌量の評価を含む），体重，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量，肉眼的観察，病理組織学的検査及び TK とした．本試験用動物及び回復試験用動物はそれぞれ投与終了後及び回復期間終了後に剖検した．なお，試験期間中に死亡又は瀕死となった動物はその時点で剖検した．TK は本試験及び回復試験で採取した標本を用いて実施した．

表 2.6.6.3.3-1 幼若カニクイザル 5 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザイン

用量（mg/kg/日）	投与速度（mL/kg/h）	投与濃度（mg/mL）	動物数（雌雄各）	
			本試験	回復試験
0	1.5	0	4	2
1	1.5	0.067	4	2
3	1.5	0.200	4	NA
10	1.5	0.667	4	2

NA：該当せず

投与期間中，死亡が 1 例認められ，瀕死の状態になった 4 例を安楽死させた．原因として，対照群の雄 1 例及び 1 mg/kg/日投与群の雄 1 例で細菌による投与部位炎症，10 mg/kg/日投与群の雌 1 例で肺の多巣性壊死性炎症が考えられた．また 10 mg/kg/日投与群の雄 1 例はカテーテル再留置手術中に心停止したため，安楽死させた．心停止に関連する肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった．10 mg/kg/日投与群の雌 1 例で，多巣性神経細胞壊死による死亡が認められた．神経細胞壊死は，左右の海馬及び小脳に認められた．この病変に伴って，海馬における軽度のグリオーシス及び血管周囲の単核細胞浸潤並びに小脳分子層の多巣性淡明化及び空胞化が認められた．この神経細胞壊死は，麻酔による二次的変化としての大脳又は小脳の虚血に関連する可能性があると考えられた．死亡及び瀕死のいずれの動物もジヌツキシマブに起因するものではないと考えられた．

眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．

一般状態（摂餌量の評価を含む）で後述する変化が認められた．これらの変化は回復期間も含めて認められたものもあった．背骨の突出及び痩せが1 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに対照群及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．過剰な引っかき，円背，鼻口部皮膚の赤変化，振戦及び食欲不振が対照群及び全投与群の雌雄で認められた．反復行動が対照群及び全投与群の雄並びに対照群，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．歩行異常が対照群，1 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに対照群，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．散瞳が対照群及び全投与群の雌雄で認められた．運動性低下が対照群及び全投与群の雌雄で認められた．1及び10 mg/kg/日投与群の雄の背骨の突出及び痩せ，1 mg/kg/日投与群以上の雄及び3 mg/kg/日投与群の雌の過剰な引っかき，10 mg/kg/日投与群の雌雄の円背，1 mg/kg/日

投与群以上の雄及び3 mg/kg/日投与群以上の雌の鼻口部皮膚の赤変化，10 mg/kg/日投与群の雄及び1 mg/kg/日投与群の雌の振戦，3 mg/kg/日投与群以上の雌雄の食欲不振，10 mg/kg/日投与群の雄の反復行動，10 mg/kg/日投与群の雌雄の運動性低下は，ジヌツキシマブ投与群で高頻度に発現していることからジヌツキシマブ投与による影響と考える．歩行異常及び散瞳は，モルヒネ投与の影響が考えられること，対照群と発現割合（%），所見が観察された期間又は所見が記録された数に差がなかったことから，いずれの用量でもジヌツキシマブ投与による影響ではなく，自然発生性の偶発的な所見と考える．

全投与群の雌雄に回復期間も含め，体重の減少傾向が認められた．

神経伝導速度で，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の運動神経伝導速度及び感覚神経伝導速度の平均値が対照群と比較して減少したが，僅かであったため毒性学的に重要でないと考えられた．また神経伝導速度の変化は実質的に可逆的だった．

血液学的検査で各サイクル後の時点において，全投与群の雌雄に好中球数又は血小板数の減少傾向が散見された．

肉眼的観察で投与部位の肥厚が対照群及び全投与群の雌雄で認められた．小型の精巣，精巣上体，前立腺及び精嚢が対照群及び全投与群の雄に認められ，本試験で使用した幼若カニクイザルの年齢に起因すると考えられた．また，これらの所見（投与部位を除く）は後述する病理組織学的検査と一致した．

病理組織学的検査で混合細胞浸潤が対照群及び10 mg/kg/日投与群の雄（気管），対照群，3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌（肺），対照群及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌（肝臓），対照群及び1 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌（心臓）で認められた．これらの変化は全て偶発的なものと考えられた．

精巣，精巣上体，前立腺及び精嚢において未熟が対照群及び全投与群の雄に認められた（肉眼的観察での小型の精巣，精巣上体，前立腺及び精嚢と一致）．これらの所見は本試験で使用した幼若カニクイザルの年齢に起因すると考えられた．

脳において灰白質のグリオーシスが3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．延髄の神経線維変性が3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに全投与群の雌で認められた．この延髄の神経線維変性は白質で認められた．白質の泡沫状組織球浸潤が10 mg/kg/日投与群の雄（1例）で認められた．

脊髄（頸部，胸部及び腰部）において背索の神経線維変性が全投与群の雌雄で認められた．

背根神経節において神経細胞変性が全投与群の雄並びに3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌（頸部），10 mg/kg/日投与群の雄（1例）（胸部），10 mg/kg/日投与群の雄（1例）並びに3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌（腰部）で認められた．随伴増殖が全投与群の雌雄（頸部），3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに全投与群の雌（胸部），全投与群の雄及び10 mg/kg/日投与群の雌（腰部）で認められた．神経線維変性が10 mg/kg/日投与群の雌（頸部及び胸部），10 mg/kg/日投与群の雌雄（腰部）で認められた．神経内膜の泡沫状組織球浸潤が10 mg/kg/日投与群の雌雄（各1例）（腰部）で認められた．

坐骨神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．神経内膜の単核細胞浸潤が10 mg/kg/日投与群の雄（1例）で認められた．神経線維変性が対照群及び全投与群の雄並びに1 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．

腓腹神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が全投与群の雄及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．神経線維変性が対照群及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに1 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．

脛骨神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．神経内膜の単核細胞浸潤が10 mg/kg/日投与群の雄で認められた．神経線維変性が対照群及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．

腓骨神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌（1例）で認められた．神経線維変性が10 mg/kg/日投与群の雌雄（各1例）で認められた．

足底神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が3 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．神経線維変性が対照群及び10 mg/kg/日投与群の雄並びに10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．

対照群の雄1例（動物番号1001）で認められた坐骨，腓腹，脛骨及び足底神経の神経線維変性は片側性に起こったものであるため，当該所見は自然発生性の偶発的な所見と考える．

投与部位において血管や血管周囲の炎症が対照群及び全投与群の雌雄で認められ，対照群と投与群との間に差は認められなかった．

TKにおいて平均血漿中濃度を表 2.6.6.3.3-2に示した．Day 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加した．概して血漿中濃度に著しい性差は認められなかったが，10 mg/kg/日投与群のDay 57～Day 117では雌と比較して雄の血漿中濃度が高かった．2サイクル目（Day 33）以降において投与サイクルを重ねるごとに，全投与群の平均血漿中濃度の減少傾向が認められた．反復投与に伴う血漿中濃度の減少は，ADA産生を示唆していると考えられた．

表 2.6.6.3.3-2 幼若カニクイザルに反復静脈内投与（10 時間持続注入）したときの各サイクル最終投与開始後 24 時間の血漿中濃度（ng/mL），平均値±標準偏差

投与サイクル	採血日	0 mg/kg/日投与群 (N=6)		1 mg/kg/日投与群 (N=6)		3 mg/kg/日投与群 (N=4)		10 mg/kg/日投与群 (N=6)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	Day 1	34.2±76.5 (n=5[*1])	35.3±86.5	20.2±49.5	86.6±212	0.00 (n=2[*2,*3])	0.00±0.00	22.8±56.0	0.00±0.00
	Day 5	17.1±38.3 (n=5[*2])	64.5±158	34,200 ±10,100	20,100 ±11,000	101,000 ±52,600	139,000 ±21,700	380,000 ±109,000	312,000 ±79,500
2	Day 29	0.00±0.00 (n=5[*4])	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00 (n=5[*2])	27.8±48.1 (n=3[*2])	53.5±92.6 (n=3[*2])	152±373	161±361 (n=5[*2])
	Day 33	0.00±0.00 (n=4[*2,*4])	0.00±0.00 (n=5[*2])	2,160 ±5,030	3,240 ±4,930	3,250±6,080	3,250±3,810	173,000 ±109,000	128,000 ±123,000
3	Day 57	27.5±55.0 (n=4[*2,*4])	0.00±0.00 (n=5[*2])	23.6±57.9	32.1±71.8 (n=5[*5])	0.00±0.00	0.00±0.00 (n=3[*2])	163±399	0.00±0.00 (n=4[*2,*6])
	Day 61	0.00±0.00 (n=4[*2,*4])	0.00±0.00 (n=5[*2])	1,690 ±4,130	2,790 ±6,020 (n=5[*2])	39.6±79.3	48.4±96.9	80,000 ±54,700	112±224 (n=4[*6,*7])
4	Day 85	0.00±0.00 (n=5[*4])	0.00±0.00	0.00±0.00 (n=5[*2])	0.00±0.00	0.00±0.00 (n=3[*2])	0.00 (n=2[*2])	138±337	0.00±0.00 (n=3[*2,*6,*7])
	Day 89	0.00±0.00 (n=5[*4])	17.7±43.3	988±2,420	5,260 ±8,430	57.2±114	331±409 (n=3[*2])	80,600 ±83,900	124±247 (n=4[*6,*7])
5	Day 113	0.00±0.00 (n=5[*4])	0.00±0.00 (n=5[*2])	0.00±0.00	0.00±0.00	82.4±143 (n=3[*8])	0.00 (n=1[*2])	0.00±0.00 (n=5[*2])	91.2 (n=2[*2,*6,*7])
	Day 117	0.00±0.00 (n=5[*4])	15.6±38.3	73.9±181	213±298 (n=5[*9])	32.5±56.3 (n=3[*2])	0.00 (n=2[*2])	39,500±45,800 (n=4[*9,*10])	70.1±83.8 (n=4[*6,*7])

LLOQ（希釈処理後の最終濃度：8.0 ng/mL）未満の値は 0 として算出
＊1：動物番号 1103 では採取せず（Day 4 に動物番号 1003 と交換したため）
＊2：変動係数（CV）が高く，濃度が<3×LLOQ であったため報告されなかった動物を除く
＊3：動物番号 3101 では採取せず（Day 1 に動物番号 3001 と交換したため）
＊4：動物番号 1004 は Day 27 に安楽死させた
＊5：技術的なミスにより採取されなかった動物を除く
＊6：動物番号 4504 は Day 36 に安楽死させた
＊7：動物番号 4505 は Day 59 に死亡した
＊8：動物の体調により採取されなかった動物を除く
＊9：血漿試料なしの動物を除く
＊10：動物番号 4003 は Day 114 に安楽死させた
引用元：4.2.3.2-3（ch14.18 TOX-002）の Appendix 16 の表 1.1～表 1.4，表 1.5～表 1.8 から一部改変

Day 1（投与前）並びに対照群のDay 5，57，89及び117においてジヌツキシマブが検出されたが，その濃度はDay 5の1 mg/kg/日投与群（最低用量群）と比較して非常に低いことから誤投与によるものではなく，リガンドバインディングアッセイのバックグラウンドノイズであると考える．バックグラウンドノイズが生じた一因として，バリデーション実施時に十分な数のコントロール血漿を用いて閾値を設定できていなかったことが考えられる．

Day 117（5サイクル目）における薬物動態パラメータを表 2.6.6.3.3-3に示した．反復投与に伴う血漿中濃度の減少により，Day 117で各投与群に認められた薬物動態パラメータは算出不可能

あるいは1例又は2例から算出した．得られたパラメータの例数は少ないが，t_{max}は最終投与開始後24時間に認められ，10 mg/kg/日投与群の雄のC_{max}が雌より高かった．

表 2.6.6.3.3-3 幼若カニクイザルに反復静脈内投与（10 時間持続注入）したときの Day 117 以降の薬物動態パラメータ

用量（mg/kg/日）	性別	t_{max}（h）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{0-t}（ng･h/mL）	$t_{1/2}$（h）
1 (雄：N＝6，雌：N＝5*1)	雄	24.0 (n＝1)	443 (n＝1)	NC	NC
	雌	24.0 (n＝2)	533 (n＝2)	NC	NC
3 (雌雄各 N＝4)	雄	24.0 (n＝1)	97.5 (n＝1)	NC	NC
	雌	NC	NC	NC	NC
10 (雄：N＝4*1, *2，雌：N＝4*3, *4)	雄	24.0 (n＝2)	79,000 (n＝2)	NC	NC
	雌	24.0 (n＝2)	140 (n＝2)	189,000 (n＝1)	NC

