販売名

ウィフガート点滴静注 400mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.6　毒性試験の概要文

アルジェニクスジャパン株式会社

目次

略語及び用語の定義 5
2.6.6. 毒性試験の概要文 8
2.6.6.1. まとめ 8
2.6.6.2. 単回投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 12
2.6.6.2.1. サルを用いた拡張型単回投与毒性試験 12
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） 16
2.6.6.3.1. ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験 16
2.6.6.3.2. サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験 20
2.6.6.3.3. サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験 28
2.6.6.4. 遺伝毒性試験 33
2.6.6.5. がん原性試験 33
2.6.6.6. 生殖発生毒性試験 34
2.6.6.6.1. 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（ラット） 34
2.6.6.6.2. 胚・胎児発生に関する試験 36
2.6.6.6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 36
2.6.6.6.2.2. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 39
2.6.6.6.3. 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ラット） 44
2.6.6.7. 局所刺激性試験 48
2.6.6.8. その他の毒性試験 49
2.6.6.9. 考察及び結論 50
2.6.6.10. 参考文献 56

表目次

表 2.6.6-1　エフガルチギモドの非臨床毒性試験一覧 9
表 2.6.6-2　サルを用いた拡張型単回投与毒性試験の試験デザイン 12
表 2.6.6-3　サルを用いた拡張型単回投与毒性試験の主な所見 13
表 2.6.6-4　サルにエフガルチギモドを単回持続（2 時間）静脈内投与した際のエフガルチギモドの TK パラメータ 15
表 2.6.6-5　ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン 16
表 2.6.6-6　ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見 17
表 2.6.6-7　ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中［Day 1～Day 28（t_{last}）］のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値） 19
表 2.6.6-8　ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数 20
表 2.6.6-9　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン 21
表 2.6.6-10　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見 21
表 2.6.6-11　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における LUC 数（×10E3/μL）、LUC 比率（総白血球数に対する割合、%）及び対照群との差 24
表 2.6.6-12　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ALAT 活性（U/L）及び対照群との差（%） 25
表 2.6.6-13　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中（Day 1～Day 28 t_{last}）のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値 ± SD） 27
表 2.6.6-14　サルの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数 27
表 2.6.6-15　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン 28
表 2.6.6-16　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見 29
表 2.6.6-17　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中（Days 85～92）のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値 ± SD） 32
表 2.6.6-18　サルの 26 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数 33
表 2.6.6-19　ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験のデザイン 34
表 2.6.6-20　ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の主な所見 35
表 2.6.6-21　雄ラット（Day 42）及び雌ラット（GD7）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値） 36
表 2.6.6-22　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験のデザイン 37
表 2.6.6-23　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の GD6～GD17 の主な所見 38
表 2.6.6-24　妊娠ラット（GD17）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ 39
表 2.6.6-25　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験のデザイン 40
表 2.6.6-26　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の GD6～GD28 の主な所見 42
表 2.6.6-27　妊娠ウサギ（GD28）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ 43

表 2.6.6-28　ラットを用いた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のデザイン 44
表 2.6.6-29　ラットを用いた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の GD6～LD21 の主な所見 46
表 2.6.6-30　妊娠ラット（GD17）における静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値） 47
表 2.6.6-31　ウサギを用いた局所刺激性試験のデザイン 49

略語及び用語の定義

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
A_{280}	Absorbance at 280 nm	波長 280 nm での吸光度
ADA	Anti-drug antibody, antidrug antibody, antidrug antibodies	抗薬物抗体
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
ALAT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
aP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ARGX-113	Efgartigimod Alfa (Genetical Recombination)	エフガルチギモド アルファ（遺伝子組換え）
ASAT	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}xh}$	AUC from time zero to x hours postdose	投与後 0 時間から x 時間までの濃度-時間曲線下面積
CD	Cluster of differentiation	表面抗原分類
CDC	Complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
C_{max}	Maximum observed concentration	最高血清中濃度
DPF	Dose proportion factor	–
DRF	Dose range finding	用量設定
EFD	Embryo-fetal development	胚・胎児発生
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着検定法
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
EU	Endotoxin unit	エンドトキシン単位
F	Female	雌
Fab	Antigen-binding fragment	抗原結合
Fc	Fragment, crystallized	–
FcRn	Neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ 受容体
FEED	Fertility and early embryonic development	受胎能及び着床までの初期胚発生
γ-GT	Gamma-glutamyl transpeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
GD	Gestation day	妊娠日齢

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
GIT	Gastrointestinal tract	消化管
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
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
gMG	Generalized myasthenia gravis	全身型重症筋無力症
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品の製造管理および品質管理に関する基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IM	Intramuscular	筋肉内
IU	International unit	国際単位
IV	Intravenous	静脈内
LD	Lactation day	授乳日齢
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸デヒドロゲナーゼ
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
LPS	Lipopolysaccharides	リポ多糖類
LUC	Large unstained cell(s)	–
M	Male	雄
M／E 比	Myeloid/erythroid ratio	顆粒球系／赤芽球系細胞比
NA	Not applicable	該当せず
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態、薬物動態学
PPND	Pre- and postnatal development	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能
PV	Paravenous	静脈周囲
qd	Once daily	1 日 1 回
q2d	Every other day	2 日に 1 回

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
q7d	Once weekly	週 1 回
R	Accumulation factor	蓄積係数
SC	Subcutaneous	皮下投与
SD	Standard deviation	標準偏差
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
t_{last}	Time of last quantifiable concentration	最終測定可能時間
TLR	Toll-like receptor	Toll 様受容体
t_{max}	Time of C_{max}	最高濃度到達時間
USP	United States Pharmacopeia	米国薬局方

2.6.6.　毒性試験の概要文

2.6.6.1.　まとめ

エフガルチギモド　アルファ（遺伝子組換え）（以下、エフガルチギモド）は、胎児性 Fc 受容体（FcRn）の天然リガンドであるヒト免疫グロブリン（Ig）G1 抗体 Fc フラグメントであり、FcRn に対する結合親和性が高くなるように設計されている。エフガルチギモドは FcRn に結合して、内因性 IgG-FcRn 結合を競合的に阻害することによって、IgG のリサイクルを妨げ IgG の分解を促進させる。エフガルチギモドは、FcRn のアルブミン結合部位とは異なる部位で FcRn に結合するため、FcRn を介したアルブミンのリサイクルには影響しないと考えられる。さらに、FcRn は IgG リサイクルを特異的に阻害するため、エフガルチギモドによる FcRn の遮断は、他の免疫グロブリンには影響しないと考えられる。

FcRn を介した IgG のリサイクルを阻害し、総 IgG 及び全ての IgG サブタイプを選択的に減少させることは、自己抗体（IgG）を介した自己免疫疾患の合理的な治療法になり得ると考えている。エフガルチギモドはこれまで全身型重症筋無力症（gMG）での使用を目的に開発されてきた。gMG は IgG 抗体を介した神経筋に対する希少な慢性の自己免疫疾患であり、消耗性で致死的な筋力低下を引き起こす疾患である（2.5 項）。

エフガルチギモドの毒性プロファイルを明らかにするため包括的な非臨床プログラムを実施し、エフガルチギモドの静脈内投与後の全身及び局所への影響の有無、標的臓器、並びに可逆性の有無について評価した。さらに、一連の生殖発生毒性試験を実施し、母動物毒性、受胎能、胚・胎児発生及び出生後の発達に及ぼす影響を評価した。エフガルチギモドを静脈内投与したときのトキシコキネティクス（TK）プロファイルを評価した。

毒性試験のデータパッケージの概要を表 2.6.6-1 に示した。

エフガルチギモドの非臨床安全性評価に使用する動物種として、ラット、ウサギ及びカニクイザルを選択した。組織交差反応性試験（カニクイザル）に加えて、FcRn に対する in vitro 結合親和性試験及び in vivo 薬物動態／薬力学（PK/PD）試験（全ての動物種）により、これらの動物種の適合性及び適切性が示された（2.6.2.2.2 項、2.6.2.2.3 項、2.6.6.6.2.2 項）。

薬理学的に適切な 2 種の動物種（ラット及びサル）を用いて最長 4 週間の反復投与毒性試験を実施した。ICH S6（R1）の原則に沿って、エフガルチギモドのカニクイザル及びヒトの FcRn に対する結合特性が類似していることに基づき、カニクイザルを長期毒性試験の供試動物種として用いた。生殖発生毒性試験は、ラット及びウサギを用いて実施した［ICH S5（R3）］。

毒性試験は予定臨床投与経路である静脈内投与で実施した（表 2.6.6-1）。主要な試験は全て、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して、経済協力開発機構（OECD）加盟国であるドイツの GLP 認定試験施設で実施した（2.6.7.1 項）。

毒性試験で使用された原薬バッチは、臨床試験で使用されたエフガルチギモドバッチと同等とみなされた。ただし、カニクイザルの拡張型単回投与毒性試験（4.2.3.1-1）及び 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）に用いたパイロットバッチ [redacted] において、許容基準内の定量可能なエンドトキシンが含まれていた。両試験ともにエフガルチギモドの高用量が投与されたこと、及び 4 週間反復投与毒性試験では 2 日に 1 回投与が採用されたことから、高用量群では投与されたエンドトキシンの総投与量も増加しており、これらの試験の所見発現に寄与している可能性がある（2.6.7.4 項、2.6.6.2.1 項及び 2.6.6.3.2 項）。

単回及び反復投与毒性試験において PD 効果を評価することでエフガルチギモドの有効曝露量をモニタリングした。エフガルチギモド投与各群で平均総 IgG 値の減少が認められた。

ラット及びカニクイザルを用いた単回及び反復投与一般毒性試験では、抗薬物抗体（以下、「ADA」）をモニタリングした。概して、ADA は投与期間終了時にのみ測定可能であり、試験 15 日目以前には測定できなかった。ADA 産生とエフガルチギモド投与との間に明らかな用量相関性は認められず、ADA が検出された場合でもデータの解釈を妨げるものではなかった。

各毒性試験で得られた無毒性量（NOAEL）及びエフガルチギモドの曝露量並びにヒト曝露量から安全域を算出し 2.6.4.3.2 項に示した。

表 2.6.6-1　エフガルチギモドの非臨床毒性試験一覧

Type of study/duration	**Species/ strain**	**Method of administration**	**Dose (mg/kg)**	**GLP**	**Location Study number**
Single-dose toxicity					
Single dose+3 days or 28 days posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30 50, 100	Yes	Module 4.2.3.1-1 [redacted]32188
Repeat-dose toxicity					
4 weeks+4 weeks posttreatment observation	Rat/SD	IV (bolus)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q2d	Yes	Module 4.2.3.2-1 [redacted]33981
4 weeks+4 weeks posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d	Yes	Module 4.2.3.2-2 [redacted]31554
26 weeks+8 weeks posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d	Yes	Module 4.2.3.2-3 [redacted]33260
Genotoxicity					
Not performed	NA	NA	NA	NA	NA
Carcinogenicity					
Not performed	NA	NA	NA	NA	NA
Reproductive and Developmental Toxicity					
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/SD	IV (bolus)	0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	Module 4.2.3.5.1-1 [redacted]35984
DRF Embryo-fetal development study	Rat/SD	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 10, 30, 100 qd [M: 100 qd]	Yes (GLP in-life phase only)	Module 4.2.3.5.2-1 [redacted]35985
Embryo-fetal development study	Rat/SD	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	Module 4.2.3.5.2-2 [redacted]35986
DRF Embryo-fetal development study	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 10, 30, 100 qd	Yes (GLP in-life phase only)	Module 4.2.3.5.2-3 [redacted]35987
Embryo-fetal development study	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	Module 4.2.3.5.2-4 [redacted]35988

Type of study/duration	Species/ strain	Method of administration	Dose (mg/kg)	GLP	Location Study number
Pre- and postnatal development	Rat/SD	IV (bolus)	0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	Module 4.2.3.5.3-1 [redacted]35989
Local tolerance					
Local tolerance of efgartigimod with 48 and 96 hours as well as 14 days posttreatment observation	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus), SC, IA, PV, and IM	1 mL/animal (150 mg) IV, IA or SC 0.25 mL/animal (37.5 mg) PV and IM	Yes	Module 4.2.3.6-1 [redacted]34857
Other Toxicity Studies					
Validation of an ELISA method for the determination of ARGX-113 in formulation samples	NA	NA	NA	Yes	Module 4.2.3.7.7-1 [redacted]33809
Re-validation of an ELISA method for the determination of efgartigimod in formulation samples	NA	NA	NA	Yes	Module 4.2.3.7.7-2 [redacted]35990
Validation of a method for the determination of total protein content of ARGX-113 in pre-clinical drug product samples	NA	NA	NA	GMP	Module 4.2.3.7.7-3 AXU20239-20239X-B

ARGX-113=efgartigimod; DRF=dose range finding; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; GMP=Good Manufacturing Practice; IA=intra-arterial; IM=intramuscular; IV=intravenous; M=male; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; PV=paravenous; qd=once daily; q2d=every other day; q7d=once weekly; SC=subcutaneous
Note: For single- and repeat-dose toxicity, the highest NOAEL is underlined. All studies were conducted at [redacted], Germany, with the exception of Module 4.2.3.7.7-3 AXU20239-20239X-B that was conducted at [redacted], the Netherlands.

要約すると、カニクイザルを用いた拡張型単回投与毒性試験では、エフガルチギモド投与に関連した毒性徴候は認められず、NOAEL は本試験の最高用量である 100 mg/kg であった（2.6.6.2 項）。

4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 項及び 2.6.6.3.2 項）では、ラット及びカニクイザルにエフガルチギモドを 2 日に 1 回、4 週間にわたり反復投与（計 15 回の静脈内投与）した。これらの反復投与毒性試験では、エフガルチギモドに対する良好な忍容性が示され、30 mg/kg 以下の用量ではエフガルチギモド投与に関連すると考えられる毒性徴候は認められなかった。雌雄ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、100 mg/kg 投与群でエフガルチギモド投与との関連性は不明であるものの肝臓に軽微から軽度のクッパー細胞肥大/増加が認められたことから NOAEL は 30 mg/kg q2d であった（2.6.6.3.1 項）。雌雄カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、100 mg/kg で肝細胞の細胞質変化及び変性、並びに肝臓のびまん性の混合型炎症性細胞浸潤に加えて、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALAT）の軽度上昇が認められた（2.6.6.3.2 項）。これらの変化は 4 週間の回復期間終了時には完全に回復した。本試験の NOAEL は 30 mg/kg q2d であったが、原薬バッチの分析データを検討した結果、本試験では被験物質中のエンドトキシン濃度が一般に受け入れられている推奨値［米国薬局

方（USP）2011, Chapter 85］を超えていたことから、エンドトキシンの存在がこれらの所見発現に関連している可能性が高いと考えている。

ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験の TK 解析の結果から、エフガルチギモド投与各群の全ての動物で、投与期間を通して一貫してエフガルチギモドに曝露されていることが確認された。

カニクイザルを用いた主要な 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 項）では 0（溶媒）、10、30 及び 100 mg/kg の用量で持続静脈内投与（週 1 回、計 27 回）した。一般状態観察、体重、摂餌量及び飲水量、心電図、循環器系機能、臨床検査、眼科学的及び聴覚検査、器官重量、並びに骨髄検査について評価した結果、全ての用量で忍容性は良好であった。26 週間の投与期間又は 8 週間の回復期間終了時の剖検及び病理組織学的検査ではエフガルチギモド投与に関連した変化は認められなかった。したがって、カニクイザルにおける NOAEL は 100 mg/kg q7d であると判断した。

カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の TK 解析で、投与期間にわたって一貫した曝露が認められた。Day15 以降の ADA 濃度の増加に伴い、低用量群の 4 例、中用量群の 2 例で血清中エフガルチギモド濃度の減少が認められたため、TK 解析から除外した。しかし、いずれの動物も毒性学的評価から除外されず、試験成績は全ての用量で妥当であると考えられた。高用量群の動物はいずれも TK 解析から除外しなかった。

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、ICH S6（R1）の推奨に準拠し、遺伝毒性試験は実施しなかった（2.6.6.4 項）。がん原性試験は、以下の理由から実施しなかった（2.6.6.5 項）。

- エフガルチギモドの標的である FcRn が発がんに関与していないと考えられる。
- 実施された毒性試験において、発がんリスクを示唆する所見（前腫瘍性又は腫瘍性病変など）が認められていない。
- 副次的薬理作用が特定されていない（2.6.2.3 項）。

エフガルチギモドの静脈内ボーラス投与による生殖発生毒性試験を実施した。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（FEED 試験）、妊娠ラット及び妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（EFD 試験）、並びにラットを用いた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（PPND 試験）は、ICH S5（R3）ガイドラインに従って実施した。生殖発生毒性試験の TK 解析では、全投与期間にわたって一貫してエフガルチギモドの曝露がみられた。NOAEL は、検討した全ての生殖発生毒性試験の最高試験用量である 100 mg/kg/日であった（2.6.6.6 項）。

エフガルチギモドのウサギを用いた局所刺激性（2.6.6.7 項）を評価した結果、エフガルチギモドを患者に静脈内投与した場合、25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン、0.02%ポリソルベート 80 を含む pH 6.7 のエフガルチギモド製剤に局所反応が生じる可能性は低いと考えられた。さらに、エフガルチギモドのパイロットバッチ（[redacted]）を使用したカニクイザルの拡張型単回投与毒性試験（2.6.6.2.1 項、4.2.3.1-1）及び 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 項、4.2.3.2-2）でみられた可逆的な影響は、エフガルチギモド製剤に含まれていたエンドトキシンが影響している可能性が高いため、臨床使用に際して局所刺激性が生じる可能性は低いと考えられた。

以上のように、エフガルチギモドの毒性試験結果からヒトで懸念される安全性上のリスクになり得る毒性徴候は認められなかった。ラット及びカニクイザルを用いた高用量での 4 週間反復投与毒性試験における可逆的な所見は、エフガルチギモドの薬理作用との明らかな関連性は認められず、カニクイザルでは、原薬のパイロットバッチに存在する定量可能なエン

ドトキシンが起因している可能性が高いと考えられた。カニクイザルを用いた 26 週間の主要な毒性試験では、エフガルチギモド投与によると考えられる影響は認められなかった。ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験において、母動物毒性、雌雄の受胎能、胚・胎児及び出生後の発生に対する影響は認められなかった。

2.6.6.2.　単回投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.2.1.　サルを用いた拡張型単回投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.1-1

拡張型単回投与毒性試験（GLP 適用）では、エフガルチギモド（パイロットバッチ[redacted]）又は溶媒（0.9%生理食塩液）をカニクイザルに 2 時間かけて単回持続静脈内投与し、3 日間（主試験群）又は 28 日間（回復群）の休薬期間を設け、エフガルチギモドの毒性プロファイルを評価した（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2　サルを用いた拡張型単回投与毒性試験の試験デザイン

Group	IV dose (mg/kg)	No. of doses	Number and sex of animals			
			Main study group		Recovery period group	
			M	F	M	F
1	0[a]	1	3	3	2	2
2	10	1	3	3	2	2
3	30	1	3	3	2	2
4	50	1	3	3	2	2
5	100	1	3	3	2	2
			Necropsy: Day 5		Necropsy: Day 30	

Source: Module 4.2.3.1-1 ([redacted]32188)
F=female; IV=intravenous; M=male; no.=number
Note: Urine samples were collected for potential drug concentrations but were not processed further. Blood samples for laboratory diagnostic parameters for main study group animals were taken approximately 24 and 96 hours after the end of test article infusion and on the end of the recovery period at day 29.
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

本試験成績は 2.6.7.5 項に記載した。PK 評価については 2.6.4.3.1.3.2 項でより詳細に考察し、TK 結果を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に要約した。

雌雄カニクイザルにエフガルチギモドを 10～100 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときに認められた特記すべき所見を表 2.6.6-3 に示した。

表 2.6.6-3　サルを用いた拡張型単回投与毒性試験の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
Cynomolgus monkey/ male and female	0	0	- PD: NA (data presented as change versus control) - Findings at the infusion site(s) as a result of infusion procedure: Hematoma formation (2/5 females), hemorrhagic infusion site (1/3 females examined on day 5). - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period.
	10	0	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[a] 52%), shown to be reversible by the end of the study period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s) as a result of infusion procedure: Hematoma formation (1/5 males, 2/5 females) and hemorrhagic infusion site (1/3 males examined on day 5). - Local changes had completely recovered by the end of the study period.
	30	0	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[a] 62%), shown to be reversible by the end of the study period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s) as a result of infusion procedure: Hematoma formation (1/5 females) and hemorrhagic infusion site (1/3 females examined on day 5). - Local changes had completely recovered by the end of the study period.
	50	0	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[a] 51%), shown to be reversible by the end of the study period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s) as a result of infusion procedure: Hematoma formation (2/5 males, 3/5 females) and hemorrhagic infusion site (3/3 males, 1/3 females examined on day 5). - Local changes had completely disappeared by the end of the recovery period. - Microscopic examination (restricted to the main study group animals): Exacerbated response at the infusion sites in form of slight or moderate acute inflammation (1/3 males, 2/3 females) and slight or moderate necrosis (1/3 males, 2/3 females) in subcutis. - Local changes had completely recovered by the end of the study period.
	100	0	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[a] 60%), shown to be reversible by the end of the study period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s) as a result of infusion procedure: Hematoma formation (3/5 males, 3/5 females) and hemorrhagic infusion site (2/3 males, 2/3 females examined on day 5). -Microscopic examination (restricted to the main study group animals): Exacerbated response at the infusion sites in form of slight or moderate acute inflammation (1/3 males, 2/3 females) and slight necrosis (1/3 males, 1/3 females) in subcutis. - Local changes had completely recovered by the end of the study period.
NOAEL:　100 mg/kg IV (2-hour infusion) **Target organ of toxicity: None**			

Source: Module 4.2.3.1-1 ([redacted]32188)

EU=endotoxin unit; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; max=maximum; NA=not applicable, NOAEL=no observed adverse effect level; PD= pharmacodynamics; USP=united states pharmacopeia

Note: Endotoxins that were found to be present in the test article batch [redacted] may have contributed to findings. The amount of endotoxin that was present in the high dose ([redacted] EU/kg body weight or [redacted] EU/kg body weight/hour) is above the threshold value given in USP 30 for human drugs (5 EU/kg body weight/hour).

[a] Maximum reported mean decreases in IgG at any time, male or female, without consideration of significance of the change versus control for this datapoint; see 4.2.3.1-1, Table on page 15.

本試験では死亡例は認められなかった。さらに、エフガルチギモド投与に関連すると考えられる全身毒性の徴候は認められなかった。

50 mg/kg 及び 100 mg/kg 投与群の投与部位に観察された可逆的な病理組織学的所見は、使用したパイロットバッチに含まれていたエンドトキシンよる影響と考えられる（2.6.6.3.2 項及び 2.6.7.4 項）。

γ-グロブリン、グロブリン及び IgG 濃度が減少した。これらは、エフガルチギモドにより促進された IgG 抗体の消失と関係していると考えられる。グロブリンの減少に伴いアルブミン／グロブリン比は増加した。アルブミン、IgM 又は IgA に影響は認められなかった（2.6.2.2.3 項）。毒性試験で認められた γ-グロブリンの減少は、エフガルチギモドの PD 作用によって γ-グロブリン分画の一部を構成する IgG が減少したことが寄与していると考えられる。

さらに、エフガルチギモドの血清 TK を評価した。結果を表 2.6.6-4 に示し、2.6.4 項で考察した。

各群雌雄各 5 例のうち主試験群の 3 例について、Day 1（投与前及び 2 時間持続静脈内投与終了時）、Day 3 及び主試験群の観察期間終了日（Day 5）に TK 試料を採取した。残りの各群雌雄各 2 例を、さらに Day 29 の回復期間終了時まで試料採取日の朝に計 8 回採血した。

本試験における TK 解析の目的は、曝露量の確認であった。この試験ではスパースサンプリング（少数回の試料採取）法を用いたため、限られた条件での TK パラメータであり、他試験の TK パラメータとの比較が難しいが、以下のような結論が得られた。

- エフガルチギモドの曝露は Day 1 から Day 5 まで全ての投与群で確認された。回復期間（各群雌雄各 2 例）では、エフガルチギモド濃度は減少したが、Day 29 の最終採血時点まで定量可能であった。
- 雌雄カニクイザルにおいて、エフガルチギモドの最高血清中濃度（C_{max}）及び濃度-時間曲線下面積（AUC）は用量に比例して増加した。
- 評価した TK パラメータには雌雄間で明らかな差はなかった。
- 最高血清中濃度到達時間（t_{max}）は 2 時間の持続静脈内投与終了時（最初の採血時点）であった。

表 2.6.6-4　サルにエフガルチギモドを単回持続（2 時間）静脈内投与した際のエフガルチギモドの TK パラメータ

Dose (mg/kg)	**10**	**30**	**50**	**100**	**10**	**30**	**50**	**100**
During days 1 through 5 (Main study group; mean ± SD)								
Sex and no. per group	**3M**	**3M**	**3M**	**3M**	**3F**	**3F**	**3F**	**3F**
C_{max} (µg/mL)	192 ±16.3	629 ±141	931 ±70.2	1629 ±256	195 ±53.6	541 ±61.7	746 ±126	1408 ±288
t_{max} (h)	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.0±0
$AUC_{0\text{-}96h}$ (µg·h/mL)	5151 ±481	17193 ±3354	25383 ±2076	46874 ±5235	5350 ±1559	15183 ±1579	21302 ±2708	38129 ±6883
DPF	1.00	1.11	0.99	0.91	1.00	0.95	0.80	0.71
During Days 1 through 29 (Recovery period group; mean)								
Sex and no. per group	**2M**	**2M**	**2M**	**2M**	**2F**	**2F**	**2F**	**2F**
C_{max} (µg/mL)	179	512	851	1415	188	448	979	1587
t_{max} (h)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (µg·h/mL)	5138	15317	26025	43865	5573	14094	28101	49553
DPF	1.00	0.99	1.01	0.85	1.00	0.84	1.01	0.89

Source: Module 4.2.3.1-1 ([redacted]32188)

$AUC_{0\text{-}96h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 96 hours postdose; $AUC_{0\text{-}tlast}$=AUC from time zero to time of the last quantifiable concentration >LLOQ; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; h=hour; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; NA=not applicable; no.=number; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}

Notes: DPF is based on AUC. t_{max} corresponded to the first sampling time point immediately after the 2-hour infusion.

ADA の産生は、バリデートされた分析法（2.6.4.2.3 項）を用いて評価した。ADA 産生に関する評価結果を 2.6.7.5 項に記載した。Day 15 以降に血清中 ADA が測定可能であった。10、30、50 及び 100 mg/kg 投与各群の全ての動物で回復期間終了時に ADA が検出された。対照群では ADA は検出されなかった。ADA 陽性例を含むエフガルチギモド投与群の平均血清中エフガルチギモド濃度推移に ADA による明らかな影響は認められなかった（4.2.3.1-1、Figure 3-1 及び 3-2）。

結論として、TK 及び ADA 解析結果から、エフガルチギモド投与群では投与後少なくとも 15 日間はエフガルチギモドに曝露されていることが示された。エフガルチギモドに対する ADA が産生されたが、エフガルチギモドの毒性プロファイルを評価することは可能であった。

本試験におけるエフガルチギモドの NOAEL は最高用量である 100 mg/kg であった。100 mg/kg 群の雌雄における C_{max} はそれぞれ 1415 及び 1587 µg/mL、$AUC_{0\text{-}tlast}$ はそれぞれ 43865 及び 49553 µg·h/mL であった。

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）

2.6.6.3.1.　ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-1

エフガルチギモド［GMP（医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準）バッチ [redacted]］を SD 系ラットの 4 週間反復投与毒性試験（GLP 適用、4.2.3.2-1）で評価した。雌雄ラット各 60 例（15 例/群/性）に対して 2 日に 1 回の投与頻度、並びに 0（溶媒対照群）又は 10～100 mg/kg（エフガルチギモド投与群）の用量でボーラス静脈内投与（約 15 秒間）した。1 例あたり合計 15 回の投与を行った。一部の動物には 28 日間の休薬回復期間を設けて、エフガルチギモド投与による影響の可逆性を評価した。さらに、雌雄各 84 例（21 例／群／性）のサテライト動物を用いてリンパ球イムノフェノタイピング、TK、PD、エフガルチギモドの免疫原性評価に用いた（表 2.6.6-5）。

本試験の主要な試験成績、試験デザイン及び血清中エフガルチギモド濃度に関する TK 解析の詳細を 2.6.7.7.A 項に記載した。ラットにおけるエフガルチギモドの PK 評価は 2.6.4.3.1.1 項に、TK 結果を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に要約した。

表 2.6.6-5　ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン

Group	IV dose (mg/kg) q2d	No. of doses	Number and sex of animals					
			Main study group		Recovery period group		Satellite animals	
			M	F	M	F	M	F
1	0[a]	15	10	10	5	5	21	21
2	10	15	10	10	5	5	21	21
3	30	15	10	10	5	5	21	21
4	100	15	10	10	5	5	21	21
			Necropsy: Day 30		Necropsy: Day 58		No necropsy	

Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
ADA=anti-drug antibody; F=female; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; M=male; no.=number; q2d=every other day
Notes: Blood samples for laboratory diagnostic parameters for main study group animals were taken approximately 24 hours after test article administration or on the day of main/recovery dissection.
Three subsets of satellite animals were used for (i) the lymphocyte typing and determination of IgA and IgM in plasma (approximately 24 hours postdose), (ii) determination of IgG in plasma and ADA in serum (predose); and (iii) determination of concentrations of efgartigimod in serum (at several time points).
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

雌雄ラットにエフガルチギモド（10～100 mg/kg）を 4 週間にわたり 2 日に 1 回の投与頻度で反復静脈内投与したときに認められた特記すべき所見を表 2.6.6-6 に示した。