NC：算出せず
＊1：血漿試料なしの動物を除く
＊2：動物番号 4003 は Day 114 に安楽死させた
＊3：動物番号 4504 は Day 36 に安楽死させた
＊4：動物番号 4505 は Day 59 に死亡した
引用元：4.2.3.2-3（ch14.18 TOX-002）の Appendix 16 の表 2 から一部改変

回復試験において，血液学的検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態及び体重で投与期間から続く変化が認められたものもあった．肉眼的観察で投与部位の肥厚が対照群の雌雄で認められた. 小型の精巣, 精巣上体, 前立腺及び精嚢が対照群並びに 1 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日投与群の雄で認められ，本試験で使用した幼若カニクイザルの年齢に起因すると考えられた．これらの肉眼的観察の所見（投与部位を除く）は後述する病理組織学的検査と一致した．

病理組織学的検査で 精巣，精巣上体，前立腺及び精嚢において未熟が対照群並びに 1 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日投与群の雄で認められた（肉眼的観察での小型の精巣，精巣上体，前立腺及び精嚢と一致）．これらの所見は本試験で使用した幼若カニクイザルの年齢に起因すると考えられた．

神経系の所見としては, 脊髄において背索の泡沫状組織球浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌雄（頸部，胸部及び腰部）で認められた．背索の神経線維変性が 10 mg/kg/日投与群の雌（1 例）（頸部），10 mg/kg/日投与群の雌雄（胸部及び腰部）で認められた．

背根神経節において神経細胞変性が 1 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日投与群の雄並びに 10 mg/kg/日投与群の雌（1 例）（頸部），10 mg/kg/日投与群の雌雄（各 1 例）（腰部）で認められた．随伴増殖は 1 mg/kg/日投与群の雄（1 例）及び 10 mg/kg/日投与群の雌（頸部），10 mg/kg/日投与群の雌（胸部），10 mg/kg/日投与群の雌雄（腰部）で認められた．

坐骨神経において神経内膜の単核細胞浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．脛骨神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌雄（各 1 例）で認められた．神経内膜の単核細胞浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌（1 例）で認められた．腓骨神経において神経内

膜の単核細胞浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．足底神経において神経内膜の泡沫状組織球浸潤が 10 mg/kg/日投与群の雌（1 例）で認められた．

神経系で認められたこれらの所見（背索の泡沫状組織球浸潤及び神経内膜の単核細胞浸潤を除く）は投与期間終了後と比較してその所見の発現程度が低下していたため，回復傾向にあると考えられた．また 1 mg/kg/日投与群の雄で認められた頸部背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖は，同一の個体で認められた所見であった．同様に 10 mg/kg/日投与群の雄で認められた所見（頸部脊髄，胸部脊髄及び腰部脊髄の背索の泡沫状組織球浸潤，胸部脊髄及び腰部脊髄の背索の神経線維変性，頸部背根神経節及び腰部背根神経節の神経細胞変性，腰部背根神経節の随伴増殖並びに脛骨神経の神経内膜の泡沫状組織球浸潤）は同一の個体で認められた所見であった．

投与部位の血管や血管周囲の炎症が対照群及び 1 mg/kg/日投与群の雄並びに対照群，1 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．しかし対照群と投与群との間に差は認められなかった．

幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験の結論として，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態の変化として，円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．

神経系に，用量相関性の病理組織学的所見が観察された．延髄，脊髄，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経及び背根神経節の神経線維変性，背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経，腰部背根神経節及び脳の白質における泡沫状組織球浸潤，坐骨神経及び脛骨神経における単核細胞浸潤などが投与期間終了後に認められた．これらの変化は，168日間の回復期間終了時に回復あるいはその傾向が認められた．

TKでDay 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加したが，2サイクル目（Day 33）以降に反復投与に伴う血漿中濃度の減少が認められ，ADA産生が示唆された．

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは1 mg/kg/日を下回ると考えられた．また，HNSTDは10 mg/kg/日と判断された．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は実施していない．ジヌツキシマブは組換えタンパクであり，デオキシリボ核酸，あるいはほかの染色体物質と直接反応する可能性が極めて低いと考えられることから，不要と考える．

2.6.6.5 がん原性試験

がん原性試験は実施していない．ジヌツキシマブは，進行がんを適応症として開発中であるため不要と考える．

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

以下の理由から生殖発生毒性試験は実施していない.

1. [redacted]
2. 本剤の標的であるGD2は，ヒト胎児において脳，神経幹細胞及び骨髄間葉系幹細胞に発現が認められること，IgG1抗体である本剤は，胎盤を通過すると考えられること，並びに胎児の血液脳関門は発達が未熟であることを踏まえると，本剤は胚・胎児に対して有害作用を及ぼす可能性が考えられること.

この内容は医薬品[redacted]相談（[redacted]，実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において確認されている.

なお，SDラットにおける28日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験において，雌雄の生殖器に臓器重量の変動あるいは病理組織学的変化は認められなかった.

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性はSDラットにおける28日間反復投与毒性試験，幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験及び幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験の成績から評価した．SDラットにおける28日間反復投与毒性試験及び幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験で，投与部位の病理組織学的所見に，対照群と投与群との間で差は認められなかった．幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験の病理組織学的検査で，投与部位の血管や血管周囲の炎症が30 mg/kg/日投与群の雄及び10 mg/kg/日投与群の雌で認められた．しかし，これらの所見は幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験で対照群も含め認められていること，また30 mg/kg/日投与群の雄で認められた投与部位の血管や血管周囲の炎症は，血栓形成を伴っていたことを考えあわせ，カテーテル留置に関与した変化であると判断した.

以上から，ジヌツキシマブの局所刺激性はないと考えられた.

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 組織交差反応性試験

ヒト小児及び成人，SDラット，NZWウサギ並びに幼若カニクイザル組織を用いて，組織交差反応性試験を実施した.

一次抗体として2 μg/mL及び10 μg/mLのジヌツキシマブを，二次抗体としてビオチン標識抗ヒトIgG抗体（Dkα HuIgG）を使用した．対照抗体にはヒトIgG1抗体（HuIgG1）を用いた．ジヌツキシマブと二次抗体を混合し，4℃又は2～8℃で一晩インキュベートし，組織の凍結標本と反応させた．次にそのスライドをABC Elite試薬（アビジン及びビオチン標識ホースラディッシュペルオキシダーゼ）で30分間処理し，それからペルオキシダーゼ反応の基質として3,3'-ジアミノベンジジンと4分間反応させた.

試験 1 で，陽性対照（GD2 陽性ヒト脳標本）及び陰性対照（ヒトの悪性腫瘍に伴う高カルシウム血症関連ペプチドのアミノ酸残基 1-34 の UV レジン染色スライド）とジヌツキシマブ又は対照抗体との反応性を検討した．

試験 2 で，各組織とジヌツキシマブの反応性を検討した．

2.6.6.8.1.1　ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験（試験番号：IM2038）

（添付資料：4.2.3.7.7-1）

本試験（試験番号：IM2038）の目的はヒト小児及び成人組織との潜在的な交差反応性を評価することであった．

組織の凍結切片として，各組織あたり 1～3 例の被験者から採取した．ただし成人組織は卵巣及び精巣のみを使用した．ヒト小児で使用した組織は，肺，食道，胃，小腸，大腸（結腸），腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，精巣，前立腺，卵巣，子宮，大脳，脊髄，骨髄，扁桃腺，脾臓，胸腺，甲状腺，副腎，骨格筋及び皮膚であった．

試験 1 の結果，ジヌツキシマブは陽性対照に中程度から強く反応した一方，陰性対照とは特異的な反応を示さなかった．また対照抗体は陽性対照及び陰性対照どちらとも特異的な反応を示さなかった．このことからジヌツキシマブは GD2 陽性標本に対して感受性を有し，特異的で再現性のある反応を示すと考えられた．

試験 2 の結果，小児の多数の組織並びに成人の精巣及び卵巣で染色が認められ，染色結果は，既報の GD2 発現部位とおおむね一致した（2.6.7.16.1.1 参照）．しかし，卵巣及び精巣の生殖組織，内皮，脂肪細胞又は糸球体係蹄細胞における GD2 の発現について述べた公表論文は検索できなかった．したがって，これらの染色が認められた組織は，報告されていない GD2 発現部位又は GD2 に密接に関連する別のエピトープとの交差反応性である可能性が考えられた．

2.6.6.8.1.2　SD ラットにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2189）

（添付資料：4.2.3.7.7-2）

本試験（試験番号：IM2189）の目的は SD ラット組織との潜在的な交差反応性を評価することであった．

組織の凍結切片として，各組織あたり少なくとも 2 例から採取した．使用した組織は，肺，唾液腺，食道，胃，小腸，結腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，尿管，精巣，前立腺，卵巣，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），胎盤，大脳皮質，小脳，脊髄，末梢神経，乳房，骨髄，リンパ節，脾臓，胸腺，下垂体，甲状腺，眼，副腎，骨格筋，皮膚並びに全ての組織の血液細胞及び血管であった．なお，副甲状腺は標本喪失のため評価できなかった．

試験 1 の結果，ジヌツキシマブは陽性対照に中程度から強く反応した一方，陰性対照とは特異的な反応を示さなかった．また対照抗体は陽性対照及び陰性対照どちらとも特異的な反応を示さなかった．このことからジヌツキシマブは GD2 陽性標本に対して感受性を有し，特異的で再現性のある反応を示すと考えられた．

試験 2 の結果，SD ラットの多数の組織で染色が認められ，染色結果は既報の GD2 発現部位とおおむね一致した（2.6.7.16.1.2 参照）．しかし，内皮又は周皮，心筋細胞，軟骨細胞，あるいは卵巣，胎盤又は精巣の生殖組織における GD2 の発現について述べた公表論文は検索できなかった．したがって，これらの染色が認められた組織は，報告されていない GD2 発現部位又は GD2 に密接に関連する別のエピトープとの交差反応性である可能性が考えられた．

2.6.6.8.1.3　NZW ウサギにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2190）

（添付資料：4.2.3.7.7-3）

本試験（試験番号：IM2190）の目的は NZW ウサギ組織との潜在的な交差反応性を評価することであった．

組織の凍結切片として，各組織あたり少なくとも 2 例から採取した．使用した組織は，肺，唾液腺，食道，胃，小腸，結腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，尿管，精巣，前立腺，卵巣，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），胎盤，大脳皮質，小脳，脊髄，末梢神経，乳房，骨髄，リンパ節，脾臓，胸腺，下垂体，副甲状腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋，皮膚並びに全ての組織の血液細胞及び血管であった．

試験 1 の結果，ジヌツキシマブは陽性対照に中程度から強く反応した一方，陰性対照とは特異的な反応を示さなかった．また対照抗体は陽性対照及び陰性対照どちらとも特異的な反応を示さなかった．このことからジヌツキシマブは GD2 陽性標本に対して感受性を有し，特異的で再現性のある反応を示すと考えられた．

試験 2 の結果，NZW ウサギの多数の組織に染色が認められ，染色結果は，既報の GD2 発現部位とおおむね一致した（2.6.7.16.1.3 参照）．しかし，中皮，内皮又は周皮，骨格筋，軟骨細胞あるいは卵巣，胎盤又は精巣の生殖組織における GD2 の発現について述べた公表論文は検索できなかった．したがって，これらの染色が認められた組織は，報告されていない GD2 発現部位又は GD2 に密接に関連する別のエピトープとの交差反応性である可能性が考えられた．

2.6.6.8.1.4　幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験（試験番号：IM2615）

（添付資料：4.2.3.7.7-4）

本試験（試験番号：IM2615）の目的は幼若カニクイザル組織との潜在的な交差反応性を評価することであった．

組織の凍結切片として，各組織あたり少なくとも 2 例（ただし，副甲状腺のみ 1 例）から採取した．使用した組織は，肺，唾液腺（耳下腺），胃，十二指腸，空腸，結腸，膵臓，肝臓，大動脈，心臓，腎臓，膀胱，尿管，精巣，精巣上体，前立腺，卵巣，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），大脳皮質，小脳，脊髄，末梢神経，乳房，骨髄，扁桃腺，リンパ節，脾臓，胸腺，下垂体，副甲状腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋及び皮膚であった．