表 2.6.6-6　ラットを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
SD rat/ male and female	0	0/30	- PD: NA (data presented as change versus control) - Findings at the injection site secondary to administration procedure: Subcutaneous hemorrhage, acute inflammatory cell infiltrate, necrosis, pigment deposition (findings were rated marginal to moderate with any finding: 10/10 males, 8/10 females) [a]. Tissue from injection sites was not analyzed at the end of the recovery period.
	10	0/30	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[b] 83%), shown to be fully reversible by the end of the recovery period. - IgM or IgA were unaffected. Albumin was not reduced. - Significant increase in albumin (fully recovered at the end of the treatment-free period). - Findings at the injection site secondary to administration procedure: Subcutaneous hemorrhage, acute inflammatory cell infiltrate, necrosis, pigment deposition (findings were rated marginal to marked with any finding: 9/10 males, 10/10 females)[a]. Tissue from injection sites was not analyzed at the end of the recovery period.
	30	(1)[c]/30 — One male satellite animal (M257) found dead on Day 19 (after blood sampling)	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[b] 88%), shown to be fully reversible by the end of the recovery period. - IgM or IgA were unaffected. - Significant increase in albumin (fully recovered at the end of the treatment-free period). - Findings at the injection site secondary to administration procedure: Subcutaneous hemorrhage, acute inflammatory cell infiltrate, necrosis, pigment deposition and one case of subcutaneous thrombus (findings were rated marginal to moderate with any finding: 10/10 males, 10/10 females)[a]. Tissue from injection sites was not analyzed at the end of the recovery period.
	100	(1)[c]/30 — One female satellite animal (F288) died after blood sampling on Day 29	- PD: Significantly decreased level of gamma globulin, globulin, and specifically IgG compared with controls (max[b] 85%), shown to be fully reversible by the end of the recovery period. - IgM or IgA were unaffected. - Significant increase in albumin (fully recovered at the end of the treatment-free period). - Microscopic examination of liver: Increased prevalence of marginal to slight Kupffer cell hypertrophy/hyperplasia (3/10 males, 2/10 females), shown to be fully reversible by the end of the recovery period. - Findings at the injection site secondary to administration procedure: Subcutaneous hemorrhage, acute inflammatory cell infiltrate, necrosis, pigment deposition, and 1 case of subcutaneous thrombus (findings were overall described as marginal to moderate with any finding: 8/10 males, 10/10 females)[a]. Increase in slight acute inflammatory cell infiltrate was seen in 3 females. Tissue from injection sites was not analyzed at the end of the recovery period.
NOAEL: **30 mg/kg** IV (bolus injection) q2d **Target organ of toxicity:** Liver, see section 2.6.6.9 for interpretation of the higher prevalence of Kupffer cell hypertrophy/hyperplasia in rat and its translatability to humans.			

Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; max=maximum; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; PD=pharmacodynamics; q2d=every other day
[a] 4.2.3.2-1, page 1168 and 1169.
[b] Maximum reported mean decrease at any time, male or female, without consideration of significance of the change versus control for this datapoint [see 4.2.3.2-1, Table on page 18].
[c] No test item-related mortality was reported.

エフガルチギモド投与群にエフガルチギモド投与に関連した局所刺激性の徴候は認められなかった。対照群を含めた全ての群の投与部位に認められた病理組織学的検査所見は、いずれも、静脈内投与による影響であると考えられた。

生存率／死亡率、一般状態観察、行動、外観及び糞の状態、体重、摂餌量及び飲水量、血液凝固パラメータ及びリンパ球イムノフェノタイピング解析を含む血液学的検査パラメータ、血清中の IgA 又は IgM 濃度、尿検査、眼科学的検査、聴覚検査、並びにエフガルチギモドが生化学的検査値に及ぼすと予想される薬理学的作用以外の血液生化学的検査値には、エフガルチギモド投与の影響は認められなかった。γ-グロブリン、グロブリン、及び IgG の低下は、エフガルチギモドの作用機序に関連した変動であると考えられた。

対照群と比較して、全てのエフガルチギモド投与群で平均血清カルシウム（対照群に対して+3%～5%）、アルブミン（対照群に対して+20%～30%）、総タンパク質（対照群に対して+4%～7%）の有意な上昇が認められたが、毒性学的意義は低いと考えられ、完全な回復性が認められた。

他の血液生化学的検査パラメータでも、統計的有意差を認める項目が散見されたが、いずれも生物学的意義がないこと、用量依存性がみられないこと、対照群で認められた相対的な低値又は高値によるものであること、さらに、変動が投与開始前にも認められたことから、エフガルチギモド投与との関連性はないと考えられた。

4 週間の投与期間終了時の臓器重量、骨髄検査［顆粒球系／赤芽球系細胞比率（M／E 比）］及び剖検時の肉眼的観察ではエフガルチギモド投与による明らかな影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、肝臓に軽微～軽度のクッパー細胞の肥大／増加が 100 mg/kg の雄 3 例及び雌 2 例に認められ、エフガルチギモド投与に起因すると考えられた。しかし、ALAT、アルカリホスファターゼ（aP）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（γ-GT）、乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）には変動は認められなかった。肝臓で認められたその他の所見は、雌雄の対照群でも認められる変化であった。

クッパー細胞は貪食能を有しており、自然免疫系に重要な炎症のメディエーターを分泌し、脂質とタンパク質を異化する自己複製能力を持った固定マクロファージである（Thoolen, 2010）。クッパー細胞は外来物質の貪食や一部の炎症状態において肥大し、増殖することがある。しかしながら、本試験で認められたクッパー細胞の肥大／増加の原因は不明である（2.6.6.9 項）。他の臓器・組織では投与に関連した所見は認められなかった。回復期間では変化は認められなかった。

TK 解析の成績を表 2.6.6-7 に要約した。これらのデータは、試験中に到達した最高曝露量を表しており、ADA の影響は少ないと考えられたことから、安全域の算出に用いた。

エフガルチギモドを 10、30、及び 100 mg/kg の用量で 2 日に 1 回の頻度で静脈内投与し、サテライト動物の血清中濃度を測定した。投与期間中は Day 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27 及び 29 の投与前並びに投与 5 分後に、休薬期間では Day 31、33、35、38、42、46、50、54 及び 58 にそれぞれ採血した。Day 58 は 4 週間の回復期間終了日である。バリデートされた酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）を用いて血清中エフガルチギモド濃度を測定した（2.6.4.2.1 項及び表 2.6.4-1）。

本試験における TK 解析の目的は、曝露量の確認であった。サテライト群はスパースサンプリング法を用いたため、得られた結果のばらつきが大きくなった可能性がある。投与期間に得られた最高濃度を C_{max} とした（4.2.3.2-1、Table 19-2）。また、投与期間全体の曝露量（$AUC_{0\text{-}672h}$）を算出した。この試験ではスパースサンプリング法を用いたため、限られた条件での TK パラメータであり、他試験の TK パラメータとの比較が難しいが、同一試験内の異なる用量群間の曝露量の比較は可能であると考えられる。2.6.7 項では、この試験デザインを

考慮して解釈されるべきパラメータをイタリック体で記載している。表 2.6.6-7 に要約したデータは、投与期間全体で集計したデータに基づいている。2.6.4.3.2 項では本試験を含め、毒性試験で週あたりの曝露量を比較した。最終投与後のデータから得られた回復期間中の TK 解析結果は、そのデータポイントが少なく、ADA の影響が除外できないため、あまり意味を持たないと考えられた。以下の結論を導くことができた。

- 投与期間中（Day 1～28）では、全ての用量群でエフガルチギモドの曝露が確認され、回復期間中では血中濃度は減少したが、最終採血時点（Day 58）まで測定可能であった。
- 投与期間中の雌雄では、
  - エフガルチギモドの C_{max} 及び AUC は線形で、曝露量は用量比例的に増加した。
  - 明らかな性差は認められなかった。
  - 全例において t_{max} は最終投与後 5 分（最初の採血時点）であった。
  - 投与終了時の血清中エフガルチギモド濃度は概ね一定であり、蓄積されていないことが示唆された（4.2.3.2-1、Figure 7-1 及び 7-2）。
- 最終投与後の C_{max} 及び AUC から、用量依存的な曝露量の増加が認められた。ただし、データポイントが少なかったこと及び ADA の影響を除外できないことから、データの解釈にはこれらを考慮する必要がある。

表 2.6.6-7　ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中［Day 1～Day 28（t_{last}）］のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値）

Dose (mg/kg)	**10**	**30**	**100**	**10**	**30**	**100**
Main study group [Day 1 to day 28 (t_{last})]						
Sex and no. per group	9M	9M	9M	9F	9F	9F
C_{max} (µg/mL)	628	1142	4864	660	976	4604
t_{max} (h)[a]	0.083, on variable days	0.083, on variable days	0.083, on variable days	0.083, on variable days	0.083, on variable days	0.083, on variable days
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (µg·h/mL)	85604	221362	872656	80743	200293	886198
DPF	1.00	0.86	1.02	1.00	0.83	1.10

Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
$AUC_{0\text{-}tlast}$=AUC from time zero to time of the last quantifiable concentration >LLOQ; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; h=hour; LLOQ=lower limit of quantification, M=male; NA=not applicable; no.=number; SD= standard deviation; TK=toxicokinetics; t_{last}=time of last quantifiable concentration; t_{max}=time of C_{max} relative to last administration (see [a])
[a] t_{max} corresponds to the highest measured concentration of the individual animal, on variable days, but always 5 minutes after administration.
Notes: DPF is based on AUC. Due to the composite sampling, mean values without SD are given in the report. When comparing AUC values from this table with Table 2.6.4-11, consider that values were harmonized to represent 1 weekly dosing interval as described in the Table 2.6.4-11 footnote.

回復群ではバリデートされた分析法（2.6.4.2.3 項）を用いて ADA を測定した。サテライト群で ADA 産生が認められた例数を表 2.6.6-8 にまとめた。

投与期間中（Day 1～29）の ADA は、Day 13 の時点で全てのエフガルチギモド投与群のうち少数例で ADA の測定が可能であった。30 mg/kg の雌ラット 1 例では Day 3 で低い ADA 陽性反応を示した。回復期間中（Day 31～58）には多くの試料で ADA 陽性であった。対照群では、ADA 産生は認められなかった。ラットの平均血清中エフガルチギモド濃度に明らかな ADA 産生の影響は認められず、ADA 陽性例数又は ADA 濃度とエフガルチギモド投与量との間に、明らかな相関は認められなかった。ADA 陽性例でも血清中 IgG 濃度の減少が認められ、平均血清中 IgG 濃度の算出では ADA 陽性例を除外しなかった（4.2.3.2-1）。

表 2.6.6-8　ラットの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数

Number of ADA positive animals /total number of animals in the group and [date of first occurrence of any positive results]								
Dose (mg/kg q2d)	**0**		**10**		**30**		**100**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Treatment period (9 satellite animals/sex/group, 3 animals per time point)[a]								
Day 1 to 29	0/9	0/9	1/9 [Day 27]	2/9 [Day 13]	1/9 [Day 23]	2/9 [Day 3]	0/9	2/9 [Day 15]
Recovery period (9 satellite animals/sex/group, 3 animals per time point)[a]								
Day 31 to 58	0/9	0/9	4/9 [Day 33]	6/9 [Day 35]	6/9 [Day 35]	5/9 [Day 33]	4/9 [Day 38]	4/9 [Day 33]

Source: Module 4.2.3.2-1 ([redacted]33981)
ADA=anti-drug antibody; F=female; M=male; q2d=every other day
Note: Please refer to Module 4.2.3.2-1, page 79.
[a] Each animal was sampled recurrently with sampling-free periods in-between.

結論として、ADA 及び TK 解析の結果から、4 週間の投与期間を通して十分かつ一貫してエフガルチギモドに曝露されていたことが示された。エフガルチギモドに対する免疫原性の発現は、データの解釈を妨げるものではなかった。

最高用量群の 5 例でクッパー細胞の軽微～軽度の肥大／増加を高頻度に認めたことから、NOAEL は 30 mg/kg q2d であると考えられた。投与期間全体を通して推定された 30 mg/kg 群の雌雄における C_{max} はそれぞれ 1142 及び 976 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}672h}$ はそれぞれ 221362 及び 200293 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.2.　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-2

エフガルチギモド（パイロットバッチ [redacted]）をカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験（GLP 適用、4.2.3.2-2）で評価した。雌雄各 20 例のカニクイザルに対して 2 日に 1 回の投与頻度、並びに 0（溶媒対照群）又は 3～100 mg/kg（エフガルチギモド投与群）の用量で 2 時間かけて持続静脈内投与した。1 例あたり合計 15 回の投与を行った。4 週間の回復期間を設け、エフガルチギモド投与の影響の回復性を評価した（表 2.6.6-9）。

本試験成績、試験デザイン及び血清中エフガルチギモド濃度に関する TK 解析結果の詳細を 2.6.7.7.B 項に要約した。TK 解析の結果を表 2.6.6-13 に示した。TK 解析の概要を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に要約した。

パイロットバッチ [redacted] は、カニクイザルを用いた拡張型単回投与毒性試験及びこの 4 週間反復投与毒性試験で用いられた（2.6.6.2.1 項）。このバッチは、エフガルチギモドの毒性試験に用いた他のバッチと異なり、エンドトキシン濃度（[redacted] EU/mg A_{280} タンパク質）が定量限界を上回った唯一のバッチであった（2.6.7.4 項）。

この 4 週間反復投与毒性試験では高用量を高頻度で投与したことから、投与されたエンドトキシンの総量は著しいものとなった。1 回の投与によるエンドトキシン量は、100 mg/kg 群で [redacted] EU/kg 体重、すなわち、[redacted]EU/kg 体重/時であり、USP 30 に推奨されているヒト用医薬品に関する閾値（5 EU/kg 体重/時）を上回っていた。5 EU が約 1 ng のリポ多糖類（LPS）に等しいと仮定すると、高用量群の動物では 2 時間の持続静脈内投与中に約 [redacted] ng/kg の LPS に曝露され、15 回の投与によって [redacted] ng/kg の LPS に曝露されていた。

表 2.6.6-9　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン

Group	IV dose (mg/kg) q2d	No. of doses	Number and sex of animals			
			Main study group		Recovery period group	
			M	F	M	F
1	0[a]	15	3	3	2	2
2	3	15	3	3	2	2
3	30	15	3	3	2	2
4	100	15	3	3	2	2
			Necropsy: Day 30		Necropsy: Day 58	

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
ADA=anti-drug antibody; F=female; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; M=male; no.=number; q2d=every other day
Notes: Blood samples for lymphocyte typing, determination of IgA and IgM in plasma, or laboratory diagnostic parameters were only taken approximately 24 hours after test article administration in all animals during treatment period or at the end of the recovery period. Blood for determination of IgG in plasma or ADA in serum was collected prior to each infusion and during recovery. Urine samples were analyzed for drug concentrations; these exploratory monkey data are on file at argenx, but they were not reported.
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

雌雄カニクイザルにエフガルチギモド（3～100 mg/kg）を 4 週間にわたり 2 日に 1 回の投与頻度で持続静脈内投与（2 時間）したときに認められた特記すべき所見を表 2.6.6-10 に示した。

表 2.6.6-10　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
Cynomolgus monkey/ male and female	0	0/10	- PD: NA (data presented as change versus control) - Findings at the infusion site(s) included hematoma (males 5/5, females 5/5)[a]. - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period. - Histopathology findings at the infusion sites (subcutis, subcutis muscle) included hemorrhage, fibrosis, inflammation necrosis, perivasculitis (males 1/3, females 3/3)[b]. Histopathology findings were partially recovered at the end of the recovery period, and findings with

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
			marginal to slight grading were still visible (males 2/2, females (2/2)[c].
	3	0/10	- PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin compared with controls, in particular IgG (max[d] 58%). - Reductions of IgG levels were consistently noted during the treatment period until Day 29, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. -Findings at the infusion site(s): Hematoma (males 5/5, females 5/5)[a] - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period. - Histopathology findings at the infusion sites (subcutis, subcutis muscle) included hemorrhage, fibrosis, inflammation necrosis, perivasculitis (males 3/3, females (3/3)[b]. Histopathology findings were partially recovered at the end of the recovery period and findings with marginal to slight grading were still visible (males 1/2, females (2/2)[c]. – Increased large unstained cell counts (% of total leukocytes or ×10E3/µL) shown to be reversible until the end of the recovery period[e].
	30	0/10	- PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin, in particular IgG compared with controls (max[d] 80%). - Reductions of IgG levels were consistently noted during the treatment period until Day 29, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s): Hematoma (males 5/5, females 5/5[a] and induration formation (males 1/5, females (1/5)[a,e]. - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period. - Histopathology findings at the infusion sites (subcutis, subcutis muscle) included hemorrhage, fibrosis, inflammation necrosis, perivasculitis (males 3/3, females 3/3), and exacerbation in form of thrombi/recanalization (males 1/3, females (0/3)[b,e]. Histopathology findings were fully recovered at the end of the recovery period[c]. – Increased large unstained cell counts (% of total leukocytes or ×10E3/µL, with significance only in females on Day 16) shown to be reversible until the end of recovery period[e].
	100	0/10	– PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin in particular IgG compared with controls (max[d] 74%). - Reductions of IgG levels were consistently noted during the treatment period until Day 29, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Findings at the infusion site(s): Hematoma (5/5 male, female 5/5)[a] and induration formation (5/5 male, female 5/5)[a,e]. - Local signs were reduced by the end of the recovery period, hematoma (males 1/2, females 0/2)[a] and slight induration (males 2/2, females 2/2)[b] were still visible. - Histopathology findings at the infusion sites (subcutis, subcutis muscle) included hemorrhage, fibrosis, inflammation necrosis, perivasculitis (males 3/3, females 3/3), and exacerbation in form of thrombi/recanalization (males 1/3, females 1/3)[b,e]. Histopathology findings were partially recovered at the end of the recovery period, and findings with marginal to slight grading were still visible (males 0/2, females 1/2)[c]. – Significantly increased large unstained cell counts (% of total leukocytes or ×10E3/µL)[e] shown to be reversible until the end of

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
			recovery period. – Slightly elevated ALAT (114.8 U/L in males, 99.0 U/L in females on Day 30). - Microscopic examination of liver: Marginal to moderate cytoplasmic alterations and degeneration of hepatocytes (3/3 males, 1/3 females), and marginal to moderate diffuse mixed inflammatory cell infiltrates (3/3 males, 3/3 females) shown to be reversible until the end of recovery period[e].
NOAEL: 30 mg/kg IV (2-hour infusion) q2d **Target organ of toxicity:** liver due to slight, reversible ALAT increase that was correlated with reversible liver pathology related to test item administration. An influence of endotoxin present in the formulation cannot be excluded. See section 2.6.6.9 for interpretation of findings and their translatability to humans.			

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
ALAT=alanine aminotransferase; Ig=immunoglobulin; IU= international unit; IV=intravenous; max=maximum; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; PD=pharmacodynamics; q2d=every other day
[a] Module 4.2.3.2-2, Table 1-2, page 129 onwards
[b] Module 4.2.3.2-2, Appendix 2, page 1118-1119
[c] Module 4.2.3.2-2, page 1127
[d] Maximum reported mean decrease in IgG at any time, male or female, without consideration of significance of the change versus control for this datapoint (see Module 4.2.3.2-2, Table 1-3, page 25).
[e] Note that endotoxins that were found to be present in the test article batch [redacted] that may have contributed to findings. See body text for calculation of amount.

エフガルチギモドを反復持続（2 時間）静脈内投与した結果、大半の動物の投与部位で血腫の形成が認められた。溶媒対照群及び低用量群と比較して、中及び高用量群で、血腫の発生率及び硬結の発生と重症度がより顕著になる傾向がみられた。投与部位の病理組織学的検査では、100 mg/kg 群で投与操作により一般的に認められる変化（肉芽組織及び血栓の再疎通など）が増悪していた。これらの所見は、生物学的製剤投与後にサルで認めることができる背景所見であることを考慮し、さらに、回復性がみられることから、毒性学的に意義はないと判断した。また、本試験で用いたパイロットバッチ [redacted] に存在するエンドトキシンが、これらの所見発現に関与した可能性も考えられる。

予想されたエフガルチギモドの血液生化学的検査パラメータに対する一過性の薬理作用（γ-グロブリン、グロブリン、特に IgG 濃度の減少）を除き、生存率／死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、飲水量、心電図、血圧、リンパ球イムノフェノタイピング、血液凝固検査、赤血球沈降速度、尿検査、眼科学的検査、聴覚検査、骨髄検査（M／E 比）又は血液生化学的検査パラメータにエフガルチギモドの影響は認められなかった。中用量群の雌を除くエフガルチギモド投与各群で β-グロブリン濃度が軽度に減少した。この変動は免疫グロブリンを含む β2-グロブリン分画の変動による二次的影響であると考えられ、エフガルチギモドの作用機序に関連する回復性のある変動であり、カニクイザルに対して有害な影響ではないと考えられる（2.6.2.2.3 項）。血漿中の IgA 又は IgM 濃度、若しくは血清中のアルブミン濃度は対照群と比べて減少しなかった。

血液学的検査では、Large unstained cell（LUC）の増加が認められた（表 2.6.6-11）。LUC 比率は、特定の日常的血液学的分析装置で測定される白血球分画パラメータであり、活性化されたリンパ球及び単球を反映しているため、免疫活性化の徴候を表すパラメータである。LUC の増加は回復期間に正常化し、回復期間終了時点ではエフガルチギモド投与群と溶媒対照群間で有意差は認められなかった。

表 2.6.6-11　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における LUC 数（×10E3/μL）、LUC 比率（総白血球数に対する割合、%）及び対照群との差

Dose (mg/kg q2d)	3		30		100	
	M	F	M	F	M	F
Percentage of large unstained cells (% of total leukocytes)						
Treatment period						
Day -11	0.70	0.64	0.70	0.62	0.80	0.78
% difference to control	-2.8	0	-2.8	-3.1	+11.1	+21.9
Day 16	1.66	1.62	1.46	1.90	2.42	2.92
% difference to control	+69.4	+84.1	+49.0	+115.9	+146.9	+231.8
Day 30	0.94	0.96	1.24	1.12	1.96	3.28
% difference to control	+6.8	+14.3	+40.9	+33.3	+122.7	+290.5
Recovery period						
Day 58	0.70	0.95	0.65	0.45	0.50	0.60
% difference to control	-6.7	+72.7	-13.3	-18.2	-33.3	+9.1
Large unstained cell counts (×10E3/μL)						
Treatment period						
Day -11	0.096	0.068	0.088	0.074	0.098	0.080
% difference to control	-2.0	0	-10.2	8.8	0	17.6
Day 16	0.224	0.172	0.158	0.274*	0.268	0.276*
% difference to control	+60.0	+87.0	+12.9	+197.8	+91.4	+200.0
Day 30	0.118	0.094	0.134	0.116	0.278**	0.380*
% difference to control	+3.5	+23.7	+17.5	+52.6	+143.9	+400.0
Recovery period						
Day 58	0.090	0.090	0.085	0.055	0.060	0.065
% difference to control	-18.2	+100.0	-22.7	+22.2	-45.5	+44.4

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
F=female; LUC= large unstained cell; M=male; q2d=every other day
Notes: Statistically significant versus control group: *(p≤0.05), **(p≤0.01)

リンパ球又は単球の絶対数（×10E3/μL）や白血球分画［総白血球数に対する割合（%）］などの他の血液学的検査パラメータは、エフガルチギモド投与群で有意な変化は認められず、リンパ球イムノフェノタイピングでもエフガルチギモドの投与に関連した変動はみられなかった。

対照群と比較した血清 ALAT 活性の上昇が、100 mg/kg 群で Day 16 の雌（有意差なし）及び Day 30 の雌雄（p≤0.05）で認められたが、4 週間の回復期間終了時には正常値に回復した（表 2.6.6-12）。投与前の ALAT 値（Day -11 で約 50～80 U/L）及び対照群のサルの最高平均 ALAT 値（Day 16 の 96 U/L）を考慮すると、この血清 ALAT 活性の上昇は軽度であった（2.6.7.7.B 項）。肝胆道系障害の指標となるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ASAT）、aP、γ-GT、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（GLDH）及び LDH の測定値では、エフガルチギモドの投与に関連した変動は認められなかった。

表 2.6.6-12　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ALAT 活性（U/L）及び対照群との差（%）

Dose (mg/kg q2d)	3		30		100	
	M	F	M	F	M	F
Treatment period						
Day -11	79.8	61.8	50.4	74.8	65.4	70.6
% difference to control	+25.1	+24.1	-21.0	+50.2	+2.5	+41.8
Day 16	84.4	70.8	68.2	82.6	88.6	114.0
% difference to control	-11.9	+3.8	-28.8	+21.1	-7.5	+67.2
Day 30	64.8	67.2	77.6	69.2	114.8*	99.0*
% difference to control	+0.6	+18.7	+20.5	+22.3	+78.3	+74.9
Recovery period						
Day 58	48.0	54.0	41.0	53.5	40.0	46.5
% difference to control	+17.1	+21.3	0	+20.2	-2.4	+4.5

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
ALAT= alanine aminotransferase; F=female; M=male; p=p-value; q2d=every other day
Notes: Statistically significant versus control group: *($p \leq 0.05$)

回復期間終了時には γ-グロブリンが軽度に低下していたが、その他の生化学的検査パラメータは完全に正常化していた。

投与終了時及び回復期間終了時の剖検では、エフガルチギモドに関連した変化は認められなかった。

4 週間の投与期間終了時の病理組織学的検査では、エフガルチギモドの 100 mg/kg（高用量）群の雌雄で肝臓にびまん性の細胞質の変化／変性及びびまん性混合型炎症性細胞浸潤がみられた。変性肝細胞は、淡明な細胞質と好塩基性で濃染性の核を有していた。びまん性混合型炎症性細胞浸潤の特徴は、単核細胞（リンパ球及びマクロファージ）と好中球の混在を示すことであり、軽度から中等度の細胞浸潤は類洞の拡張を伴うことが多く、正常な肝臓の小葉構造を歪めていた。この変化は、高用量群の雄で 3/3 例（軽度から中等度）及び雌で 1/3 例（軽微）に認められており、エフガルチギモドにより誘導された抗体クリアランスの増加に関連している可能性が考えられた。LUC 及び肝酵素の上昇は、ヒト以外の霊長類でエンドトキシン曝露後に認められたことが文献から報告されている（Picha, 2004）。これらの所見のヒトへの関連性については、2.6.6.9 項で考察した。

投与期間終了時の 3 又は 30 mg/kg 群ではエフガルチギモドに関連した明らかな変化は認められなかった。その他の病理組織学的変化は全て、偶発的変化、肉眼的偶発所見に関連した変化、又は自然発生的な背景病変に由来する変化であった。回復期間終了時の回復群の検査で、エフガルチギモドと関連する変化は確認されなかった。

エフガルチギモドの全身曝露量を評価し、TK 解析の結果を 2.6.7.7.B 項に要約した。カニクイザルにおけるエフガルチギモドの PK 評価は、2.6.4.3.1.3 項で考察した。

投与期間の代表的な TK 解析の成績を表 2.6.6-13 に要約した。動物間の TK を比較するため、全投与期間の $AUC_{0\text{-}674h}$ を 4 で割り 1 週間あたりの $AUC_{0\text{-}168h}$ を算出した（2.6.4.3.2 項）。最終投与後のデータから得られた TK 解析結果は、測定ポイントが少ないこと、また ADA の影響

を除外できないことから、あまり意味を持たないと考えられた。主要な試験である 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 項、4.2.3.2-3）では、臨床と同じ週 1 回投与であることから、ヒト曝露量との比較にはこの 4 週間反復投与毒性試験よりも 26 週間反復投与毒性試験の TK 解析結果に基づいて比較することがより適切であると考えられる。

TK 解析のための血液試料を投与期間中（投与前及び 2 時間の持続静脈内投与の終了時）、並びに回復期間中（Day 31、33、35、38、42、46、50、54 及び 58）に採取した。バリデートされた ELISA（2.6.4.2.1 項）を用いて試料を分析した。

TK 解析の目的は、曝露量を確認することであった。上記のとおりスパースサンプリング法を採用した。投与期間中は試験期間中に得られた最高濃度を C_{max} とした。したがって、t_{max} は様々であった（4.2.3.2-2、Table 11-2）。また全投与期間の曝露量（$AUC_{0\text{-}674h}$）を算出した。この試験ではスパースサンプリング法を用いたため、限られた条件での TK パラメータであり、他試験の TK パラメータとの比較が難しいが、同一試験内の異なる用量群間の曝露量の比較は可能であると考えられる。2.6.7 項では、この試験デザインを考慮して解釈されるべきパラメータをイタリック体で記載している。

以下の結論を導くことができた。

- 投与期間中（Day 1～28）では、全ての用量群でエフガルチギモドの曝露が確認され、回復期間中では血中濃度は減少したが、最終採血時点（Day 57）まで測定可能であった。
- 投与期間中の雌雄では、
  - エフガルチギモドの C_{max} 及び AUC は線形性であり、用量依存的な曝露量が示された。
  - 明らかな性差は認められなかった。
  - t_{max} は全動物において持続静脈内投与終了時の採血時点であった。
  - 持続静脈内投与終了時の血清中エフガルチギモド濃度は概ね一定であり、蓄積されていないことが示唆された（4.2.3.2-2、Figure 13-1 及び 13-2）。
- 回復期間中、雌雄のカニクイザルにおいてエフガルチギモドの C_{max} 及び AUC の個体差は大きく、一部の投与群では用量線形性を下回った値を示した。ただし、データポイントが少なく、ADA の影響を除外できないことから、データの解釈にはこれらを考慮する必要がある。

表 2.6.6-13　サルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中（Day 1～Day 28 t_{last}）のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値 ± SD）

Dose (mg/kg)	**3**	**30**	**100**	**3**	**30**	**100**
Main study group [Day 1 to Day 28 (t_{last})]						
Sex and no. per group	**5M**	**5M**	**5M**	**5F**	**5F**	**5F**
C_{max} (µg/mL)	84±9	932±47	2596±484	84±11	674±29	2960±799
t_{max} (h)[a]	After the 2-h infusion	After the 2-h infusion	After the 2-h infusion	After the 2-h infusion	After the 2-h infusion	After the 2-h infusion
$AUC_{0\text{-}674h}$ (µg·h/mL)	21434 ±1338	200020 ±21478	598268 ±109914	17986 ±1330	180370 ±9757	647494 ±169990
DPF	1.0	0.9	0.8	1.0	1.0	1.1

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
$AUC_{0\text{-}674h}$= area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 674 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; h=hour; M=male; NA=not applicable; no.=number; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}
Notes: When comparing AUC values from this table with Table 2.6.4-11, consider that values were harmonized to represent 1 weekly dosing interval, as described in the table footnote. DPF is based on AUC.
[a] t_{max} (in the study protocol) corresponds to the highest measured concentration of the individual animal on variable days, but always after the 2-hour infusion.