試験 1 の結果，ジヌツキシマブは陽性対照に低度から強く反応した一方，陰性対照とは特異的な反応を示さなかった．また対照抗体は陽性対照及び陰性対照どちらとも特異的な反応を示さ

なかった．このことからジヌツキシマブは GD2 陽性標本に対して感受性を有し，特異的で再現性のある反応を示すと考えられた．

試験 2 の結果，幼若カニクイザルの多数の組織に染色が認められ，染色結果は既報の GD2 発現部位とおおむね一致した（2.6.7.16.1.4 参照）．しかし，精巣のライディッヒ細胞，細胞外物質，内皮及び周皮又は大部分の上皮における GD2 の発現について述べた公表論文は検索できなかった．したがって，これらの染色が認められた組織は，報告されていない GD2 発現部位又は GD2 に密接に関連する別のエピトープとの交差反応性である可能性が考えられた．

2.6.6.8.2　疼痛に関する機序検討試験

臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2a あるいは ch14.18 を用いて，マウス，ラット，ウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている（いずれも公表文献）[3-6]．

2.6.6.8.2.1　SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価（Vriesendorp 1997）

（添付資料：4.3-9）

Swiss Jim Lambert（SJL）マウス 4 例に 8～32 mg［約 400～1,600 mg/kg，以下 kg 当たりの投与量算出は米国 FDA・医薬品評価研究センター（CDER）発行のガイダンス，2005 に基づく］[7] の 14.G2a を単回腹腔内投与（Day 1 とする）した．雌 Lewis ラット 11 例に 2～20 mg（約 13～133 mg/kg）の 14.G2a を単回静脈内投与又は単回腹腔内投与（それぞれ Day 1 とする）した．NZW ウサギに 1.5～40 mg（約 0.8～22 mg/kg）の 14.G2a を単回静脈内投与（Day 1 とする）した．また，陰性対照群には非特異的なマウス全長 IgG を投与した．全動物は Day 11～17 の間に安楽死させた[3]．

実験 1 で一般状態における神経学的毒性の徴候の有無を週 2 回評価した．安楽死（Day 11～17）前に坐骨神経伝導速度を測定し，遠位潜時（ms），運動振幅（mV），H 反射潜時（ms）及び伝導速度（m/s）を算出した．Day 11～17 の剖検時に，腰仙部神経根，背根神経節，坐骨神経及び迷走神経の病理組織学的検査を実施した．

実験 2 で Day 11～17 の剖検時に，神経組織の標本について免疫組織染色法（IHC）評価を実施した．IHC 評価では，一次抗体として 14.G2a（10 倍希釈）を室温で 1 時間インキュベートした．ビオチン標識二次抗体を室温で 1 時間インキュベートした後，ABC ペルオキシダーゼを 45 分間インキュベートした．

実験 1 の結果，一般状態，電気生理学的な所見（坐骨神経伝導速度検査），組織学的な所見にニューロパチーを示す兆候は見られなかった．

実験 2 の結果，SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギの小脳顆粒層に染色が見られた．これらの動物の腸間膜神経節及び背根神経節では神経節細胞に部分的な染色が観察された．NZW ウサギの坐骨神経では，多くの神経線維の染色が見られた一方，SJL マウス及び Lewis ラットの坐骨神経では，一部の神経線維のみ染色が見られた．

2.6.6.8.2.2　ビーグル犬における 5 日間反復投与評価（Vriesendorp 1997）

（添付資料：4.3-9）

ビーグル犬 4 例に 2 mg（約 0.2 mg/kg）のインジウム 111（^{111}In）（55.5 MBq）標識 14.G2a を静脈内投与した（Day 1 とする）．これらの動物のうち 2 例には，麻酔下で更に Day 1～5 に合計 200 mg の非標識 14.G2a を 2 時間かけて静脈内投与した．2 mg の ^{111}In 標識 14.G2a を静脈内投与した動物を 2 mg 投与群とし，2 mg の ^{111}In 標識 14.G2a 及び 200 mg の非標識 14.G2a を静脈内投与した動物を 202 mg（約 20.2 mg/kg）投与群とした．ビーグル犬 4 例（各群 2 例）に陰性対照［^{111}In 標識 ZCEO25（がん胎児性抗原に対する抗体）又は B72.3（結腸がん関連 TAG72 抗原に対する抗体）］を 2 mg 静脈内投与した．Day 7 に安楽死させ，標本を採取した[3)]．

実験 1 で Day 7 の剖検時に，腸間膜リンパ節並びに腕神経叢，腰仙部神経根，迷走神経，坐骨神経，腓腹神経，頸部神経節及び腸間膜神経節を含む神経系組織標本において，病理組織学的検査を実施した．また 202 mg 投与群で血液生化学的検査を実施した．

実験 2 で安楽死（Day 7）前に坐骨神経伝導速度を測定し，遠位潜時（ms），運動振幅（mV），H 反射潜時（ms）及び伝導速度（m/s）を算出した．

実験 3 で Day 7 の剖検時に，神経組織の標本について IHC 評価を実施した．IHC 評価では，一次抗体として 14.G2a（10 倍希釈）を室温で 1 時間インキュベートした．ビオチン標識二次抗体を室温で 1 時間インキュベートした後，ABC ペルオキシダーゼを 45 分間インキュベートした．

実験 4 で 14.G2a の消失について検討した．^{111}In 標識抗体投与後 1，20，40，90 及び 140 時間に血液及び尿標本を採取した．α 相半減期（$t_{1/2\alpha}$）及び β 相半減期（$t_{1/2\beta}$）を算出した．肝臓標本を剖検の際に採取し，14.G2a 投与量あたりの放射能を算出し，投与放射能量に対する放射能の割合（ID%）で示した．同様にして尿標本でも ID（%）を算出した．

実験 5 で 14.G2a の組織分布を検討した．Day 7 の剖検時，動物から肝臓，腎臓，大脳皮質，小脳，腕神経叢，迷走神経，馬尾神経，坐骨神経，頸部神経節，胸骨，腸間膜リンパ節，膝下リンパ節，扁桃腺，脾臓，胸腺，下垂体及び副腎を採取し，放射能を測定した．各組織の筋肉に対する 14.G2a 取り込み比（組織／筋肉取り込み比）を算出した．

実験 1 の結果，202 mg 投与群の腸間膜リンパ節の皮質に被膜下類洞の軽度膨満が見られた．皮質には蒼白な胚中心を伴う多数の大型濾胞が見られた．また腸間膜リンパ節の過形成が見られた．2 mg 投与群及び 202 mg 投与群で，坐骨神経，迷走神経，腕神経叢，腰仙部神経根，腓腹神経，頸部神経節及び腸間膜神経節における脱髄，軸索変性又は炎症等の病理組織学的異常は認められなかった．202 mg 投与群の血液生化学的検査で軽度なアルブミンの低下が見られ，トランスアミナーゼが 3 倍増加していた．

実験 2 の結果，遠位潜時，H 反射潜時又は伝導速度に陰性対照群と全投与群の間に差は見られなかった．Vriesendorp らはこの結果から伝導速度の低下又は伝導ブロックが見られなかったため，分節性の脱髄は起こっていなかったのではないかと示唆している．唯一見られた変化として 202 mg 投与群で，2 mg 投与群及び陰性対照群と比較して遠位運動振幅が統計学的に有意に減少

した（表 2.6.6.8.2.2-1 参照）．Vriesendorp らはこの遠位運動振幅が減少した理由は不明であると報告している．

表 2.6.6.8.2.2-1　坐骨神経伝導速度評価（N＝2）

用量（mg）	遠位潜時（ms）	運動振幅（mV）	H 反射潜時（ms）	伝導速度（m/s）
0*1	2.3±0.3	6.6±1	15±0.9	65±4.7
2	2.4±0.3	8.5±2	14.6±0.5	67±4.2
202	3.0±0.3	1.5±0.6*2	15.5±0.9	62±2.8

ms＝ミリ秒，mV＝ミリボルト，m/s＝メートル/秒
＊1：2 mg の ^{111}In 標識 ZCEO25 投与群
＊2：p＜0.001（Student's t-test）
引用元：4.3-9（Vriesendorp 1997）の表 3 改変

実験 3 の結果，小脳顆粒層に染色が見られ，腸間膜神経節及び背根神経節に部分的な神経節細胞の染色が見られた．坐骨神経では，多くの神経線維の染色が見られ，迷走神経にも神経線維の染色が見られた．

実験 4 の結果，2 mg 投与群及び 202 mg 投与群の肝臓での ID（%）は，それぞれ 46%又は 53%であったが，それと比較して尿中の ID（%）は低かった（それぞれ 4%及び 7%）．

実験 5 の結果，202 mg 投与群の全てのリンパ節（腸間膜リンパ節，膝下リンパ節及び扁桃腺など）で，2 mg 投与群と比較して，高い組織／筋肉の 14.G2a 取り込み比が見られ，特に腸間膜リンパ節でその比が高かった．202 mg 投与群の肝臓で特に高い組織／筋肉の 14.G2a 取り込み比が見られた．中枢神経系（CNS）組織（大脳皮質及び小脳）の組織／筋肉の 14.G2a 取り込み比（約 0.3）は，それ以外の器官や組織での組織／筋肉の 14.G2a 取り込み比と比べ，約 1/10 であった．一方，血液脳関門の存在しない下垂体の取り込み比は 5 であった．Vriesendorp らはこの違いは血液脳関門の存在有無によるものと考えている．末梢神経系（腕神経叢，迷走神経，馬尾神経，坐骨神経及び頸部神経節）の組織／筋肉の 14.G2a 取り込み比は，CNS 組織に比べて 2～7 倍高かった．

2.6.6.8.2.3　SD ラットにおける単回静脈内投与評価（Slart 1997）

（添付資料：4.3-10）

雄の SD ラットに麻酔下で頸静脈にカテーテルを挿入し，麻酔から覚醒後 2 時間以上経過した後から行動学的検査を実施した．投与前にアロディニア又はストレス行動（異常発声，極度の興奮など）を示さなかった SD ラットのみを用いて ch14.18 の静脈内投与の影響を評価した．機械的アロディニアの評価には 2 つの行動的指標［50%後肢逃避閾値及び接触誘発興奮（TEA）］を用いた．後肢足底表面に対して垂直に von Frey hair（ワイヤーの範囲は 0.41～15.1 g）を少し曲がるまで押し付け，6～8 秒間保持することにより，各時点での逃避閾値を全ての後足で測定した．機械的逃避閾値及び最大アロディニア（%）を算出した．TEA 評価では，SD ラットの 6 ヵ所（耳の間，肩の間，背部中央，左側後部，右側後部及び腹部）の皮膚に 15.1 g の von Frey hair を押し付けた．SD ラットの反応によってグレード分けした（0＝反応なし，1＝中等度の刺激逃避行動，

2＝高度の刺激逃避行動又は一過性の異常発声及び咬みつき行動あるいはその両方）．累積スコアを算出し，可能な最大反応に対する百分率として示した．最後に，心拍数及び血圧をポリグラフで測定した[4]．

底部が金網のケージに SD ラットを入れ，20 分間馴化させた後，ベースライン逃避閾値及び TEA を測定した．その後，SD ラット（4～6 例／群）に生理食塩液，1.0 mg/kg の用量の陰性対照（KS1/4，上皮細胞及び上皮由来の癌に発現する抗原を認識するマウス抗体），又は 0.1，1.0，3.0 あるいは 10.0 mg/kg の ch14.18 を静脈内投与した．15 分ごとに 2.5 時間にわたり行動を測定し，Day 2 及び Day 3 には 30 分間隔で 3 回行動指標を評価した．別の 1 組の SD ラットでは，心拍数及び血圧を，ch14.18 1.0 mg/kg 投与後 3 時間にわたる期間，15.1 g の von Frey hair 又は綿棒による刺激後に，測定した．SD ラットに ch14.18 を 0.1，1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg で急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが認められた．1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg で急速静脈内投与したとき，投与後 1 時間以内に完全に発現し，一定になった後，24～48 時間後でも依然として機械的アロディニアが認められた．この機械的アロディニアの発現に伴って，心拍数増加及び血圧上昇が認められた．