全例において、バリデートされた分析法（2.6.4.2.3 項）を用いて ADA を測定した。ADA 産生が認められた例数を表 2.6.6-14 に要約し、2.6.7.7.B 項で詳述した。

全てのエフガルチギモド投与群で、Day 29 まで ADA は測定できなかった。低用量群と高用量群の一部の動物では、回復期間の Day 33 又は 38 に ADA 陽性率の増加が認められた。ADA 陽性例数又は ADA 濃度とエフガルチギモド投与量との間に、明らかな相関は認められなかった。対照群では、1 例（1 時点のみで偶発的な陽性値）を除き、ADA 産生は認められなかった。

表 2.6.6-14　サルの 4 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数

Number of ADA positive animals /total number of animals in the group and [date of first occurrence of any positive results]								
Dose (mg/kg q2d)	**0**		**3**		**30**		**100**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Treatment period (5 animals/sex/group)								
up to Day 29	1/5[a] [Day 29]	0/5	1/5[a] [Day 11]	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Recovery period (2 animal/sex/group)								
Day 31 to 58	0/2	0/2	2/2 [Day 33]	1/2 [Day 33]	0/2	0/2	0/2	1/2 [Day 38]

Source: Module 4.2.3.2-2 ([redacted]31554)
ADA=anti-drug antibody; F=female; M=male; q2d=every other day
[a] Includes single positive results of low titer. These can be considered incidental and of no importance.

結論として、ADA 及び TK 解析の結果から、エフガルチギモド投与群では 4 週間の投与期間を通して十分かつ一貫してエフガルチギモドに曝露されていたことが示された。エフガル

チギモドに対する免疫原性の発現は、カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験のデータ解釈及び妥当性を損なうものではなかった。バッチ [redacted] を用いた 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）では、エンドトキシンの曝露が認められ、所見発現に寄与した可能性がある。NOAEL は 30 mg/kg q2d と判断され、C_{max} は雄で 932 µg/mL、雌で 674 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}674h}$ は雄で 200020 µg·h/mL、雌で 180370 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.3.　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-3

エフガルチギモド（GMP バッチ [redacted]）をカニクイザルの 26 週間反復投与毒性試験（GLP 適用、4.2.3.2-3）で評価した。雌雄各 24 例のカニクイザルに対して週 1 回の投与頻度、並びに 0（溶媒対照群）又は 10～100 mg/kg（エフガルチギモド投与群）の用量で 0.5 時間かけて持続静脈内投与した。1 例あたり合計 27 回の投与を行った。一部の動物には 8 週間の回復期間を設けて、エフガルチギモド投与による影響の回復性を評価した（表 2.6.6-15）。週 1 回の投与頻度は臨床の治療レジメンを反映している。

本試験成績及び結果を 2.6.7.7.C 項に要約した。カニクイザルにおけるエフガルチギモドの PK 評価は 2.6.4.3.1.3 項に、TK 解析の結果を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に要約した。

表 2.6.6-15　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験の試験デザイン

Group	IV dose (mg/kg) q7d	No. of doses	Number and sex of animals			
			Main study group		Recovery period group	
			M	F	M	F
1	0[a]	27	4	4	2	2
2	10	27	4	4	2	2
3	30	27	4	4	2	2
4	100	27	4	4	2	2
			Necropsy: Day 184		Necropsy: Day 240	

Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)
ADA=anti-drug antibody; F=female; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; M=male; no.=number; q7d=once weekly
Notes: Blood samples for lymphocyte typing, determination of IgA and IgM in plasma, or laboratory diagnostic parameters were taken approximately 24 hours after test article administration only in all animals during the treatment period or at the end of the recovery period. Blood for determination of IgG in plasma or ADA in serum was collected prior to each infusion and weekly during recovery. Urine samples were analyzed for drug concentrations; data are presented in Module 2.6.4.6.
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

雌雄のカニクイザルにエフガルチギモド（10～100 mg/kg）を 26 週間にわたり週 1 回の投与頻度で持続静脈内投与（0.5 時間）したときに認められた特記すべき所見を、表 2.6.6-16 に示した。

表 2.6.6-16　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
Cynomolgus monkey/ male and female	0	0/12	- PD: NA (data presented as change versus control) - Findings at the infusion site(s) as a result of the repeated 0.5-hour infusion procedure: Hematoma formation (6/6 males, 6/6 females), hemorrhagic infusion sites (2/4 males, 1/4 females, examined on Day 184). - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period.
	10	0/12	- PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin, in particular IgG compared with controls (max[a] 54%). Reductions of IgG levels were noted during the treatment period from Day 8 until Day 183 in females, ie, the last day of IV dosing in Week 27, or from Day 8 until Day 169 in males, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - Two cases of morbidity unrelated to test article (diarrhea on a single day, females 19, 24). - Pathology: Enlarged cervical lymph node (male 13) without correlate in histopathology, enlarged spleen (male 15) correlating with follicular cell hyperplasia. - Findings at the infusion site(s) as a result of the repeated 0.5-hour infusion procedure: Hematoma formation (5/6 males, 6/6 females) and hemorrhagic infusion sites (4/4 males, 1/4 females examined on Day 184). - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period.
	30	0/12	-PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin, in particular IgG compared with controls (max[a] 65%), gaining significance only in females. Reductions of IgG levels were consistently noted during the treatment period until Day 183, ie, the last day of IV dosing in Week 27, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - No case of morbidity. - Pathology: Enlarged mandibular lymph node (male 32) without correlate in histopathology. - Findings at the infusion site(s) as a result of the repeated 0.5-hour infusion procedure: Hematoma formation (6/6 males, 5/6 females), hemorrhagic infusion sites (3/4 males, 0/4 females examined on Day 184). - Local changes had completely recovered by the end of the recovery period.
	100	0/12	- PD: Decreased levels of gamma globulin and globulin, in particular IgG compared with controls (max[a] 76%), gaining significance only in females. Reductions of IgG levels were consistently noted during the treatment period until Day 183, ie, the last day of IV dosing in Week 27, shown to be fully reversible by the end of the recovery period. Albumin, IgM, or IgA were unaffected. - One case of morbidity unrelated to test article (female 44, reduced motility, starting Day 174 progressing with diarrhea starting

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
			Day 175 to Day 184 of scheduled necropsy). - Pathology female 44: Petechial bleedings in the mucosa of the stomach and caecum that were edematous at autopsy; and reddened and edematous intestines and pancreas. Microscopic findings in GIT (chronic active inflammation with reactive mucous cell hyperplasia, small hemorrhages in mucosa, hemosiderin), adrenal cortex, kidneys, thymus, mesenteric lymph node. - Findings at the infusion site(s) as a result of the repeated 0.5-hour infusion procedure: Hematoma formation (6/6 males, 6/6 females), hemorrhagic infusion sites (3/4 males, 1/4 females examined on Day 184). Local changes had completely recovered by the end of the recovery period.
NOAEL: 100 mg/kg IV (0.5-hour infusion) q7d **Target Organ of Toxicity**: **None**			

Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)
GIT=gastrointestinal tract; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; max=maximum; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; PD=pharmacodynamics; q7d=once weekly
[a] Maximum reported mean decrease of IgG at any time, male or female, without consideration of significance of the change versus control for this datapoint (see 4.2.3.2-3, table on page 17).

エフガルチギモド投与各群において、投与部位又はその周囲にエフガルチギモド投与に関連した局所反応の徴候は認められなかった。投与部の血腫形成（生存期間の毎日の検査で確認）及び／又は投与部位出血（肉眼検査で確認）は、投与操作により一般的に認められる変化であり、溶媒対照群とエフガルチギモド投与群との間に差はなかった。

カニクイザルに最大 100 mg/kg までのエフガルチギモドを反復静脈内投与した結果、エフガルチギモドは良好な忍容性を示した。3 例の全身状態悪化例に関しては、試験責任者によりエフガルチギモド投与と関連はないと判断された。

- 10 mg/kg 投与群の雌 6 例中 2 例でそれぞれ Day 52 又は Day 178 に下痢がみられた。これらは一過性かつ軽度であり、また下痢は飼育下のカニクイザルでは比較的多く認められることから、偶発所見と判断された。
- 高用量の 100 mg/kg 投与群で雌 6 例中 1 例に Day 174 から軽度～中等度の自発運動の減少、Day 175 に眼瞼陥凹、Day 175 から下痢がそれぞれ認められた。これらの症状は Day 184 の観察期間終了時の剖検まで持続した。本例では Day 176 及び Day 183 に大幅な体重減少が認められた。剖検時の肉眼的観察及び病理組織学的検査の結果、体重減少及び脱水を伴う腸炎が認められた。消化管及び肝臓の炎症に関連すると考えられる胸骨骨髄過形成が認められた。下痢はヒト以外の霊長類では通常認められる健康障害であるため、上記の変化は被験物質に関連する可能性は低いと考えられた。毒性試験に使用される施設内で飼育されたサルでは、小腸炎及び細菌感染又は腸内寄生菌感染がこの動物種の背景疾患として報告されている（Chamanza, 2010、Sasseville, 2010）。本例では原因となり得る病原菌は認められなかった。

本試験ではエフガルチギモド投与に関連すると考えられる死亡例又は切迫安楽死例はみられなかった。エフガルチギモド投与群では、いずれの用量でも一般状態観察、体重、摂餌量・摂水量、心電図、循環機能、凝固を含む血液学的検査パラメータ、リンパ球イムノフェノタイピング、尿検査パラメータ、視覚及び聴覚機能、相対的及び絶対的器官重量、並びに骨髄検査（M／E 比）に特記すべき異常は認められなかった。

胆汁酸、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、ブドウ糖、リン、（総）タンパク質、アルブミン、α1-、α2-及び β-グロブリンの血清中濃度、並びにトリグリセリド、尿素及び電解質の血清中濃度には、エフガルチギモド投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。さらに、ALAT などの血清中の活性、又はその他の肝臓に固有の生化学的検査パラメータは、エフガルチギモド投与群と対照群の動物で同程度であった。

リンパ球イムノフェノタイピングでは、検討した細胞サブセット［ナチュラルキラー（NK）細胞、ヘルパーT 細胞、活性化ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、活性化細胞傷害性 T 細胞、未熟 T 細胞及び B 細胞］においてエフガルチギモド投与に関連したと考えられる変動は認められなかった。

さらに、エフガルチギモドに関連した血液学的検査パラメータの変化も認められなかった。

検討したいずれの動物でも、被験物質に関連した肉眼的又は病理組織学的な有害な変化は認められなかった。特に肝臓では、100 mg/kg までの全てのエフガルチギモド投与群で病理組織学的変化は認められなかった。

さらに、エフガルチギモドの全身曝露量を評価した。TK 解析の成績を 2.6.7.7.C 項に要約した。代表的な TK パラメータとして、投与期間中期（Day 85～92）データを表 2.6.6-17 に要約した。投与期間後期に曝露量が最高に達し、ADA による影響はごくわずかと考えられたため、このデータを用いて安全域を算出した（2.6.4.3.2 項）。カニクイザルにおけるエフガルチギモドの PK 評価は、2.6.4.3.1.3 項に論じている。

様々な時点で採血し（投与期間中は投与前及び投与終了時、さらに Day 1、85 及び 176 には投与後 2、4、6、24 時間並びに回復期間中は Day 190、197、204、211、225 及び 239）、血清中エフガルチギモド濃度をバリデートされた ELISA を用いて測定した（2.6.4.2.1 項）。

TK 解析結果から、以下の結論を導いた。

- 投与期間初期（Day 1～8）及び中期（Day 85～92）に全用量群の曝露量を確認した。回復期間では全用量群で血清中エフガルチギモド濃度は減少したが、定量可能であった［Day 176～最終測定可能時間（t_{last}）、Day 183 が投与期間の最終採血時点であった］。
- 投与期間中期の Day 85～92 では雌雄のカニクイザルでは、
  - エフガルチギモドの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$）は用量に依存して増加した。
  - 低用量群の 2 例並びに中及び高用量群の各 1 例を除き、t_{max} は概ね 0.5 時間の投与終了時（最初の採血時点）であった。
  - いずれのパラメータについても明らかな性差はみられなかった。
- Day 1～8、Day 85～92、及び Day 176～183 で報告されたパラメータを比較したとき、反復投与による蓄積は認められないか、ごく軽微なものであった。AUC に基づく蓄積係数は雄で 0.89～1.47、雌で 0.81～1.56 であった。
- 回復期間中、雌雄のカニクイザルにおいてエフガルチギモドの C_{max} 及び AUC の個体間差は大きく、一部の投与群では用量線形性を下回って増加する傾向があった。ADA の影響を除外できないことから、データの解釈には注意を要する。
- 試験全体で Day 85 以降又は Day 176 以降の 6 例で高い ADA 陽性反応と関連した血清中エフガルチギモド濃度の減少がみられ、明らかに ADA の影響を受けていると考えられる値については TK 解析から除外した（4.2.3.2-3）。

表 2.6.6-17　サルを用いた 26 週間反復静脈内投与毒性試験における投与期間中（Days 85～92）のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値 ± SD）

Dose (mg/kg) q7d	**10**	**30**	**100**	**10**	**30**	**100**
Sex and no. per group	**6M**	**6M**	**6M**	**6F**	**6F**	**6F**
Main study group [Days 85 to 92 (after the 12th dose)]						
Sex and no. per group	**5M[a]**	**6M**	**6M**	**3F[b]**	**6F**	**6F**
C_{max} (µg/mL)	207±31.6	707±284	2653±414	148±106	696±74.3	2563±333
t_{max} (h)	0.90±0.89	1.50±2.45	0.50±0	2.50±3.46	0.50±0	0.83±0.82
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)	3336±475	10212±886	44637 ±26504	3363±618	8875±1525	44197 ±11307
DPF	1.00	1.02	1.34	1.00	0.88	1.31
R	1.04	1.07	1.47	1.03	1.05	1.45

Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)

$AUC_{0\text{-}168h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 168 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; h=hour; M=male; NA=not applicable; no.=number; q7d=once weekly; R=accumulation factor; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}

Note: Data from the recovery period are discussed in Section 2.6.4.3.1.3.5. Accumulation factor is based on AUC.

[a] Data from 1 male (M18) were excluded from PK analysis from day 85 onwards (see Table 2.6.6-18 and Module 4.2.3.2-3, Text Table 1-1).

[b] Data from 3 females (F21, F23, F24) were excluded from PK analysis from day 85 onwards (see Table 2.6.6-18 and Module 4.2.3.2-3, Text Table 1-1).