2.6.6.8.2.4　SD ラットにおける単回静脈内投与評価（Xiao 1997）

（添付資料：4.3-11）

ch14.18 はラットで機械的アロディニアを誘発し，これは投与後 48 時間にわたり持続するとの Slart ら[4]の結論をふまえ，Xiao らは ch14.18 又は 14.G2a を介したアロディニアが単一の神経線維，侵害受容器又は機械受容器の興奮性の変化によるものであるか否かを検討した．この試験は，上述した Slart ら[4]の試験デザインと一部類似しており，成獣の雄の SD ラット 39 例の頸静脈にカテーテルを挿入し，von Frey hair を用いてベースライン値の機械的閾値を測定した．本試験では，50%後肢逃避閾値を算出した．その後，SD ラットを麻酔し，腓腹神経を坐骨神経との接合部付近で切断し，単一神経線維をデジタルオシロスコープの記録用電極に接着させた．また，2 つの針電極を皮膚に挿入し，電気的に誘発される反応の潜時を測定することによって伝導速度を算出した．機械的（エアパフ，von Frey hair，ブラシ及び鉗子）刺激後に電気的に誘発された反応を測定した[5]．

ch14.18 を 1 mg/kg（N＝18），14.G2a を 1 mg/kg（N＝6），陰性対照（IgG2a，コンドロイチン硫酸プロテオグリカンに対する抗体）を 1 mg/kg（N＝4）の用量で又は生理食塩液（N＝8）を急速静脈内投与した．上述のとおり 60 分間にわたり 15 分ごとに行動検査を実施し，その後電気生理学的検査を実施した．興奮した腓腹神経線維を，伝導速度が 25 m/s 超のとき Aβ線維，2～25 m/s のとき Aδ線維，2 m/s 未満のとき C 線維に分類した．本試験の結果，ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが投与後 15 分以内に発現し，45～60 分の時点で一定になった．背景活動が認められた末梢神経の Aδ及び C 線維の数が，対照群及び陰性対照群と比較して増加した．対照群と比較して，ch14.18 及び 14.G2a 投与群で Aδ線維の機械的閾値の有意な低下が見られ，C 線維の平均機械的閾値も低下傾向を示した．減少の程度は陰性対照群と同様であった．最後に，リドカインを急速静脈内投与したとき，抗 GD2 抗体に関連する背

景活動が減少したことから，リドカインが機械的アロディニアの発現を抑制する可能性が考えられた.

2.6.6.8.2.5　SD ラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価（Sorkin 2002）

（添付資料：4.3-12）

ch14.18 を介した電気刺激の性質について更に調べるため，成獣の雄の SD ラットに 14.G2a を 1 又は 3 mg/kg の用量で静脈内投与あるいは 0.01，0.05，0.1 又は 0.5 ng の用量で髄腔内投与した．機械的閾値及び熱閾値は，最初の 1～2 時間において 15～30 分ごとに評価した後，2 時間にわたり 30 分ごとに又は 4 時間にわたり 1 時間ごとに評価した（パラメータによって異なる）．熱刺激時の潜時を，足底中央部測定用改変 Hargreaves 装置を用いて光強度により測定した．機械的閾値は上述の試験と同様に von Frey hair を用いて測定した．一部の SD ラットには，0.01 ng の 14.G2a の髄腔内投与 48～72 時間前に，75 μg のカプサイシン［Transient receptor potential vanilloid subtype 1（TRPV1）を介した痛み及び熱感受性ニューロンの活性化剤であり，長期の適用で感受性の欠如を惹起する］[13] を髄腔内投与した [6]．

上記 2 試験 [4, 5] と同様，SD ラット（N＝7）に 1 mg/kg の 14.G2a を静脈内投与したところ，投与後 3 時間にわたり 50%機械的逃避閾値が統計学的有意に低下した．機械的アロディニアは速やかに発現し，30 分の時点で一定になった後，残りの観察期間を通して維持された．反応の経時変化及び程度は上記 2 試験 [4,5] での報告と同様であった．生理食塩液（N＝6）による変化は認められなかった．機械的アロディニアでみられた作用とは対照的に，14.G2a の 1 及び 3 mg/kg のいずれの用量（N＝6～7／群）においても熱逃避閾値の変化は認められなかった．閾値がベースラインレベルから減少することはなく，生理食塩液対照群との差は認められなかった．観察期間を 6 時間まで延長して得られたデータ（N＝8）において，熱感受性の遅延性変化は認められなかった.

14.G2a を髄腔内投与したところ，低投与量の 3 群（0.01，0.05 及び 0.1 ng）で 3 時間の観察期間にわたり機械的閾値が用量依存的に低下した．しかし，最高投与量群（0.5 ng）では機械的閾値はベースライン値と差がなかった．最高投与量の SD ラットは全身の立毛又は驚愕反応あるいはその両方を示したものの，刺激をされた足を上げず，このような反応は投与前や他の対照群で観察されなかった．後角のカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）を 50%減少させるのに十分な用量のカプサイシンを前投与した全ての SD ラット（N＝8）で，14.G2a を 0.01 ng で髄腔内投与したところ，機械的刺激に対してベースラインと同程度の反応が試験期間を通して認められた.

本試験の結果，14.G2a を 1 mg/kg の投与量で急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアは速やかに発現し，30 分の時点で一定になった．0.01，0.05 及び 0.1 ng の 14.G2a を髄腔内投与したとき，3 時間の観察期間を通して機械的アロディニアが発現したが，0.5 ng では機械的アロディニアの発現は認められなかった．また，静脈内投与においても髄腔内投与においても 14.G2a により熱アロディニアは発現しなかった．Sorkin らは，カプサイシンの前投与により機械的アロ

ディニアが完全に抑制されたことから，カプサイシン感受性一次求心線維（ペプチド作動性求心線維）の関与を報告している．

2.6.6.9 考察及び結論

ジヌツキシマブの単回投与毒性及び反復投与毒性所見を以下に要約する．

カニクイザルの安全性薬理試験における用量設定試験では，各群雄 2 例にジヌツキシマブを 10.5 mg/kg/日又は 21 mg/kg/日の用量で 30 分間静脈内投与した．その結果，陰茎包皮の腫脹が，10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与中又は投与終了直後～投与終了 2 時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中のみに認められた．陰茎包皮の腫脹が，21 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中～投与終了 2 時間後まで認められた．陰茎包皮の腫脹及び陰部皮膚の赤変化に用量依存性は認められなかった．また，嘔吐が 21 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与終了直後から 30 分の間に発現した．

SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験で投与期間中及び回復期間中に死亡は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査及び肉眼的観察でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．肝臓毒性として，AST，ALT，ALP 及びコレステロールの増加，肝臓の小葉中心性うっ血，クッパー細胞の増加や肥大，肝細胞の核の大小不同及び肝細胞壊死並びに肝臓重量の増加などが用量相関的に観察された．また，病理組織学的検査の肝細胞の有糸分裂像の増加，肝細胞のびまん性の好塩基性変化及び中心静脈周囲・小葉間の線維化が認められた．その他，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，網状赤血球（%）の増加，肝臓，脾臓の髄外造血及び骨髄での造血亢進などが認められた．投与期間に認められた主な所見（小葉中心性うっ血及び中心静脈周囲・小葉間の線維化を除く）は，回復期間に回復又は回復傾向にあった．免疫表現型検査で CD3 陰性 NKR-P1A 陽性細胞の増加が 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群で認められたが，この増加はジヌツキシマブの薬理作用を反映しているものと考えられた．また，ADA 産生を示唆する所見として，脾臓の白脾髄での胚中心数の増加が，45 mg/kg/日投与群の雄並びに 15 mg/kg/日投与群及び 45 mg/kg/日投与群の雌で認められた．さらに TK では Day 22 で，Day 1 と比較して，5 mg/kg/日投与群で C_0 及び $AUC_{0\text{-}4h}$ が著しく減少し，15 mg/kg/日投与群の雌は僅かに減少し，15 mg/kg/日投与群の雄及び 45 mg/kg/日投与群の雌ではほぼ等しく，並びに 45 mg/kg/日投与群の雄では僅かな増加が認められた．

以上の結果から，本試験で NOAEL は求められず，NOAEL は 5 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験の結果，投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経毒性として，背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった．その他，病

理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤，心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後には回復または程度の減弱が認められ，回復性を確認できた．TKの結果，$AUC_{0\text{-}48h}$に性差は認められなかった．$AUC_{0\text{-}48h}$は用量に比例し増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは3 mg/kg/日を下回ると考えられた．

幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験において，ジヌツキシマブに関連した死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，尿検査，血液生化学的検査及び器官重量にジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態の変化として，円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経系に，用量相関性の病理組織学的所見が観察された．延髄，脊髄，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経及び背根神経節の神経線維変性，背根神経節の神経細胞変性及び随伴増殖，坐骨神経，腓腹神経，脛骨神経，腓骨神経，足底神経，腰部背根神経節及び脳の白質における泡沫状組織球浸潤，坐骨神経及び脛骨神経における単核細胞浸潤などが投与期間終了後に認められた．これらの変化は，168日間の回復期間終了時に回復あるいはその傾向が認められた．TKでDay 5において平均血漿中濃度はほぼ用量に比例して増加したが，2サイクル目（Day 33）以降に反復投与に伴う血漿中濃度の減少が認められ，ADA産生が示唆された．

以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは1 mg/kg/日を下回ると考えられた．また，HNSTDは10 mg/kg/日と判断された．

国内臨床試験（第I/IIa相試験）においては，高リスク神経芽腫を対象に，米国での標準的治療である顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）（sargramostim），インターロイキン-2（IL-2）（aldesleukin）を交互に併用するジヌツキシマブ免疫療法を参考にした．第I/IIa相試験として，IL-2製剤として国内既承認のテセロイキン（遺伝子組み換え）（イムネース®）を，また，GM-CSF製剤の代替としてマクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）製剤のミリモスチム（[redacted]）（ミリモスチムを使用した療法をM療法とする）及び顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）製剤のフィルグラスチム（遺伝子組換え）（グラン®）［フィルグラスチム（遺伝子組換え）を使用した療法をG療法とする］を使用し，ジヌツキシマブとIL-2及びM-CSF及びG-CSFを交互使用する2つのレジメン（M療法とG療法）での安全性と臨床効果を検討した．HNSTDにおけるジヌツキシマブ平均血漿中濃度（1サイクル目Day 5：雄380±109 μg/mL，雌312±79.5 μg/mL）は，国内第I/IIa相試験（第I相試験部分）における，初回投与（17.5 mg/m^2/日）開始82～92時間後に認められた最高平均血漿中濃度（G療法：16.7±2.75 μg/mL）の約19倍から23倍に相当した．

表 2.6.6.9-1でGD2-PI試験のG療法の薬物動態（PK）パラメータ及びGD2-PI試験のG療法のPKパラメータと比較可能な幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験（以下，「002試験」），SDラットにおける28日間反復投与毒性試験（以下，「003試験」）の最低用量における

PKパラメータ（推定値を含む）を比較した．002試験では，幼若カニクイザルにおける4日間投与忍容性試験の結果から母集団薬物動態モデルを構築し，ベイジアン法により002試験におけるPKパラメータを算出した．幼若カニクイザルにおけるジヌツキシマブの薬物動態は，一次速度の消失過程を有する2-コンパートメントモデルに適合した．母集団薬物動態モデルで算出した個体ごとのPKパラメータを用いて，GD2-PI試験の採血時間に合わせた血漿中ジヌツキシマブ濃度を推定し，推定した濃度を用いてモデル非依存的な解析により，GD2-PI試験と比較できる1サイクル目のPKパラメータを算出した．003試験では1サイクル目の濃度測定値を用いて，母集団薬物動態モデルを構築し，各動物のPKパラメータを算出した．SDラットにおけるジヌツキシマブの薬物動態は，一次速度の消失過程を有する1-コンパートメントモデルに適合した．母集団薬物動態モデルで算出した個体ごとのPKパラメータを用いて，003試験における最低投与量（5 mg/kg/日）の血漿中ジヌツキシマブ濃度を推定し，推定した濃度を用いてモデル非依存的な解析により，GD2-PI試験と比較可能なPKパラメータを算出した．4サイクル目に関しては，母集団薬物動態モデルによるモデル構築が不可能であったため，実測値の平均値を用いて4日間投与した際のPKパラメータをGD2-PI試験と比較可能な形として算出した．すなわち，4サイクル目に関しては，最低投与量（5 mg/kg/日）の各回の投与24時間後には，濃度が定量下限値未満であったため，投与回ごとに同じ平均血漿中濃度が測定されると仮定し，定量下限値未満は濃度を0としてAUC_{all}を算出した．

GD2-PI試験のG療法のC_{max}及びAUC_{inf}（無限時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積）と比較可能な002試験，003試験の最低用量におけるC_{max}（003試験ではC_0）及びAUC（雌雄平均値）（推定値）との曝露量の比を表 2.6.6.9-1に示した．

表 2.6.6.9-1 GD2-PI 試験の G 療法の C_{max} 及び AUC_{inf} と比較可能な 002 試験，003 試験の最低用量における C_{max}（C_0）及び AUC（雌雄平均値）（推定値）との曝露量の比

試験名		002試験	003試験		GD2-PI試験 G療法
投与量		1 mg/kg/日	5 mg/kg/日		17.5 mg/m^2/日
			1サイクル目	4サイクル目	
C_{max}（003試験ではC_0）（μg/mL）	雌雄平均（雄平均，雌平均）	34.87±12.89（42.30±11.49，27.44±10.05）	146.4±27.88（163.0±20.29，129.9±25.06）	16.68（24.50，8.850）	16.70±2.752
	曝露量比*	2.09	8.77	0.999	
AUC_{inf}（003試験の4サイクル目はAUC_{all}）（μg·h/mL）	雌雄平均（雄平均，雌平均）	4,142±2,052（5,247±1,817，3,037±1,741）	15,280±4,238（16,010±3,147，14,550±5,230）	85.93（94.79，77.06）	2,164±180.1
	曝露量比*	1.91	7.06	0.0397	

＊：002試験又は003試験の曝露量（雌雄平均）をG療法での曝露量の平均値で除して算出した

002試験の最低用量（1 mg/kg/日）でGD2-PI試験の曝露量（C_{max}及びAUC_{inf}）を超えていると考えられ，ジヌツキシマブ投与による臨床上可能性のある毒性を評価できていると考える．003試験の最低用量（5 mg/kg/日）の1サイクル目ではGD2-PI試験の曝露量（C_{max}及びAUC_{inf}）を超えていると推察されたが，4サイクル目では抗体の発現により曝露量が減ると考えられたため，GD2-PI試験の曝露量（C_{max}及びAUC_{inf}）を超えなかったと考えられる．しかし，4サイクル目の45 mg/kg/日群のPKパラメータは，一回投与当たりのC_0が雄で1,550 μg/mL，雌で1,120 μg/mL及び$AUC_{0\text{-}4h}$が雄で5,440 μg· h/mL，雌で3,640 μg·h/mLとGD2-PI試験の曝露量（C_{max}：16.70 μg/mL及びAUC_{inf}：2,164 μg· h/mL）を超えており，003試験の投与量の範囲内で臨床上起きる可能性のある毒性を評価できていると考える．

組織交差反応性試験の結果，ジヌツキシマブの結合プロファイルは，ヒトを含むいずれの種においても，既報のGD2の発現部位とおおむね一致したことから，SDラット及びカニクイザルがジヌツキシマブの非臨床評価に適切な動物種であると考えられた．

臨床で認められる疼痛の機序を検討するために，14.G2aあるいはch14.18を用いて，マウス，ラット及びウサギにおける単回投与試験並びにイヌにおける反復投与試験が実施されている[3-6]．総じて，ジヌツキシマブ投与に伴う疼痛は，末梢神経又はミエリンあるいはその両方におけるGD2抗原へのジヌツキシマブの結合によって刺激された，機械的アロディニアの誘導が原因であることが示唆された．

2.6.6.10　図表

図表は本文中に含めた．

2.6.6.11　参考文献

1） Mujoo, K., Cheresh, D.A., Yang, H. M., et al. Disialoganglioside G_{D2} on human neuroblastoma cells: Target antigen for monoclonal antibody-mediated cytolysis and suppression of tumor growth. Cancer Res. 1987, 47(4), 1098-1104.

2） Mujoo, K. Kipps, T. J., Yang, H. M., et al. Functional properties and effect on growth suppression of human neuroblastoma tumors by isotype switch variants of monoclonal antiganglioside G_{D2} antibody 14.18. Cancer Res. 1989, 49(11), 2857-2861.

3） Vriesendorp, F. J., Quadri, S. M., Flynn, R. E., et al. Preclinical analysis of radiolabeled anti-GD2 immunoglobulin G. Cancer. 1997, 80(12 Suppl), 2642-2649.

4） Slart, R., Yu, A. L., Yaksh, T. L., et al. An animal model of pain produced by systemic administration of an immunotherapeutic anti-ganglioside antibody. Pain. 1997, 69(1-2), 119-125.

5） Xiao, W. H., Yu, A. L., Sorkin L. S. Electrophysiological characteristics of primary afferent fibers after systemic administration of anti-GD2 ganglioside antibody. Pain. 1997, 69(1-2), 145-151.

6） Sorkin, L. S., Yu, A. L., Junger, H., et al. Antibody directed against GD2 produces mechanical allodynia, but not thermal hyperalgesia when administered systemically or intrathecally despite its dependence on capsaicin sensitive afferents. Brain Res. 2002, 930(1-2), 67-74.

7） Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005, 1-27.

8） APC Mouse Anti-Rat CD3, Technical Data Sheet, 557030 Rev. 5, BD Pharmingen™ Available from: http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/557030.pdf

9） FITC Mouse Anti-Rat CD4, Technical Data Sheet, 554843 Rev. 13, BD Pharmingen™ Available from: http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/554843.pdf

10） PE Mouse Anti-Rat CD8a, Technical Data Sheet, 554857 Rev. 16, BD Pharmingen™ Available from: http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/554857.pdf

11） FITC Mouse Anti-Rat CD45RA, Technical Data Sheet, 554883 Rev. 10, BD Pharmingen™ Available from: http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/554883.pdf

12） PE Mouse Anti-Rat CD161a, Technical Data Sheet, 555009 Rev. 12, BD Pharmingen™ Available from: http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/555009.pdf

13） Schumacher, M.A., Transient receptor potential channels in pain and inflammation: Therapeutic opportunities. Pain Pract. 2010, 10(3), 185-200.

目次

2.6.7.1　毒性試験：　一覧表（次頁に続く）.....2
2.6.7.2　トキシコキネティクス：　トキシコキネティクス試験の一覧表.....5
2.6.7.3　トキシコキネティクス：　トキシコキネティクス試験成績の一覧.....6
2.6.7.4　毒性試験：　被験物質（バッチ毎）一覧.....7
2.6.7.5　単回投与毒性試験.....8
2.6.7.6　反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験.....9
2.6.7.7　反復投与毒性試験：　重要な試験.....10
2.6.7.7.1　ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（次頁に続く）.....10
2.6.7.7.2　幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（次頁に続く）.....17
2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験.....27
2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験.....27
2.6.7.10　がん原性試験.....27
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験.....27
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.....27
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験.....27
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 27
2.6.7.15　局所刺激性試験.....27
2.6.7.16　その他の毒性試験.....28
2.6.7.16.1　組織交差反応性試験.....28
2.6.7.16.1.1　ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験.....28
2.6.7.16.1.2　SD ラットにおける組織交差反応性試験.....29
2.6.7.16.1.3　NZW ウサギにおける組織交差反応性試験.....30
2.6.7.16.1.4　幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験.....31
2.6.7.16.2　疼痛に関する機序検討試験.....32
2.6.7.16.2.1　SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価.....32
2.6.7.16.2.2　ビーグル犬における 5 日間反復投与評価.....33
2.6.7.16.2.3　SD ラットにおける単回静脈内投与評価.....34
2.6.7.16.2.4　SD ラットにおける単回静脈内投与評価.....35
2.6.7.16.2.5　SD ラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価.....36

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（次頁に続く）

被験物質：ジヌツキシマブ

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験								
単回投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	1 日間（1 日 1 回）	10.5，21 mg/kg	非適	[redacted]（日本）	[redacted]354-004	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験								
反復投与毒性試験	SD ラット	静脈内	28 日間（1 日 1 回，4 日間連続投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 回繰り返す）	0，5，15，45 mg/kg/日（無毒性量：＜5 mg/kg/日）	適	[redacted]（日本）	[redacted]354-003	4.2.3.2-1
	幼若カニクイザル	静脈内	4 日間（1 日 1 回）	0，3，10，30 mg/kg/日（無毒性量：＜3 mg/kg/日）	非適	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-001	4.2.3.2-2
	幼若カニクイザル	静脈内	140 日間（1 日 1 回，4 日間連続投与後，24 日間休薬するサイクルを 5 回繰り返す）	0，1，3，10 mg/kg/日（無毒性量：＜1 mg/kg/日）	適	[redacted]（加国）	ch14.18 TOX-002	4.2.3.2-3
遺伝毒性試験								
ND								
がん原性試験								
ND								

[redacted]，ND：実施せず

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
生殖発生毒性試験								
ND								
局所刺激性試験								
ND								
その他の毒性試験								
組織交差反応性試験								
ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験	ヒト小児及び成人組織	*In vitro*	NA	2 及び 10 μg/mL	適	[redacted]（米国）	IM2038	4.2.3.7.7-1
SD ラットにおける組織交差反応性試験	SD ラット	*In vitro*	NA	2 及び 10 μg/mL	適	[redacted]（米国）	IM2189	4.2.3.7.7-2
NZW ウサギにおける組織交差反応性試験	NZW ウサギ	*In vitro*	NA	2 及び 10 μg/mL	適	[redacted]（米国）	IM2190	4.2.3.7.7-3
幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験	幼若カニクイザル	*In vitro*	NA	2 及び 10 μg/mL	適	[redacted]（米国）	IM2615	4.2.3.7.7-4

ND：実施せず，NA：該当せず，[redacted]

2.6.7.1　毒性試験：　一覧表（続き）

被験物質：ch14.18，14.G2a

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
その他の毒性試験								
SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価	SJL マウス	腹腔内	1 日間（1 日 1 回）	14.G2a：8～32 mg	非適	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9
	Lewis ラット	静脈内又は腹腔内		14.G2a：2～20 mg				
	NZW ウサギ	静脈内		14.G2a：1.5～40 mg				
ビーグル犬における 5 日間反復投与評価	ビ―グル犬	静脈内	5 日間（1 日 1 回）	14.G2a：2 及び 202 mg	非適	NA	Vriesendorp 1997	4.3-9
SD ラットにおける単回静脈内投与評価	SD ラット	急速静脈内	1 日間（1 日 1 回）	ch14.18：0.1，1.0，3.0，10.0 mg/kg 又は 1.0 mg/kg	非適	NA	Slart 1997	4.3-10
SD ラットにおける単回静脈内投与評価	SD ラット	急速静脈内	1 日間（1 日 1 回）	ch14.18：1 mg/kg 14.G2a：1 mg/kg	非適	NA	Xiao 1997	4.3-11
SD ラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価	SD ラット	急速静脈内又は髄腔内	1 日間（1 日 1 回）	14.G2a 急速静脈内：1，3 mg/kg 14.G2a 髄腔内：0.01，0.05，0.1，0.5 ng	非適	NA	Sorkin 2002	4.3-12

NA：該当せず

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ジヌツキシマブ

試験の種類	試験系	投与方法	用量（mg/kg/日）	GLP 適用	試験番号	記載箇所
ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験	SD ラット	静脈内	0，5，15，45	適	[redacted]354-003	4.2.2.2-2
幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験	幼若カニクイザル	静脈内	3，10，30	非適	ch14.18 TOX-001	4.2.2.2-3
幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験	幼若カニクイザル	静脈内	0，1，3，10	適	ch14.18 TOX-002	4.2.2.2-4

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

被験物質：ジヌツキシマブ

用量	C_{max}（μg/mL）	ヒトの C_{max} に対する倍数	AUC（μg・h/mL）	ヒトの AUC に対する倍数
ヒト（国内第 I/IIa 相試験）				
17.5 mg/m²/日（70 mg/m²/コース*1）（G 療法）	16.7±2.75*2	NA	2,164±180*2	NA
ラット（[redacted]354-003）				
5 mg/kg/日（20 mg/kg/サイクル*3）	146.4*4	8.77	15,280*4	7.06
15 mg/kg/日（60 mg/kg/サイクル*3）	248*5	14.9	8,195*6	3.79
45 mg/kg/日（180 mg/kg/サイクル*3）	1,335*5	79.9	156,000*6	72.1
幼若カニクイザル（ch14.18-TOX-001）				
3 mg/kg/日（12 mg/kg/サイクル*7）	135	8.08	6,665*8	3.08
10 mg/kg/日（40 mg/kg/サイクル*7）	278	16.6	14,550*8	6.72
30 mg/kg/日（120 mg/kg/サイクル*7）	639	38.2	25,150*8	11.6
幼若カニクイザル（ch14.18-TOX-002）				
1 mg/kg/日（4 mg/kg/サイクル*7）	34.87*4	2.09	4,142*4	1.91
3 mg/kg/日（12 mg/kg/サイクル*7）	120*9	7.19	NC	NA
10 mg/kg/日（40 mg/kg/サイクル*7）	346*9	20.7	NC	NA