バリデートされた分析法を用いて ADA を測定した（2.6.4.2.3 項）。報告された ADA 陽性例数を表 2.6.6-18 に要約し、2.6.7.7.C 項に詳述した。投与前及び対照群の試料からは ADA は検出されなかった（偶発的に 2 試料で低い陽性反応がみられたことを除く）。Day 15 の時点でエフガルチギモド投与群から採取した試料において、ADA 陽性反応が高頻度に認められた（表 2.6.6-18）。全てのエフガルチギモド投与群のうち 26 例で、投与期間中に採取した試料が ADA 陽性であった。そのうち 13 例で、それぞれの試験期間の最終日まで、ADA が継続して検出された。群間の発現率に差はみられなかった。

表 2.6.6-18　サルの 26 週間反復静脈内投与毒性試験における ADA 陽性例数

Number of ADA positive animals /total number of animals in the group and [date of first occurrence of any positive results]								
Dose (mg/kg q7d)	**0**		**10**		**30**		**100**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Treatment period (6 animals/sex/group)								
up to Day 183	0/6	1/6[a] [day 64]	5/6[b,c] [day 15]	5/6[d] [day 15]	5/6[c] [day 15]	3/6[c] [day 15]	5/6 [day 15]	3/6 [day 22]
Recovery period (2 animals/sex/group)								
Days 190 to 239	0/2	0/2	1/2 [day 190]	2/2 [day 190]	1/2 [day 190]	1/2 [day 190]	2/2 [day 190]	1/2 [day 190]

Source: Module 4.2.3.2-3 ([redacted]33260)
ADA=anti-drug antibody; F=female; M=male; PK=pharmacokinetics; q7d=once weekly
[a] Includes single positive results of low titer. These can be considered incidental and of no importance.
[b] One ADA positive animal was excluded from PK assessment (days 85 to 92).
[c] One ADA positive animal was excluded from PK assessment (days 176 to 183).
[d] Three ADA positive animals were excluded from PK assessment (days 85 to 92 and 176 to 183).

ADA 陽性反応の発現率又は ADA 濃度とエフガルチギモド投与量の間に、明らかな相関は認められなかった。

低及び中用量群の 6 例の血清中エフガルチギモド濃度推移は明らかに異常であったため、これらの動物のデータは Day 85 以降のエフガルチギモドの TK 解析から除外した。これらの動物の試料からは、高い ADA 陽性反応が検出された。IgG 濃度は主要な薬理学的マーカーであったことから、平均 IgG 濃度の計算ではこれらのデータを除外しなかった（4.2.3.2-3、section 7.2.10.1）。投与期間中、全用量群で平均 IgG 濃度の減少が認められたことから、ADA はエフガルチギモドの PD 効果に影響を及ぼさなかったと示唆された。

結論として、ADA データと合わせた TK の解釈から、十分な数の動物が 26 週間の投与期間を通して十分かつ一貫してエフガルチギモドに曝露されていたことが示された。エフガルチギモドに対する免疫原性の発現は、データの解釈を妨げるものではなかった。

エフガルチギモドの NOAEL は 100 mg/kg q7d（最高用量）であった。投与期間の 12 回目の持続投与後（Day 85～92）に最高曝露量が得られた。C_{max} は雄で 2653 µg/mL、雌で 2563 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}168h}$ は雄で 44637 µg·h/mL、雌で 44197 µg·h/mL であった。

2.6.6.4.　遺伝毒性試験

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5.　がん原性試験

エフガルチギモドの作用機序、及びカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験において NOAEL では臨床曝露量を上回る曝露量で前腫瘍性又は腫瘍性病変がみられなかったことから、エフガルチギモドのがん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6.　生殖発生毒性試験

エフガルチギモドの生殖発生毒性試験を実施した。1 日 1 回静脈内投与（ボーラス静脈内投与）による FEED 試験（ラット）、EFD 試験（ラット及びウサギ）、並びに PPND 試験（ラット）を実施した。全ての生殖発生毒性試験は GLP 及び ICH S5（R3）ガイドラインに準拠して実施した。2.6.2.2.2 項及び 2.6.2.2.3 項に述べた根拠に基づき、また、ラットとウサギはバイオテクノロジー応用医薬品を含むあらゆる薬物のこの種の試験に広く用いられる動物種であるため、適切な動物種としてラット及びウサギを選択した。

ラット及びウサギを用いた EFD 試験の用量設定（DRF）試験（GLP 非適用）の試験成績を 2.6.7.11 項に、ラットを用いた FEED 試験の試験成績を 2.6.7.12 項に、ラット及びウサギを用いた EFD 試験の試験成績を 2.6.7.13.A 及び 2.6.7.13.B 項に、さらにラットを用いた PPND 試験の試験成績を 2.6.7.14 項に示した。

2.6.6.6.1.　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（ラット）

添付資料番号: 4.2.3.5.1-1

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（GLP 適用、4.2.3.5.1-1）において、55 日齢の SD 系ラットにエフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）を 1 日 1 回ボーラス静脈内投与した。ラットは対照群と 2 つの投与群に割り付けた（表 2.6.6-19）。雄ラットには交配前 4 週から Day 42 又は Day 43（剖検日である Day 43 又は Day 44 の前日）まで、0（溶媒）、30 及び 100 mg/kg/日を投与した。雌ラットには同用量を、交配前 2 週間から妊娠日齢 7 日（GD7）まで継続して投与した。

雄には 4 週間、雌には 2 週間の交配前投与（溶媒又はエフガルチギモド）を行った後、F0 世代の全てのエフガルチギモド投与群及び対照群で交配を行った。

被験物質の全般的な忍容性、及び雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響に関する試験を含めた。採血のみを目的として、その他 42 例のサテライト動物をこの試験に割り付けた（表 2.6.6-19）。

表 2.6.6-19　ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験のデザイン

Group	IV dose (mg/kg/day)	No. of doses	Number and sex of animals			
			Main study group		Satellite animals	
			M	F	M	F
1	0[a]	M: Variable: 4 weeks premating, mating period and then until day 42/43 (at least 71) F: Variable: 2 weeks premating, mating period, and then to GD7 (at least 22)	20	20	3	3
2	30		20	20	9	9
3	100		20	20	9	9
			Necropsy: Day 43 or day 44	Necropsy: GD7	No necropsy	

Source: Module 4.2.3.5.1-1 ([redacted]35984)
ADA=anti-drug antibody; F=female; GD=gestation day; IV=intravenous; M=male; no.=number; TK=toxicokinetics
Notes: Mating period schedule: One day of mating; if a positive mating sign had not been observed during that time, an additional mating period of a maximum of 14 nights was carried out with the same partner. Satellite animals were used for the measurement of possible ADA (not determined in view of unaltered TK in this study) and efgartigimod concentration in serum.
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

また、エフガルチギモドの全身曝露量を評価しており、本試験成績及び TK 解析の結果を 2.6.7.12 項に要約した。TK 解析結果の概要を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に示した。

本試験成績を表 2.6.6-20 に要約した。局所又は全身毒性の徴候はなく、いずれの群の雌雄にも被験物質に関連した早期死亡はみられなかった。検討した最高用量である 100 mg/kg/日までで、雄の受胎率に影響は認められなかった。エフガルチギモド投与による雌動物の受胎率及び全般の生殖パラメータ（吸収胚率、着床前及び着床後胚損失率、黄体数、着床数、吸収胚数及び胎児数）への影響はみられなかった。

表 2.6.6-20　ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の主な所見

Species/ sex	**Dose (mg/kg)**	**Mortality**	**Noteworthy findings**
SD rat/ male and female	0	0/M20, F20	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites
	30	0/M20, F20	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites - No influence on studied fertility and reproductive performance parameters - One dam with poor reproductive performance influencing mean reproduction data and indices (preimplantation loss of 80% and postimplantation loss of 100%), reported as outlier and spontaneous
	100	0/M20, F20	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites - No influence on studied fertility and reproductive performance parameters
$NOAEL_{general\ toxicity}$: **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **$NOAEL_{male\ fertility}$:** **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **$NOAEL_{female\ fertility}$:** **100 mg/kg/day** IV (bolus injection)			

Source: Module 4.2.3.5.1-1 ([redacted]35984)
IV=intravenous; NOAEL=no observed adverse effect level

ラットでの曝露量を確認するため、TK 解析用の血液をサテライト動物から、初回投与日（雄では Day 1、雌では Day 15 に相当）には投与前及び投与後 5 分、2、4、8、23 時間に、最終投与日（雄では Day 42、雌では GD7 に相当）には投与前及び投与後 5 分、2、4、8、23 時間に採取し、バリデートされた ELISA を用いて血清中エフガルチギモド濃度を測定した（2.6.4.2.1 項）。

最高曝露量が確認された最終投与日（雄では Day 42、雌では GD7）の TK パラメータを表 2.6.6-21 に示した。ADA の影響はごくわずかと考えられた。このデータを用いてヒトとの安全域を算出した（2.6.4.3.2 項）。

雌雄の初回投与日と最終投与日（雄では Day 1 と Day 42、雌では Day 15 と GD7）の TK 解析結果を以下に示した。

- エフガルチギモドの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23h}$）は、用量に依存して増加した。
- 曝露量に明確な性差は認められなかった。
- t_{max} は、概ね静脈内投与後 5 分（最初の採血時点）であった。

雄の Day 1 及び雌の Day 15 の TK パラメータと、雄の Day 42 と雌の GD7 の TK パラメータを比較したとき、ごくわずかな蓄積が認められ、蓄積係数は雄の低及び高用量群でそれぞれ 2.3 と 1.6、雌の低及び高用量群でそれぞれ 3.6 と 1.6 であった（2.6.7.3 項）。

表 2.6.6-21　雄ラット（Day 42）及び雌ラット（GD7）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値）

Dose (mg/kg/day)	**30**	**100**	**30**	**100**
Sex and no. per group	**9M**	**9M**	**9F**	**9F**
C_{max} (µg/mL)	1128	2597	823	2749
t_{max} (h)	0.083	0.083	0.083	0.083
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL)	3025	11542	4116	9630
DPF	1.00	1.14	1.00	0.70

Source: Module 4.2.3.5.1-1 ([redacted]35984)
$AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 23 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; GD=gestation day; h=hour; M=male; NA=not applicable; no.=number; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}
Note: When comparing AUC values from this table with Module 2.6.4, Table 2.6.4-11, consider that values were harmonized to represent 1 weekly dosing interval, as described in the Module 2.6.4, Table 2.6.4-11 footnote.

雌雄全例でエフガルチギモドの曝露が確認され、ADA の影響も受けていないと判断されたことから、ADA の測定は行わなかった。

結論として、TK 解析結果から雌雄ラットへのエフガルチギモドの曝露が確認された。

ラットにおける一般毒性及び雌雄の受胎能の NOAEL は、100 mg/kg/日と確立された。最終投与日に曝露量が最大となり、当該用量での C_{max} は雄と雌それぞれで 2597 及び 2749 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}23h}$ はそれぞれ 11542 及び 9630 µg·h/mL であった。

2.6.6.6.2.　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料番号: 4.2.3.5.2-1

4.2.3.5.2-2

SD 系ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、4.2.3.5.2-2）のためのエフガルチギモドの用量レベルを明らかにし、妊娠動物におけるボーラス静脈内投与を用いた 1 日 1 回反復静脈内投与の忍容性を評価するため、GLP 非適用下の DRF 試験（4.2.3.5.2-1）を実施した。さらに、この DRF 試験では受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（4.2.3.5.1-1）に際して、雄ラットにエフガルチギモドを 1 日 1 回 14 日間反復投与し忍容性を評価した。

GD6～GD17 の SD 系雌ラット（各群 3～5 例）に、エフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）を 0（溶媒対照群）又は 10～100 mg/kg/日（エフガルチギモド投与群）の用量で連日ボーラス静脈内投与した。

局所刺激性の徴候は認められず、雌雄ラットにおいてエフガルチギモドは良好な忍容性を示した。母動物毒性、生殖パラメータ及び胎児の検査の NOAEL は、検討した最高用量の 100 mg/kg/日と判断された。本試験成績を 2.6.7.11 項に要約した。

胚及び胎児発生に対するエフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）の影響を評価するため、妊娠 SD 系ラットを用いて主要な GLP 適用試験である胚・胎児発生に関する試験を実施した（4.2.3.5.2-2）。GD6～GD17 のラットにエフガルチギモドを 0（溶媒）、30 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回静脈内投与した。GD21 に帝王切開して肉眼的観察を行った。さらに、21 例のサテライト動物に対し主試験の各群と同様の投与を行い、これをエフガルチギモド血清中濃度の確認に使用した（表 2.6.6-22）。

表 2.6.6-22　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験のデザイン

Group	IV dose (mg/kg/day)	No. of doses	Number and sex of animals	
			Main study group	Satellite animals
			F	F
1	0[a]	12	25	3
2	30	12	25	9
3	100	12	25	9
			Cesarean section: GD21	No necropsy

Source: Module 4.2.3.5.2-2 ([redacted]35986)
ADA=anti-drug antibody; F=female; GD=gestation day; IV=intravenous; no.=number; TK=toxicokinetics
Note: Blood collected from satellite animals were used for the measurement of efgartigimod concentration in serum and possible ADA (not determined in view of unaltered TK in this study).
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

本試験成績を 2.6.7.13.A 項に要約した。また、エフガルチギモドの全身曝露量を評価しており、TK 解析の結果を 2.6.7.13.A 項に要約した。TK 解析結果の概要を 2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に示した。

投与に関連した安全性シグナルを示すと思われる特記すべき所見は認められなかった（表 2.6.6-23）。母動物に毒性徴候及び被験物質に関連した早期死亡は認められなかった。全般の生殖パラメータ（着床数、吸収胚数、胎児数）について、対照群と投与群間で意義のある差はみられなかった。死亡胎児及び被験物質に関連した奇形、変異又は発達遅滞は認められなかった。

表 2.6.6-23　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の GD6～GD17 の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
SD rat/ female	0	0/25	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites - One runt - Fetal malformations (% litters): External 0%, visceral 0%, skeletal 0% - Incidental findings: None
	30	0/25	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites - No signs of maternal, fetal, and embryo toxicity, no influence on reproduction parameters. - Fetal malformations (% litters): External 0%, visceral 0%, skeletal 0% - Incidental findings: None
	100	0/25	- No premature deaths - No signs of local intolerance were noted at the injection sites - No signs of maternal, fetal, and embryo toxicity, no influence on reproduction parameters - Fetal malformations (%litters): External 0%, visceral 0%, skeletal 0% - Incidental findings: Small pale focus on left liver in 1 female, increase in body weight gain from GD6 to GD21
$NOAEL_{F0\ females}$: **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **$NOAEL_{F1\ litters}$:** **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **Teratogenicity:** **None**			

Source: Module 4.2.3.5.2-2 ([redacted]35986)
GD=gestation day; IV=intravenous; NOAEL=no observed adverse effect level

妊娠ラットでの曝露量を確認するため、TK 解析用の血液をサテライト動物（母動物のみ）から初回投与日（GD6）及び最終投与日（GD17）の投与前及び投与後 5 分、2、4、8、23 時間に採取し、バリデートされた ELISA を用いて血清中エフガルチギモド濃度を測定した（2.6.4.2.1 項）。

最高曝露量が確認された最終投与日（GD17）の TK パラメータを表 2.6.6-24 に要約した。ADA の影響はごくわずかと考えられ、このデータをヒトとの安全域の算出に用いた（2.6.4.3.2 項）。

TK 解析結果を以下に示した。

- いずれの投与群でも GD6 から GD17 の投与期間で、血清中濃度推移からエフガルチギモドの曝露が確認された。
- GD17 の投与後の雌ラットでは：
  - エフガルチギモドの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23h}$）は、用量に比例して増加した。
  - t_{max} は静脈内投与後 5 分（最初の採血時点）であった。

- GD6 と GD17 の AUC の比較から、反復投与による蓄積はみられなかった（蓄積係数 =0.96～1.06）。

表 2.6.6-24　妊娠ラット（GD17）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	**30**	**100**
Sex and no. per group	**9F (3 per time point)**	**9F (3 per time point)**
C_{max} (µg/mL)	575	1998
t_{max} (h)	0.083	0.083
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL)	1925	6456
DPF	1.00	1.01

Source: Module 4.2.3.5.2-2 ([redacted]35986)
$AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 23 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; GD=gestation day; h=hour; LLOQ=lower limit of quantification; NA=not applicable; no.=number; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}
Note: When comparing AUC values from this table with Module 2.6.4, Table 2.6.4-11, consider that values were harmonized to represent 1 weekly dosing interval, as described in the Module 2.6.4, Table 2.6.4-11 footnote. DPF is based on AUC.

サテライト動物（母動物）全例でエフガルチギモドの曝露が確認され、ADA の影響も受けていないと判断されたことから、ADA の測定は行わなかった。

結論として、TK 解析結果から妊娠ラットへのエフガルチギモドの曝露が確認された。

局所又は全身毒性の徴候はなく、母動物／胎児／胚毒性は報告されず、生殖パラメータに影響はなかった。母動物毒性及び胎児毒性の NOAEL は、100 mg/kg/日と確立された。最高用量の 100 mg/kg/日群を含め、いずれの投与群にも潜在的な催奇形性を示唆する徴候は認められなかった。当該用量における GD17 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23h}$ は、それぞれ 1998 µg/mL 及び 6456 µg·h/mL であった。

2.6.6.6.2.2.　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料番号: 4.2.3.5.2-3

4.2.3.5.2-4

ニュージーランドホワイトウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、4.2.3.5.2-4）のためのエフガルチギモドの用量レベルを明らかにし、主要な in vivo 薬理作用である IgG の減少を確認し、妊娠動物における約 120 秒間の緩徐なボーラス静脈内投与を用いた 1 日 1 回反復静脈内投与の忍容性を評価するための、DRF 試験（生存期間は GLP 適用、4.2.3.5.2-3）を実施した。バリデートされた方法（2.6.4.2.1 項）を用いて、DRF 試験での血清中エフガルチギモド濃度を GLP 非適用で測定した（4.2.1.1-9）。

GD6～GD28 の雌ニュージーランドホワイトウサギ（各群 3 例）に、エフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）を 0（溶媒対照群）又は 10～100 mg/kg/日（エフガルチギモド投与群）の用量で連日ボーラス静脈内投与した。

投与期間全体にわたるエフガルチギモドの曝露が、全てのエフガルチギモド投与群で確認され、IgG 減少も全てのエフガルチギモド投与群で確認された。IgG 濃度のエフガルチギモド

投与前と比較した平均最大減少率は、エフガルチギモド 10、30 及び 100 mg/kg の反復静脈内投与後にそれぞれ 53%、62%及び 69%であった。

妊娠ウサギにおけるこの 1 日 1 回の投与スケジュールは許容できるものであり、局所刺激性の徴候はみられず、エフガルチギモド投与は良好な忍容性を示した。妊娠が確認された母動物は剖検して肉眼的に評価した（各用量群で 2～3 例）。母動物毒性、全般の生殖パラメータ及び胎児の検査結果から NOAEL は、最高用量の 100 mg/kg/日と判断された。本試験成績を 2.6.7.11 項に要約した。

胚・胎児発生に対するエフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）の影響を評価するため、妊娠ニュージーランドホワイトウサギを用いて主要な GLP 適用試験である胚・胎児発生に関する試験を実施した（4.2.3.5.2-4）。エフガルチギモドを 0（溶媒）、30 及び 100 mg/kg/日の用量で GD6 から GD28 まで 1 日 1 回静脈内投与した。GD29 に帝王切開して肉眼的に観察した（表 2.6.6-25）。

表 2.6.6-25　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験のデザイン

Group	**IV dose (mg/kg/day)**	**No. of doses**	**Number and sex of animals**
			Main study group
			F
1	0[a]	23	20
2	30	23	22
3	100	23	21
			Cesarean section: GD29

Source: Module 4.2.3.5.2-4 ([redacted]35988)
ADA=anti-drug antibody; F=female; GD=gestation day; IV=intravenous; no.=number; TK=toxicokinetics
Note: Blood samples were collected from 3 dams per group at each blood sampling time point for assessment of efgartigimod concentrations in serum on GD6 and GD28, and on days GD6, GD13, GD20, and GD28 for the measurement of potential ADA (not determined in view of unaltered TK in this study).
[a] Vehicle (0.9% saline solution)

本試験の成績を 2.6.7.13.B 項に要約した。また、エフガルチギモドの全身曝露量を評価しており、TK 解析の結果を 2.6.7.13.B 項に要約した。TK データの概要を、2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に要約した。

30 及び 100 mg/kg の反復投与後の PD 効果（IgG の減少）を DRF 試験（4.2.1.1-9、4.2.3.5.2-3）で確認した後、本試験（4.2.3.5.2-4）を開始した。

特記すべき所見を表 2.6.6-26 に要約した。局所又は全身毒性の徴候はなく、いずれの群の母動物にも被験物質に関連した早期死亡はみられなかった。30 mg/kg/日群の雌 2 例（9%）及び 100 mg/kg/日群の雌 1 例（5%）に生じた流産は、自然発生の範囲と報告された。ウサギでは自然流産が生じることが知られている［ICH S5（R3）Annex 1］。試験施設における背景データから、流産率は 0%～10%と示されている。さらに流産した母動物では、その数日前の摂餌量の低下と、蒼白で脆弱な肝臓所見が確認されており、肝細胞の空胞化（グリコーゲン貯蔵によるものと記述された）はウサギの妊娠中毒症を示すと考えられた。肝細胞の空胞化は試験施設の対照動物の 0%～25%に認められており、この所見は自然発生性と解釈された。同様に、胆管／胆のうの上皮肥厚を伴う肝臓表面の淡色巣は、ウサギの代表的な寄生虫疾患である *Eimeria stiedae* の感染（肝コクシジウム症）を示すと考えられる（Suckow, 2002）。後

者については流産と無関係な偶発所見と考えられる。胆管上皮肥厚という所見の発生率を対照動物と比較することは不可能であった。これは、異常所見部位のみを病理組織学的検査で追跡したためである。表 2.6.6-26 に要約しているように、肉眼的病理検査とその後の病理組織学的検査から、流産した母動物 1 例（100 mg/kg 群）とエフガルチギモド 30 mg/kg を投与された母動物 1 例における脾臓腫大が明らかにされた。この所見は、うっ血という病理組織学的診断を伴っていた。これは、安楽死のために使用されるバルビツレートでよく知られている作用に随伴する、終末期の事象を表していると解釈された。当該の試験施設における過去の発生率は 24%で、エフガルチギモドの投与とは関連のないものであった。

表 2.6.6-26 に記載した変化は、当該試験施設の背景データの範囲内であったこと、また用量-反応関係を示さなかったことから、いずれの変化もエフガルチギモド投与との関連はないと考えられた。全般の生殖パラメータ（着床数、吸収胚数、胎児数）について、対照群と投与群間で意義のある差はみられなかった。死亡胎児及び被験物質に関連した奇形、変異又は発達遅滞は認められなかった。

表 2.6.6-26　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の GD6～GD28 の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
New Zealand White rabbit/ female	0	0/20	- No premature spontaneous deaths - No signs of local intolerance - No abortions - No macroscopic findings, no histopathology was performed
	30	0/22	- No premature spontaneous deaths - No signs of local intolerance - Two females with abortions reported as unrelated to test article, findings including macroscopic pathology that were followed up by histopathology: Animal no. 27 (abortion unobserved during the night of GD28 to GD29). Examination upon premature euthanasia revealed: (1) Reduced food intake as of GD25/26; (2) macroscopic pathology as paleness of the liver, liver focus and enlarged bladder correlating microscopically with (3) mild vacuolation of centrilobular hepatocytes, mild periportal lymphoplasmacytic infiltration, and mild multifocal granulocytic infiltration; (4) multifocal, moderate necrosis; and (5) mild bladder epithelial hypertrophy. Animal no. 47 (abortion unobserved during the night of GD28 to GD29). Examination upon premature euthanasia revealed: Reduced food intake as of GD26/27; no macroscopic, pathological observations; histopathology was not performed. One animal (no. 36) with macroscopic findings that were followed up by histopathology: Enlarged spleen that correlated with mild spleen congestion in histopathology.
	100	0/21	- No premature spontaneous deaths - No signs of local intolerance - One female with abortion (no. 66) unrelated to test article, findings including macroscopic pathology that were followed up by histopathology: Animal no. 66 (abortion unobserved during the night of GD20 to GD21). Examination upon premature euthanasia revealed: (1) Reduced food intake as of GD19/20 and (2) macroscopic pathology of enlarged spleen correlating microscopically with mild congestion. - Eight animals with macroscopic findings that were followed up by histopathology: Five animals (nos 49, 51, 60, 68, 71) with enlarged spleen correlating with mild to moderate congestion in histopathology, where performed. 1 animal (68) with pale liver correlating with minimal periportal lymphoplasmacytic infiltration, 2 animals (53, 70) with pale and brittle liver associated with (i) minimal bile duct hypertrophy (animal 70 only); (ii) minimal periportal granulocytic multifocal infiltration (animal 70 only); (iii) mild periportal lymphoplasmacytic infiltration (all); and (iv) moderate foamy hepatocyte vacuolation (animal 53 only).
$NOAEL_{F0\ females}$: **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **$NOAEL_{F1\ litters}$:** **100 mg/kg/day** IV (bolus injection) **Teratogenicity:** **None**			

Source: Module 4.2.3.5.2-4 ([redacted]35988)
GD=gestation day; IV=intravenous; no.=number; NOAEL=no observed adverse effect level

妊娠ウサギでの曝露量を確認するため、TK 解析用の血液を各用量群あたり 3 例（母動物のみ）から各採血時点［初回投与日及び最終投与日（GD6 と GD28）の投与前、並びに投与後 5 分、2、4、8 及び 23 時間］に採取し、バリデートされた ELISA を用いて血清中エフガルチギモド濃度を測定した（2.6.4.2.1 項及び表 2.6.4-1）。

最終投与日（GD28）の代表的な TK パラメータを表 2.6.6-27 に要約した。ADA の影響は受けていないと考えられたため、このデータをヒトとの安全域の算出に用いた（2.6.4.3.2 項）。

TK 解析結果を以下に示した。

- いずれの投与群でも GD6 から GD28 の投与期間に、血清中濃度推移からエフガルチギモドの曝露が確認された。
- 雌ウサギにおける GD28 の投与後の雌ウサギでは：
  - エフガルチギモドの曝露量（C_{max} 及び AUC）は、用量に比例して増加した。
  - t_{max} は 5 分から 2 時間（投与後の最初の採血時点と 2 回目の採血時点）の間であった。一部の例では静脈周囲に投与された可能性は除外できない。
- GD6 と GD28 の AUC の比較から、1 日 1 回反復投与により軽微な蓄積が認められた。蓄積係数は 1.3～1.6 であった。

表 2.6.6-27　妊娠ウサギ（GD28）における最終静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	**30**	**100**
Sex and no. per group	**3F per time point**	**3F per time point**
C_{max} (µg/mL)	1347.2	4086.13
t_{max} (h)	0.722[a]	0.722[a]
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL)	15759	49443
DPF	1.00	0.94
R	1.61	1.32

Source: Module 4.2.3.5.2-4 ([redacted]35988)
$AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 23 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; GD=gestation day; h=hour; IV=intravenous; no.=number; R=accumulation factor; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}
Note: DPF and R are based on AUC.
[a] t_{max} was influenced by possible erroneous paravenous administration (1 animal per dose group).

母動物全例でエフガルチギモドの曝露が確認され、ADA の影響も受けていないと判断されたことから、ADA の測定は行わなかった。

結論として、TK 解析結果から妊娠ウサギへのエフガルチギモドの曝露が確認され、明らかな ADA による影響は認められなかった。

投与に関連した局所又は全身毒性の徴候、母動物／胎児／胚毒性は認められなかった。生殖パラメータに対する影響は報告されなかった。ウサギにおける母動物毒性及び胎児毒性の NOAEL は、検討した最高用量である 100 mg/kg/日と確立された。最高用量の 100 mg/kg/日群を含め、いずれの投与群にも潜在的な催奇形性の所見は認められなかった。当該用量における GD28 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23h}$ は、それぞれ 4086.13 µg/mL 及び 49443.1 µg·h/mL であった。

2.6.6.6.3.　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ラット）

添付資料番号: 4.2.3.5.3-1

SD 系雌ラットを用いた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（GLP 適用、4.2.3.5.3-1）において、妊娠／哺育母動物及び胎児と出生児の発生・成長に対するエフガルチギモドの潜在的影響を、着床から離乳までの F0 世代母動物にエフガルチギモド（バッチ番号[redacted]）をボーラス静脈内投与して検討した。本試験では母動物への影響、並びに F1 及び F2 世代の死亡、形態異常、機能の発達又は成長への影響も評価した。

試験開始時の日齢は 62 日齢であった。交配後の雌ラットの GD6 から授乳日齢 21 日（LD21）まで、エフガルチギモドを 0（溶媒）、30 又は 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回静脈内投与した。対照動物には溶媒を投与した。総投与期間は 6 週間以上であった。死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、摂水量及び生殖機能パラメータを評価した。母動物を分娩させ、産児数、出生児の性別、出生児の体重及び一般状態観察を評価した。出生児の身体的発達を耳介の展開、切歯の萌出、外耳道の開通、眼瞼開裂及び性成熟（包皮分離、及び腟開口）により評価した。離乳後、F1 の出生児にオープンフィールド試験、反射試験及び受動的回避試験を行った。F1 出生児を交配させ、交配及び妊娠に関する生殖能を評価した。F1 の親動物の一般毒性及び生殖毒性を検討した。F2 の出生児について胚から出生までの出生前発生を評価した。生殖能パラメータは、1 腹あたりの着床数、産児数、生存出生児数及び死亡産児数、出生率であった。F2 の出生児については出生日から性成熟までの発達・成長を観察した。F1 及び F2 世代の動物には投与しなかった。さらに採血のみを目的として、21 例のサテライト動物をこの試験に割り付けた（表 2.6.6-28）。

表 2.6.6-28　ラットを用いた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のデザイン

Group	IV dose (mg/kg/day)	No. of doses	Number of animals (F0 generation)	
			Main study group	Satellite animals
1	0[a]	F0: At least 42 (approximately 21 days during gestation and 21 days during lactation)	20	3
2	30		21	9
3	100		19	9
			Necropsy: LD21	No necropsy

Source: Module 4.2.3.5.3-1 ([redacted]35989)
ADA=anti-drug antibody; F=female; GD=gestation day; IV=intravenous; LD=lactation day; no.=number; TK=toxicokinetics
Note: Blood from satellite animals was used for the measurement of efgartigimod concentration in serum on GD6, GD17 and LD21, and potential ADA (not determined in view of unaltered TK in this study).
[a] Vehicle (0.9% saline solution).