NA：該当せず，NC：算出せず

＊1：1 コース 24～32 日間（次コース開始が延期の場合最大 49 日間），＊2：平均値±標準偏差、AUC0-inf（投与開始前から無限時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積），＊3：1 サイクル 7 日間，＊4：母集団薬物動態モデルにより算出した濃度を推定し，モデル非依存的な解析により算出した推定値，＊5：Day 22（サイクル 4 の投与 1 回目）における C0（投与終了時の血漿中濃度）（雌雄の平均値），＊6：Day 25（サイクル 4 の Day 4）における AUC24h-inf（投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積）（雌雄の平均値），＊7：1 サイクル 28 日間，＊8：AUC0-t（最終投与開始時から，最終的に血漿中濃度が定量可能な時間（t）までの血漿中濃度―時間曲線下面積），＊9：Day 5（サイクル 1）の平均血漿中濃度（雌雄の平均値）

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：ジヌツキシマブ

バッチ番号／製造者	純度（%）	試験番号	試験の種類
[redacted]／[redacted]社	[redacted]	[redacted]354-004	カニクイザルにおける用量設定試験
		[redacted]354-003	SD ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験
		IM2189	SD ラットにおける組織交差反応性試験
		IM2190	NZW ウサギにおける組織交差反応性試験
[redacted]／[redacted]社	[redacted]	IM2038	ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験
[redacted]／[redacted]社	[redacted]	IM2615	幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験
[redacted]／[redacted]社	[redacted]	ch14.18 TOX-001	幼若カニクイザルにおける 4 日間投与忍容性試験
[redacted]／[redacted]社	[redacted]	ch14.18 TOX-002	幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験

[redacted]

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	用量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	最大非致死量（mg/kg/日）	概略の致死量（mg/kg/日）	特記すべき所見	試験番号
カニクイザル	静脈内（製剤／溶液*）	10.5，21	雄 2	21	＞21	陰茎包皮の腫脹が，ジヌツキシマブ 10.5 mg/kg/日投与群の 2 例で投与中又は投与終了直後～投与終了 2 時間後まで認められた．また，21 mg/kg/日投与群の 1 例で，投与中～投与終了 2 時間後まで認められた．陰部皮膚の赤変化が，10.5 mg/kg/日投与群の 1 例で投与中のみに認められた．嘔吐が 21 mg/kg/日投与群の 2 例で，投与終了直後から 30 分の間に発現した．概略の致死量は 21 mg/kg/日超であった．	[redacted]354-004

＊：20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与期間	用量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	試験番号
幼若カニクイザル	静脈内（製剤／溶液*）	4日間（1日1回）	0，3，10，30	雌雄 本試験：1 回復試験／TK試験：2 （対照群を除く）	NA	投与期間中及び回復期間中に死亡は認められず，眼科学的検査，心電図，神経学的評価，神経伝導速度及び尿検査でジヌツキシマブに関連した変化は認められなかった．一般状態では円背，振戦，運動性低下，歩行異常，散瞳，皮膚の赤変化などが認められた．神経毒性として，背根神経節の神経線維変性及び神経細胞壊死などが認められた．さらに回復期間終了後には，延髄，背索，坐骨神経，脛骨神経，腓骨神経，腓腹神経，足底神経，後肢，前肢などに神経線維変性が認められ，投与期間終了後に認められていた背根神経節の神経線維変性も認められたため，その回復性を確認できなかった．その他，病理組織学的検査の肝臓の胆管周囲混合細胞浸潤，心臓の混合細胞（主に好酸球）の炎症，脳の白質内グリオーシス及び灰白質の血管や血管周囲の炎症，気管，膵臓及び腸間膜などの付属リンパ節での好酸球浸潤や好酸球性肉芽腫，投与部位の血管や血管周囲の炎症などが認められた．これらの所見は回復期間終了後にはほとんど認められず，回復性を確認できた．TKの結果，$AUC_{0\text{-}48h}$［投与開始（時間0）から48時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積］に性差は認められなかった．$AUC_{0\text{-}48h}$は用量に比例し増加したが，その増加の割合は用量比を下回った．以上の結果から，本試験のNOAELは求められず，NOAELは3 mg/kg/日を下回ると考えられた．	ch14.18 TOX-001

NA：該当せず

＊：20 mmol/Lヒスチジン，150 mmol/L塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート20，pH 6.8

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.1 ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（次頁に続く）

被験物質：ジヌツキシマブ

報告書の標題：A 4-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of the Anti-GD2 Antibody ch14.18 in Rats with a 6-Week Recovery Period

動物種／系統：SD ラット　　投与期間：28 日間　　試験番号：[redacted]354-003

試験開始週齢：9 週齢　　回復期間：6 週間　　記載箇所：4.2.3.2-1

初回投与日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雄），20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雌）　　投与方法：静脈内　　GLP 適用：適

特記事項：4 日間連続静脈内投与後 3 日間休薬するサイクルを 4 週間反復する　　溶媒／投与形態：製剤／溶液［ch14.18 プラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8］

無毒性量：NA

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
動物数*1	雄：8	雌：8	雄：8*3	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8
トキシコキネティクス								
C_0（ng/mL）								
Day 1	NC	NC	98,000	179,000	295,000	318,000	774,000	1,020,000
Day 22	NC	NC	1,690	36,300	324,000	171,000	1,550,000	1,120,000
$AUC_{0\text{-}4h}$（ng・h/mL） *2								
Day 1	NC	NC	358,000	307,000	930,000	939,000	2,800,000	2,950,000
Day 22	NC	NC	12,500	33,200	889,000	418,000	5,440,000	3,640,000

NA：該当せず，NC：算出せず
＊1：サテライト群で測定
＊2：投与終了時から投与終了後 4 時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積
＊3：Day 22 に雄 1 例が技術的な採血ミスにより死亡

2.6.7.7.1 ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
動物数*1	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8
トキシコキネティクス								
$t_{1/2}$（h）	NC	NC	NC	NC	70.1	70.2	98.2	132
$AUC_{24h\text{-}inf}$*2（ng・h/mL）	NC	NC	NC	NC	15,000,000	1,390,000	159,000,000	153,000,000
投与期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：15	雌：15	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：15	雌：15
死亡及び屠殺動物数（例数）	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
体重	－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
血液学的検査								
赤血球数（10^6/μL）	8.352	7.620	8.368	7.095※※	8.124	7.006※※	8.325	7.496
ヘモグロビン（g/dL）	15.68	14.57	15.11	13.56※※	14.78※	13.64※※	15.52	14.24
ヘマトクリット（%）	46.79	43.14	45.03	40.29※※	44.48※	40.37※※	46.52	42.80
網状赤血球（%）	2.34	2.43	2.90	4.04※※	3.03	3.64※※	2.57	3.18

－：特記すべき所見なし，NC：算出せず，※：$p<0.05$，※※：$p<0.01$

＊1：サテライト群で測定

＊2：最終投与（Day 25）の投与終了後 24 時間から無限時間までの血漿中濃度―時間曲線下面積

2.6.7.7.1 ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
投与期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
血液学的検査								
血小板数（10^3/μL）	956.7	1,128.2	1,204.3※※	1,513.5※	1,124.2※	1,291.8	964.0	1,051.8
白血球数（10^3/μL）	7.554	6.368	9.785	8.172	11.133※※	7.111	11.763※	9.803※※
好中球数（10^3/μL）	1.229	0.842	1.290	0.739	1.711	0.769	2.646	1.740※
リンパ球数（10^3/μL）	5.969	5.229	8.150	7.136	9.032※※	6.102	8.601※	7.644※
単球数（10^3/μL）	0.151	0.091	0.156	0.120	0.185	0.126	0.262	0.211※
血液生化学的検査								
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（IU/L）	80.7	75.0	70.2	82.1	78.6	79.7	101.6	96.8※
アラニンアミノトランスフェラーゼ（IU/L）	26.9	19.7	26.7	23.8	35.2※	25.3※	47.7※※	43.4※※
アルカリフォスファターゼ（IU/L）	436.3	179.7	368.1	227.8	396.8	220.7	505.5	293.2※
コレステロール（mg/dL）	54.8	58.7	63.8	81.5※	72.7※※	97.3※※	69.1	105.0※※
総タンパク（g/dL）	5.34	5.65	5.68※	6.14※※	5.81※※	6.14※※	5.77※※	6.14※※
グロブリン（g/dL）	2.53	2.38	2.87※※	2.86※※	2.97※※	2.96※※	2.86※※	2.99※※
アルブミン／グロブリン	1.110	1.376	0.982※	1.144※※	0.956※※	1.078※※	1.021	1.073※※
免疫表現型検査								
CD3 陰性 NKR-P1A 陽性（10^3/μL）	0.425	0.216	0.444	0.261	0.847※	0.403	0.667	0.505※※
CD3 陰性 NKR-P1A 陽性（%）	7.168	4.097	5.507	3.515	9.456	6.648※	8.073	6.647※

※：$p<0.05$，※※：$p<0.01$

2.6.7.7.1 ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
投与期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
肉眼的観察	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量								
肺（mg）	1,365.9	1,078.0	1,338.0	1,149.7	1,379.5	1,136.6	1,349.3	1,156.1※
肝臓（g）	9.836	6.422	10.939	7.347	13.172※※	8.417※※	13.837※※	9.274※※
脾臓（mg）	752.8	573.5	814.1	662.3	1,045.7※	855.0※※	1,136.8※※	808.3※※
副腎（両側）（mg）	56.25	61.47	58.94	72.04※	59.62	70.63	56.07	71.87※
病理組織学的検査 （例数）								
肺								
肉芽腫性炎症	0	0	0	0	0	0	1	1
回腸								
パイエル板の肉芽腫性炎症	0	0	0	0	0	0	2	1
肝臓								
小葉中心性うっ血	0	0	2	3	5	7	5	5
クッパー細胞の増加や肥大	0	0	0	1	6	3	5	7
肝細胞の核の大小不同	0	0	0	1	0	0	5	7
髄外造血	0	0	0	2	3	2	5	7
肝細胞壊死（巣状及び単細胞）	0	1	0	0	0	0	3	0

－：特記すべき所見なし，※：$p<0.05$，※※：$p<0.01$

2.6.7.7.1 ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
投与期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
病理組織学的検査（例数）								
肝臓								
肝細胞の有糸分裂像の増加	0	0	0	1	1	1	5	5
肝細胞のびまん性の好塩基性変化	0	0	0	1	0	0	3	4
中心静脈周囲・小葉間の線維化	0	0	0	2	0	0	1	0
大腿骨								
骨髄での造血亢進	0	0	2	3	5	3	6	5
胸骨								
骨髄での造血亢進	0	0	1	3	4	4	5	5
脾臓								
髄外造血	0	1	0	1	4	2	5	4
白脾髄での胚中心数の増加	0	0	0	0	0	1	2	2
投与部位								
血管周囲の出血	1	0	NA	NA	NA	NA	0	2
血管周囲の単核細胞浸潤	1	0	NA	NA	NA	NA	1	0
血管周囲の炎症細胞浸潤	0	1	NA	NA	NA	NA	0	4
血管壁の裂傷	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0

NA：該当せず

2.6.7.7.1　ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量　（mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
投与期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
病理組織学的検査（例数）								
投与部位								
中膜の肥厚	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
血管周囲の浮腫	0	1	NA	NA	NA	NA	0	0

NA：該当せず

2.6.7.7.1　ラットにおける 28 日間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量　（mg/kg/日）	0（対照）		5		15		45	
回復期間中の特記すべき所見								
動物数	雄：5	雌：5	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：5	雌：5
血液学的検査	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
血液生化学的検査	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
免疫表現型検査	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
器官重量	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
病理組織学的検査（例数）								
肝臓								
小葉中心性うっ血	0	0	NA	NA	NA	NA	4	5
肝細胞の核の大小不同	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
中心静脈周囲・小葉間の線維化	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1

－：特記すべき所見なし，NA：該当せず

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける5ヵ月間反復投与毒性試験（次頁に続く）

被験物質：ジヌツキシマブ

報告書の標題：Ch14.18 （Dinutuximab）：A 5-Cycle Intravenous Infusion Toxicity Study in the Juvenile Cynomolgus Monkey

動物種／系統：幼若カニクイザル　　投与期間：140 日間　　試験番号：ch14.18 TOX-002

試験開始月齢：13～18 ヵ月齢　　回復期間：168 日間　　記載箇所：4.2.3.2-3

初回投与日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内　　GLP 適用：適

特記事項：4 日間連続静脈内投与した後，24 日間休薬するサイクル（28 日間）を 5 回繰り返す　　溶媒／投与形態：製剤／溶液［ch14.18 プラセボ（20 mmol/L ヒスチジン，150 mmol/L 塩化ナトリウム，0.05%ポリソルベート 20，pH 6.8］

無毒性量：NA　　HNSTD：10 mg/kg/日

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
トキシコキネティクス								
平均血漿中濃度（ng/mL）								
Day 1	34.2±76.5	35.3±86.5	20.2±49.5	86.6±212	0.00	0.00±0.00	22.8±56.0	0.00±0.00
Day 5	17.1±38.3	64.5±158	34,200±10,100	20,100±11,000	101,000±52,600	139,000±21,700	380,000±109,000	312,000±79,500
Day 29	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	27.8±48.1	53.5±92.6	152±373	161±361
Day 33	0.00±0.00	0.00±0.00	2,160±5,030	3,240±4,930	3,250±6,080	3,250±3,810	173,000±109,000	128,000±123,000
Day 57	27.5±55.0	0.00±0.00	23.6±57.9	32.1±71.8	0.00±0.00	0.00±0.00	163±399	0.00±0.00
Day 61	0.00±0.00	0.00±0.00	1,690±4,130	2,790±6,020	39.6±79.3	48.4±96.9	80,000±54,700	112±224
Day 85	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	138±337	0.00±0.00
Day 89	0.00±0.00	17.7±43.3	988±2,420	5,260±8,430	57.2±114	331±409	80,600±83,900	124±247
Day 113	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	82.4±143	0.00	0.00±0.00	91.2

NA：該当せず

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
トキシコキネティクス								
平均血漿中濃度（ng/mL）								
Day 117	0.00±0.00	15.6±38.3	73.9±181	213±298	32.5±56.3	0.00	39,500±45,800	70.1±83.8
t_{max}（h）	NA	NA	24.0*1	24.0*2	24.0*1	NC	24.0*2	24.0*2
C_{max}（ng/mL）	NA	NA	443*1	533*2	97.5*1	NC	79,000*2	140*2
AUC_{0-t}（ng・h/mL） *3	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	189,000*1
$t_{1/2}$（h）	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
投与期間中の特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数（例数） *4	1*5	0	1*5	0	0	0	1*6	2*7, *8
一般状態*9（摂餌量の評価を含む）								
背骨の突出	0	1	1	0	0	0	4	1
痩せ	0	1	2	0	0	0	4	1
過剰な引っかき	2	4	4	2	2	4	4	5
円背	6	6	6	6	4	4	6	6
反復行動	2	2	1	0	3	2	5	2
鼻口部皮膚の赤変化	6	6	6	6	4	4	6	6

NA：該当せず，NC：算出せず
＊1：1 例のデータ，＊2：2 例のデータ ，＊3：最終投与開始時から，最終的に血漿中濃度が定量可能な時間（t）までの血漿中濃度―時間曲線下面積
＊4：死亡及び瀕死のいずれの動物もジヌツキシマブに起因するものではないと考えられた．＊5：細菌による投与部位炎症により安楽死させた，
＊6：カテーテル再留置手術中に心停止したため，安楽死させた．＊7：肺の多巣性壊死性炎症により安楽死させた，
＊8：多巣性神経細胞壊死による死亡が認められた，＊9：回復期間も含む

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
投与期間中の特記すべき所見								
一般状態*（摂餌量の評価を含む）								
振戦	3	2	6	3	4	3	6	6
歩行異常	5	1	2	0	0	2	1	2
散瞳	5	2	5	6	3	3	3	4
運動性低下	6	6	6	6	4	4	6	6
食欲不振	4	5	5	3	4	4	5	6
体重（kg）								
投与前（Day －3）	1.87	1.53	1.72	1.45	1.63	1.70	1.77	1.67
1 サイクル目の終わり頃（Day 26）	1.87	1.65	1.68	1.48	1.60	1.43	1.58	1.53
2 サイクル目の終わり頃（Day 54）	2.04	1.63	1.87	1.58	1.65※	1.65	1.73※	1.62
3 サイクル目の終わり頃（Day 82）	2.18	1.63	1.88※	1.58	1.80※	1.75	1.83※	1.68
4 サイクル目の終わり頃（Day 110）	2.08	1.92	1.77	1.75	1.60※※	1.90	1.73※	1.75
投与終了日前（Day 138）	2.32	1.95	1.98※	1.76	1.93※	2.00	1.88※	1.78
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
心電図	－	－	－	－	－	－	－	－
神経学的評価	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし，※：p≦0.05，※※：p≦0.01
＊：回復期間も含む

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量 （mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
投与期間中の特記すべき所見								
神経伝導速度	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査								
投与前								
好中球数（10^3/μL）	4.723	5.190	5.770	5.585	5.485	4.235	4.763	5.928
血小板数（10^3/μL）	379.7	369.2	357.3	317.8	336.5	382.3	390.7	342.3
1 サイクル目終了後（Day 29）								
好中球数（10^3/μL）	5.792	2.906	5.450	5.115	6.795	5.713	5.775	5.702
血小板数（10^3/μL）	347.6	432.6	501.5	437.2	347.8	611.7	559.8	426.8
2 サイクル目終了後（Day 57）								
好中球数（10^3/μL）	5.648	5.303	5.700	6.043	3.858	2.813	4.630	6.258
血小板数（10^3/μL）	509.6	486.8	446.5	404.0	335.0	491.3	451.5	387.0
3 サイクル目終了後（Day 85）								
好中球数（10^3/μL）	4.828	6.163	4.486	5.893	2.180	3.073	5.158	4.858
血小板数（10^3/μL）	329.5	387.7	409.4	377.8	323.7	401.0	347.8	392.3

－：特記すべき所見なし

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
投与期間中の特記すべき所見								
血液学的検査								
4 サイクル目終了後（Day 113）								
好中球数（10^3/μL）	6.092	5.718	5.267	5.085	6.273	6.358	8.922	4.655
血小板数（10^3/μL）	385.4	300.8	364.2	404.0	334.3	479.3	413.3	388.3
5 サイクル目終了前（Day 137）								
好中球数（10^3/μL）	4.240	3.417	6.036	5.770	7.940	5.653	6.143	7.428
血小板数（10^3/μL）	429.6	343.8	403.2	338.4	387.0	432.3	402.3	417.0
動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
器官重量	―	―	―	―	―	―	―	―
肉眼的観察（例数）								
投与部位								
肥厚	1	3	3	1	1	2	2	2
病理組織学的検査（例数）								
脳								
灰白質のグリオーシス	0	0	0	0	1	0	1	0
延髄の神経線維変性	0	0	0	1	2	2	2	3
白質の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0

－：特記すべき所見なし

2.6.7.7.2　幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
投与期間中の特記すべき所見								
病理組織学的検査（例数）								
頸部脊髄								
背索の神経線維変性	0	0	3	2	4	4	4	4
胸部脊髄								
背索の神経線維変性	0	0	3	1	4	4	4	4
腰部脊髄								
背索の神経線維変性	0	0	3	2	4	4	4	4
頸部背根神経節								
神経細胞変性	0	0	1	0	1	4	2	3
随伴増殖	0	0	1	2	1	3	2	4
神経線維変性	0	0	0	0	0	0	0	2
胸部背根神経節								
神経細胞変性	0	0	0	0	0	0	1	0
随伴増殖	0	0	0	1	1	3	2	2
神経線維変性	0	0	0	0	0	0	0	1
腰部背根神経節								
神経細胞変性	0	0	0	0	0	1	1	2
随伴増殖	0	0	1	0	2	0	3	4

2.6.7.7.2　幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量　（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
投与期間中の特記すべき所見								
病理組織学的検査（例数）								
腰部背根神経節								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	0	0	1	1
神経線維変性	0	0	0	0	0	0	2	3
坐骨神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	2	0	4	2
神経内膜の単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0
神経線維変性	1	0	1	1	1	0	3	2
腓腹神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	1	0	1	0	3	2
神経線維変性	1	0	0	1	0	0	2	1
脛骨神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	1	0	4	2
神経内膜の単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	2	0
神経線維変性	1	0	0	0	0	1	3	3
腓骨神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	1	0	3	1
神経線維変性	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7.2　幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量　（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
投与期間中の特記すべき所見								
病理組織学的検査（例数）								
足底神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	1	1	3	2
神経線維変性	2	0	0	0	0	0	3	3
投与部位								
血管や血管周囲の炎症	4	2	3	1	2	3	3	3
動物数	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
回復期間中の特記すべき所見								
体重（kg）								
Day 306*	3.10	2.90	2.55	2.50	NA	NA	2.45	2.65
血液学的検査	－	－	－	－	NA	NA	－	－
肉眼的観察（例数）								
投与部位								
肥厚	1	1	0	0	NA	NA	0	0

－：特記すべき所見なし
NA：該当せず
＊：例数が少ないため統計学的解析は実施しなかった.

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
回復期間中の特記すべき所見								
病理組織学的検査（例数）								
頸部脊髄								
背索の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	NA	NA	1	1
背索の神経線維変性	0	0	0	0	NA	NA	0	1
胸部脊髄								
背索の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	NA	NA	1	2
背索の神経線維変性	0	0	0	0	NA	NA	1	1
腰部脊髄								
背索の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	NA	NA	1	2
背索の神経線維変性	0	0	0	0	NA	NA	1	1
頸部背根神経節								
神経細胞変性	0	0	1	0	NA	NA	1	1
随伴増殖	0	0	1	0	NA	NA	0	2
胸部背根神経節								
随伴増殖	0	0	0	0	NA	NA	0	2

NA：該当せず

2.6.7.7.2 幼若カニクイザルにおける 5 ヵ月間反復投与毒性試験（続き）

被験物質：ジヌツキシマブ

用量（mg/kg/日）	0（対照）		1		3		10	
動物数	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
回復期間中の特記すべき所見								
病理組織学的検査（例数）								
腰部背根神経節								
神経細胞変性	0	0	0	0	NA	NA	1	1
随伴増殖	0	0	0	0	NA	NA	1	2
坐骨神経								
神経内膜の単核細胞浸潤	0	0	0	0	NA	NA	0	2
脛骨神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	NA	NA	1	1
神経内膜の単核細胞浸潤	0	0	0	0	NA	NA	0	1
腓骨神経								
神経内膜の単核細胞浸潤	0	0	0	0	NA	NA	0	2
足底神経								
神経内膜の泡沫状組織球浸潤	0	0	0	0	NA	NA	0	1
投与部位								
血管や血管周囲の炎症	2	1	1	1	NA	NA	0	1

NA：該当せず

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

実施していない.

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

実施していない.

2.6.7.10　がん原性試験

実施していない.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験

実施していない.

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

実施していない.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験

実施していない.

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

実施していない.

2.6.7.15　局所刺激性試験

実施していない.

2.6.7.16　その他の毒性試験

2.6.7.16.1　組織交差反応性試験

2.6.7.16.1.1　ヒト小児及び成人における組織交差反応性試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法	用量（μg/mL）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ヒト小児及び成人	*in vitro*	2 及び 10	各組織あたり 1～3 例	ヒト小児組織 ・細胞膜及び細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：腎臓（尿細管）及び胸腺（細網細胞）の上皮；大部分の組織の内皮；肺，食道，胃，小腸，結腸，膵臓，肝臓（クッパー細胞を含む場合もあり），心臓，扁桃腺，脾臓，胸腺及び皮膚の単核細胞；腎臓の糸球体係蹄細胞；小腸の腸管関連リンパ組織（GALT）における細網細胞；卵巣の顆粒膜細胞；副腎髄質のクロム親和性細胞 ・細胞膜に陽性反応が認められた組織・器官：卵巣の門細胞；脾臓の細網内皮；皮膚（表皮）の上皮 ・細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：肺（肺細胞），食道（粘膜下腺），前立腺，扁桃腺（粘膜及び扁桃腺窩）及び皮膚（汗腺）の上皮；皮膚（汗腺）の筋上皮；大部分の組織の間質・間質細胞；食道，胃，膀胱，前立腺及び子宮内膜の平滑筋細胞；膀胱の単核細胞；結腸，副腎，膵臓，脊髄及び皮膚の脂肪細胞；食道，胃，小腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，精巣，前立腺，卵巣，子宮内膜，脊髄，脾臓，甲状腺，副腎，骨格筋及び皮膚のシュワン細胞；心臓，膀胱，卵巣及び骨格筋の神経内膜；食道，胃，小腸及び結腸の筋層間神経叢［ニューロン（神経節細胞）及び予備細胞を含む］；前立腺の神経節細胞（ニューロン及び予備細胞を含む）；大脳のニューロン；大脳及び脊髄のグリア細胞；大脳及び脊髄の神経網；卵巣の莢膜細胞 成人卵巣及び精巣 ・細胞膜及び細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：精巣の精上皮，精巣のライディッヒ細胞，卵巣及び精巣の内皮 ・細胞膜に陽性反応が認められた組織・器官：卵巣の門細胞 ・細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：卵巣の顆粒膜細胞，卵巣の黄体細胞，卵巣の莢膜細胞，卵巣及び精巣の間質・間質細胞	IM2038

2.6.7.16.1.2　SD ラットにおける組織交差反応性試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法	用量（μg/mL）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
SD ラット	*in vitro*	2 及び 10	各組織あたり少なくとも 2 例*	・細胞膜及び細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：精巣（精細管），胸腺（細網細胞及びハッサル小体）及び眼（水晶体）の上皮；肺，食道，胃，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，卵巣，卵管，子宮内膜，胎盤，甲状腺，副腎及び皮膚の内皮；精巣，脾臓及び骨格筋の内皮並びに周皮；肺，小腸，結腸，膀胱，リンパ節，脾臓及び胸腺の単核白血球；肝臓のクッパー細胞；大脳皮質及び脊髄の上衣細胞；卵巣の黄体細胞；精巣のライディッヒ細胞 ・細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：肺（気管支），肝臓（胆管），腎臓（集合管及び曲尿細管），卵管，甲状腺及び皮膚（毛包）の上皮；肝臓及び脳の内皮並びに周皮；心臓（心房）の心筋細胞；大脳皮質，小脳（顆粒細胞層）及び脊髄の神経網；大脳皮質，小脳（顆粒細胞層及びプルキンエ細胞層）及び脊髄のニューロン；小腸の筋層間神経叢；下垂体の下垂体細胞；肺の軟骨細胞；卵巣及び子宮内膜の間質細胞；卵巣の顆粒膜細胞及び莢膜細胞；胎盤の脱落膜細胞 ・細胞外に陽性反応が認められた組織・器官：脳（大脳皮質）のタンパク性物質（血管内）；眼（水晶体線維）	IM2189

＊：副甲状腺は標本喪失のため評価できなかった.

2.6.7.16.1.3　NZW ウサギにおける組織交差反応性試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法	用量（μg/mL）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
NZW ウサギ	*in vitro*	2 及び 10	各組織あたり少なくとも 2 例	・細胞膜及び細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：精巣（精細管及び精巣網），胎盤（羊膜及び栄養膜），胸腺（細網細胞及びハッサル小体），下垂体（下垂体前葉及び下垂体中間部），眼（水晶体）及び副腎（皮質）の上皮；肺（胸膜），小腸，卵管，子宮内膜及び脾臓の中皮；肺，唾液腺，食道，胃，小腸，結腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，尿管，精巣，前立腺，卵巣，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），胎盤，大脳皮質，小脳，脊髄，末梢神経，骨髄，乳房，リンパ節，脾臓，胸腺，下垂体，副甲状腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋（横紋筋）及び皮膚の内皮並びに周皮；肺，小腸，膀胱，前立腺，リンパ節，脾臓及び胸腺の単核白血球；骨髄の造血細胞；大脳皮質の上衣細胞；膀胱の間質細胞；精巣のライディッヒ細胞 ・細胞膜に陽性反応が認められた組織・器官：子宮頸部の骨格筋細胞；唾液腺，食道，小腸，膵臓，心臓，膀胱，尿管，卵管，骨髄，乳房，リンパ節，脾臓，胸腺，甲状腺，副腎及び皮膚の脂肪細胞；胎盤の脱落膜細胞 ・細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：結腸（粘膜腺），肝臓（肝細胞），尿管（移行上皮），卵巣（表面），脊髄（中心管），眼（結膜）及び皮膚（毛包）の上皮；大脳皮質，小脳及び脊髄の神経網；小脳（顆粒細胞層）のニューロン；大脳皮質及び小脳の髄膜細胞；食道，胃，小腸及び結腸の節層間神経叢；唾液腺，尿管，前立腺，子宮頸部及び副腎の神経節；膀胱の神経叢；眼の網膜；下垂体の下垂体細胞；肺，唾液腺，食道，胃，小腸，結腸，膵臓，心臓，尿管，前立腺，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），末梢神経，脾臓，甲状腺，眼（視神経及び眼の神経），副腎，骨格筋（横紋筋）及び皮膚のシュワン細胞；肺（気管支）の軟骨細胞；肺，唾液腺，食道，胃，小腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，尿管，精巣，前立腺，卵巣，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），胎盤，末梢神経，骨髄，乳房，リンパ節，脾臓，胸腺，副甲状腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋（横紋筋）及び皮膚の間質細胞；卵巣の顆粒膜細胞，莢膜細胞，黄体細胞及び卵母細胞 ・細胞外に陽性反応が認められた組織・器官：リンパ節の細胞外物質；眼の水晶体タンパク質	IM2190

2.6.7.16.1.4　幼若カニクイザルにおける組織交差反応性試験

被験物質：ジヌツキシマブ

動物種／系統	投与方法	用量（μg/mL）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
幼若カニクイザル	*in vitro*	2 及び 10	各組織あたり少なくとも 2 例*	・細胞膜及び細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：精巣（精細管），胸腺（細網細胞）及び下垂体の上皮；肺，耳下腺（唾液腺），胃，十二指腸，空腸，結腸，膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，尿管，精巣，精巣上体，前立腺，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），骨髄，乳房（乳腺），扁桃腺，リンパ節，脾臓，胸腺，副甲状腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋（横紋筋）及び皮膚の内皮並びに周皮；耳下腺（唾液腺），胃，十二指腸，空腸，結腸，肝臓，精巣上体，前立腺，子宮頸部，扁桃腺，リンパ節，脾臓及び胸腺の単核細胞；精巣のライディッヒ細胞 ・細胞質に陽性反応が認められた組織・器官：肺（気管支腺下），膵臓（島細胞），子宮内膜，脊髄（中心管），乳房（乳腺）及び甲状腺の上皮；胃（カハール介在細胞），十二指腸（カハール介在細胞），空腸（カハール介在細胞），結腸（カハール介在細胞），心臓，腎臓，膀胱，精巣，大脳皮質，小脳，乳房（乳腺），眼（毛様体，視神経）及び副腎の間質・間質細胞；心臓及び膀胱の単核細胞；肺，耳下腺（唾液腺），膵臓，肝臓，心臓，腎臓，膀胱，精巣上体，前立腺，卵管，子宮（子宮頸部及び子宮内膜），脊髄，末梢神経，乳房（乳腺），扁桃腺，リンパ節，脾臓，胸腺，甲状腺，眼，副腎，骨格筋（横紋筋）及び皮膚の末梢神経のシュワン細胞；胃，十二指腸，空腸及び結腸の節層間神経叢［ニューロン（神経節細胞）及び予備細胞を含む］；膀胱，前立腺，子宮頸部及び副腎の神経節細胞；眼の網膜；下垂体の下垂体細胞；大脳皮質，小脳及び脊髄（神経突起）の神経網 ・細胞外に陽性反応が認められた組織・器官：肺（腺腔内），膵臓（膵島内），前立腺，子宮内膜及び乳房（管腔内）の細胞外物質	IM2615

＊：副甲状腺のみ 1 例から採取した

2.6.7.16.2 疼痛に関する機序検討試験

2.6.7.16.2.1 SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギにおける単回静脈内又は単回腹腔内投与評価

被験物質：14.G2a

動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号
SJL マウス	腹腔内	8～32 mg（約 400～1,600 mg/kg）	NA 4 例	一般状態，電気生理学的な所見（坐骨神経伝導速度検査），病理組織学的な所見にニューロパチーを示す兆候は見られなかった．SJL マウス，Lewis ラット及び NZW ウサギの小脳顆粒層に染色が見られた．これらの動物の腸間膜神経節及び背根神経節では神経節細胞に部分的な染色が観察された．NZW ウサギの坐骨神経では，多くの神経線維の染色が見られた一方，SJL マウス及び Lewis ラットの坐骨神経では，一部の神経線維のみ染色が見られた．	Vriesendorp 1997
Lewis ラット	静脈内又は腹腔内	2～20 mg（約 13～133 mg/kg）	雌 11 例		
NZW ウサギ	静脈内	1.5～40 mg（約 0.8～22 mg/kg）	雄 5 例		

NA：該当せず

2.6.7.16.2.2 ビーグル犬における 5 日間反復投与評価

被験物質：14.G2a

動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号
ビーグル犬	静脈内	2 mg（約 0.2 mg/kg），202 mg（約 20.2 mg/kg）	NA 4 例	202 mg 投与群の腸間膜リンパ節の皮質に被膜下類洞の軽度膨満が見られた．皮質には蒼白な胚中心を伴う多数の大型濾胞が見られた．また腸間膜リンパ節の過形成が見られた．2 mg 投与群及び 202 mg 投与群で，坐骨神経，迷走神経，腕神経叢，腰仙部神経根，腓腹神経，頸部神経節及び腸間膜神経節における脱髄，軸索変性又は炎症等の病理組織学的異常は認められなかった．遠位潜時，H 反射潜時又は伝導速度に陰性対照群と全投与群の間に差は見られなかった．唯一見られた変化として 202 mg 投与群で，2 mg 投与群及び陰性対照群と比較して遠位運動振幅が統計学的に有意に減少したが，Vriesendorp らはこの理由は不明であると報告している．小脳顆粒層に染色が見られ，腸間膜神経節及び背根神経節に部分的な神経節細胞の染色が見られた．坐骨神経では，多くの神経線維の染色が見られ，迷走神経にも神経線維の染色が見られた．	Vriesendorp 1997

NA：該当せず

2.6.7.16.2.3 SD ラットにおける単回静脈内投与評価

被験物質：ch14.18

動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号
SD ラット	急速静脈内	0.1，1.0，3.0，10.0 mg/kg 又は 1.0 mg/kg	雄 4～6 例／群	SD ラットに ch14.18 を 0.1，1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg で急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが認められた．1.0，3.0 及び 10.0 mg/kg で急速静脈内投与したとき，投与後 1 時間以内に完全に発現し，一定になった後，24～48 時間後でも依然として機械的アロディニアが認められた．この機械的アロディニアの発現に伴って，心拍数増加及び血圧上昇が認められた．	Slart 1997

2.6.7.16.2.4　SD ラットにおける単回静脈内投与評価

被験物質：ch14.18，14.G2a

動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号
SD ラット	急速静脈内	1 mg/kg	雄 ch14.18：18 例 14.G2a：6 例	1 mg/kg の ch14.18 及び 14.G2a を急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアが投与後 15 分以内に発現し，45～60 分の時点で一定になった．これに伴って，背景活動が認められた末梢神経の Aδ及び C 線維の数が，対照群及び陰性対照群と比較して増加した. 対照群と比較して, ch14.18 及び 14.G2a 投与群で Aδ線維の機械的閾値の有意な低下が見られ，C 線維の平均機械的閾値も低下傾向を示した. 減少の程度は陰性対照群と同様であった. 最後に，リドカインを急速静脈内投与したとき，抗 GD2 抗体に関連する背景活動が減少したことから，リドカインが機械的アロディニアの発現を抑制する可能性が考えられた.	Xiao 1997

2.6.7.16.2.5　SD ラットにおける単回静脈内あるいは髄腔内投与評価

被験物質：14.G2a

動物種／系統	投与方法	用量	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号
SD ラット	急速静脈内又は髄腔内	急速静脈内：1，3 mg/kg 髄腔内：0.01，0.05，0.1，0.5 ng	雄 6～9 例／群	14.G2a を 1 mg/kg で急速静脈内投与したとき，機械的アロディニアは速やかに発現し，30 分の時点で一定になった．0.01，0.05 及び 0.1 ng の 14.G2a を髄腔内投与したとき，3 時間の観察期間を通して機械的アロディニアが発現したが，0.5 ng の投与量では機械的アロディニアの発現は認められず，1 及び 3 mg/kg の 14.G2a を静脈内投与したときも，熱アロディニアは発現しなかった．Sorkin らは，カプサイシンの前投与により機械的アロディニアが完全に抑制されたことから，カプサイシン感受性一次求心線維（ペプチド作動性求心線維）の関与を報告している．	Sorkin 2002