本試験成績及び TK 解析の結果を 2.6.7.14 項に要約した。また、TK 解析結果の概要を、2.6.7.3 項及び 2.6.4.3.2 項に示した。

本試験の実施中、毒性所見はみられず、エフガルチギモド投与による影響と考えられる F0 世代の死亡はみられなかった（表 2.6.6-29）。100 mg/kg/日の母動物 1 例は GD21 に死亡し、流産の徴候（腟出血と子宮内の着床胚吸収）がみられた。本例には GD17／18 以降に摂餌量減少が認められた。剖検時の肉眼的観察では肝臓（蒼白、肥大）、脾臓腫大、胃（数カ所の

出血巣）、膣（出血）、及び副腎（赤色化、腫大）が認められた。これらは偶発所見と判断された。脾臓腫大は、出血又は末期うっ血の併発を伴う髄外造血亢進を示唆すると考えられた。この 1 例の死亡はエフガルチギモド投与と関連はなく、流産に随伴した変化であると考えられた。

エフガルチギモド投与群におけるその他の自然発生所見として、F0 及び F1 世代における出生率及び受胎率の軽度低下（これは孤発例によるものであり、背景データの範囲内であった）、並びに F1 出生児 1 例に失調性歩行がみられた。全ての所見は孤発性の発現であり、既存の背景データの範囲内であり、発現の状況に一貫性がなく、また用量とも関係していなかった。

要約すると、エフガルチギモド投与に関連すると考えられる F0 母動物の妊娠期間、出生率又は哺育に対する影響は認められなかった。F1 又は F2 世代の出生児の出生前及び出生後の成長・発達については、F0 母動物にエフガルチギモドを 100 mg/kg/日まで投与しても有害な影響は認められなかった。この用量では、出生前発生（出生率及び生存出生率、出生児数）並びに出生後の成長・発達（出生児体重、生存率、身体的及び機能的発達）に関して F1 出生児に対するエフガルチギモドの影響はみられなかった。さらに、F2 児の出生前発生（出生率及び生存出生率、出生児数）並びに出生後発生（出生児体重、生存率）に対する被験物質に関連した影響はみられなかった。

表 2.6.6-29　ラットを用いた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の GD6～LD21 の主な所見

Species/ sex	Dose (mg/kg)	Mortality	Noteworthy findings
SD rat/ female	0	0/20	- F0 generation: No premature death, no signs of local intolerance - F1 generation: No findings on reproduction parameters, 7 F1 pups found dead during lactation period, - F2 generation: Six spontaneous cases of hydrocephalus, 11 pups found dead during lactation period
	30	0/21	- F0 generation: No premature death, no signs of local intolerance, 1 pregnant female without viable pups (1 stillborn pup), leading to slightly reduced gestation index considered to be within the spontaneous range - F1 generation: Two F1 pups found dead during lactation period, 1 female with total loss of implants, slightly reduced fertility parameter compared with controls within spontaneous range, 1 female with total implantation loss of two implants resulting in a slightly lower gestation index - F2 generation: One dam with total resorptions of implants. No influence on birth and survival indices of F2
	100	[1]/19	- F0 generation: One spontaneous premature death: One F0 dam (animal number 65) was found dead on GD21 (time of partum) revealing signs of incipient abortion, reported as unrelated to test article. Examination revealed: (i) reduced food intake as of GD17/18, (ii) macroscopic pathology: pale and thickened liver, stomach with few hemorrhagic foci (diameter <1 mm), vagina with hemorrhage, reddened enlarged adrenal glands, and enlarged spleen. No histopathology was performed - No signs of local intolerance - Slightly reduced gestational length within the range of HCD - F1 generation: Five F1 pups found dead and 1F1 pup was euthanized during lactation period, postweaning period: Four pups from 1 litter with ataxia, but no further findings, slightly reduced fertility parameter compared to controls within spontaneous range - F2 generation: Sixteen pups found dead during the lactation period (15 from 1 litter)
$NOAEL_{F0\ dams}$:	**100 mg/kg/day** IV (bolus injection)		
$NOAEL_{F1\ Pups}$:	**100 mg/kg/day** IV (bolus injection) - (treatment of the F0 generation)		
$NOAEL_{F1\ Parents}$:	**100 mg/kg/day** IV (bolus injection) - (treatment of the F0 generation)		
$NOAEL_{F2\ Pups}$:	**100 mg/kg/day** IV (bolus injection) - (treatment of the F0 generation)		

Source: Module 4.2.3.5.3-1 ([redacted]35989)
GD=gestation day; HCD=historical control data, IV=intravenous; LD=lactation day; NOAEL=no observed adverse effect level

妊娠ラットでの曝露量を確認するため、TK 解析用の血液をサテライト動物（母動物のみ）から初回投与日（GD6）、GD17 及び最終投与日（LD21）の投与前、投与後 5 分、2、4、8、23 時間に採取し、バリデートされた ELISA を用いて血清中エフガルチギモド濃度を分析した（2.6.4.2.1 項）。

最高曝露量が確認された GD17 の代表的な TK パラメータを表 2.6.6-30 に要約した。ADA の影響はほとんどないと考えられ、このデータをヒトとの安全域の算出に用いた（2.6.4.3.2 項）。

いずれの投与群でも GD6、GD17 及び LD21 の血清中濃度推移からエフガルチギモドの曝露が確認された。

妊娠ラットの GD17 での投与後の TK 解析結果を以下に示した。

- エフガルチギモドの曝露量（C_{max} 及び AUC）は、概ね用量に依存して増加した。
- t_{max} は最終投与後 5 分（最初の採血時点）であった。
- GD6 と GD17 又は LD21 の曝露量の比較から、蓄積係数は 0.9～1.1 で反復投与による明らかな蓄積はみられなかった（4.2.3.5.3-1 項）。

表 2.6.6-30　妊娠ラット（GD17）における静脈内投与後のエフガルチギモドの TK パラメータ（平均値）

Dose (mg/kg/day)	**30**	**100**
Sex and no. per group	**9F (3 per time point)**	**9F (3 per time point)**
GD17		
C_{max} (µg/mL)	960	3042
t_{max} (h)	0.083	0.083
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL)	2723	10702
DPF	1.00	1.18

Source: Module 4.2.3.5.3-1 ([redacted]35989)
$AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve (AUC) from time zero to 23 hours postdose; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; h=hour; GD=gestation day; LLOQ=lower limit of quantification; NA=not applicable; no.=number; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}
Note: When comparing AUC values from this table with Module 2.6.4, Table 2.6.4-11, consider that values were harmonized to represent 1 weekly dosing interval, as described in the Module 2.6.4, Table 2.6.4-11 footnote.

母動物全例でエフガルチギモドの曝露が確認され、ADA の影響も受けていないと判断されたことから、ADA の測定は行わなかった。

結論として、TK 解析結果から妊娠ラットへのエフガルチギモドの曝露が確認された。

F0 世代の母動物並びにその子孫である F1 及び F2 世代に対してエフガルチギモドは影響を及ぼさなかった。一般毒性及び生殖毒性に関する F0 世代への影響に関する NOAEL は、100 mg/kg/日であった。F1 出生児、親となった F1 世代、及び F2 出生児の出生前及び出生後の発生・発達（胚から離乳まで）の NOAEL は、100 mg/kg/日であった。

最高用量の 100 mg/kg/日群を含め、いずれの投与群にも潜在的な催奇形性を示唆する所見は認められなかった。母動物（F0）に 100 mg/kg/日を投与したとき、GD17 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23h}$ はそれぞれ 3042 µg/mL 及び 10702 µg·h/mL であった。

2.6.6.7.　局所刺激性試験

添付資料番号: 4.2.3.6-1

げっ歯類及び非げっ歯類の単回及び反復投与の一般毒性試験の一環として、注射部位・投与部位の病理検査から局所刺激性を検討した。個々の試験成績は 2.6.7 項に記載した。

これらの試験では、エフガルチギモドを 20 mg/mL 溶液（25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン、0.02%ポリソルベート 80、pH 6.7）として調製し、これを 0.9%生理食塩液で希釈して適切な希釈倍率にして試験に使用した。この調製液は臨床で使用するものと同一であった。生殖発生毒性試験におけるエフガルチギモドは、同じ調製液に追加組成として 10 mmol/L L-メチオニンを添加し、100 mg/kg までの 1 日量を投与した。生殖発生毒性試験における局所刺激性は、一般状態観察の一環としてモニターした。

ラットでは、エフガルチギモドを 0.9%生理食塩液に希釈して 100 mg/kg までの用量で投与した。得られた最終製剤には 25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン（±メチオニン）、0.02%ポリソルベート 80 が含有されていた（pH 6.7）。これを 10 mL/kg 体重の投与液量で 1 日 1 回又は 1 日 2 回の投与頻度でボーラス静脈内投与したとき、良好な忍容性が認められた［2.6.6.3.1 項（4.2.3.2-1）、2.6.6.6.1 項（4.2.3.5.1-1）、2.6.6.6.2.1 項（4.2.3.5.2-2）及び 2.6.6.6.3 項（4.2.3.5.3-1）］。

ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験［2.6.6.6.2.2 項（4.2.3.5.2-4）］では、エフガルチギモドを 100 mg/kg までの用量（投与液量 5 mL/kg 体重）で 1 日 1 回の頻度で投与した。最終製剤は 25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン（+メチオニン）、0.02%ポリソルベート 80 を含有していた（pH 6.7）。23 日間緩徐にボーラス静脈内投与したとき、局所刺激性は認められなかった。

カニクイザルを用いた拡張型単回投与毒性試験［2.6.6.2.1 項（4.2.3.1-1）］及び 4 週間反復投与毒性試験［2.6.6.3.2 項（4.2.3.2-2）］では、2 時間の持続静脈内投与により投与部位に影響が認められた。使用した製剤は臨床製剤であり、5 mL/kg 体重の投与液量で投与された。エフガルチギモド 50 mg/kg 以上の単回投与後には可逆的な急性炎症又は壊死が［2.6.6.2.1 項（4.2.3.1-1）］、又は 2 日に 1 回の投与頻度及び 100 mg/kg の用量で 4 週間の反復投与後には肉芽組織及び血栓／再疎通が認められた［2.6.6.3.2 項（4.2.3.2-2）］。それぞれの回復期間終了時までにはこれらの所見は回復し、毒性学的に重要でないと判断された。これらの 2 試験に使用したエフガルチギモド（バッチ番号 [redacted]）にはエンドトキシンが含まれており、このことが所見発現に寄与した可能性が高く、したがってこれらの影響はエフガルチギモドに起因するものではない可能性が考えられる。これらの所見のヒトへの関連性については、2.6.6.9 項で考察した。

カニクイザル 26 週間反復投与毒性試験［2.6.6.3.3 項（4.2.3.2-3）］では、使用した製剤は臨床製剤であり、最高用量である 100 mg/kg を 5 mL/kg 体重の投与液量で 0.5 時間かけて静脈内投与した。合計 27 回の投与後に、投与部位の局所刺激性を示唆する影響は認められなかった。投与部位の血腫が、対照群を含む全投与群で同様の発現率で認められた。出血には皮下組織の急性炎症、色素沈着、壊死、肉芽組織及び血管炎（血管周囲炎）を随伴していたが、エフガルチギモド投与との間に明確な関連性又は用量相関性はみられなかった（2.6.6.3.3 項）。したがって、投与部位でみられた変化は、エフガルチギモドの局所刺激性を示唆するものではないと判断された。

皮下投与の可能性を裏づけるために開発された皮下投与製剤のエフガルチギモド（20 mmol/L ヒスチジン、60 mmol/L ショ糖、100 mmol/L 塩化ナトリウム、0.04%ポリソルベ

ート 20 を含む 150 mg/mL エフガルチギモド溶液、pH 6.0）を用いて行った局所刺激性試験（GLP 適用、4.2.3.6-1）から、補足的なデータが得られた。ウサギに対しエフガルチギモドを 1 mL の単回投与（静脈内、動脈内、皮下）及び 0.25 mL の単回投与（静脈周囲及び筋肉内）を実施し、投与後 48、96 時間及び 14 日まで観察した（表 2.6.6-31）。本試験ではエフガルチギモドの良好な忍容性が認められ、対照群と比べていずれの投与経路でも忍容性に相違は認められなかった。

表 2.6.6-31　ウサギを用いた局所刺激性試験のデザイン

Species	Method of administration	Doses	Number and sex of animals per follow-up period			Results
			48 hours	96 hours	14 days	
			F	F	F	
Rabbit/ New Zealand White	IV, IA, SC, PV, IM routes left-right comparison: Left side (control): 0[a] versus right side: Efgartigimod, administered in an equal volume for each route of administration	IV, IA, SC: 150 mg per animal in 1 mL volume PV, IM: 37.5 mg per animal in 0.25 mL volume	2	2	2	Well tolerated. No difference in tolerability after IV, IA, SC, PV, or IM administration compared with the control (vehicle) injections.

Source: Module 4.2.3.6-1 ([redacted]34857)
F=female; IA=intra-arterial; IM=intramuscular; IV=intravenous; PV=paravenous; SC=subcutaneous
[a] Vehicle (formulation buffer solution)

結論として、エフガルチギモド製剤（25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン、0.02%ポリソルベート 80、pH 6.7）を患者に静脈内持続投与したときに局所刺激反応が生じるリスクは低いと考えられる。

2.6.6.8.　その他の毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.7.7-1

4.2.3.7.7-2

4.2.3.7.7-3

GLP 適用試験を支持する被験物質及び標準物質は、OECD の GLP 原則及び欧州医薬品庁（EMA）の最新 GMP ガイドラインに従って特性解析された。[redacted]（ドイツ、[redacted]）で実施された毒性試験（4.2.3.7.7-1、4.2.3.7.7-2）、並びに[redacted]（フランス、[redacted]）で実施された PK 及び安全性薬理試験（4.2.1.3-1）を支持するための試験法が開発・バリデートされた。安全性薬理試験の試験法は、[redacted]（オランダ、[redacted]）で開発・バリデートされた（4.2.3.7.7-3）。

正確度、精度及び安定性に関するバリデーションの結果を、2.6.7.17 項に要約した。

2.6.6.9.　考察及び結論

エフガルチギモドの毒性及び TK プロファイルを解析するため、静脈内投与後の非臨床安全性試験を実施した。

それぞれの動物種の FcRn に対するエフガルチギモドの結合親和性が改善されたことに基づき、毒性試験の適切な動物種としてカニクイザル、ラット及びウサギを選定した。検討した全動物種において、エフガルチギモド投与後に in vivo PD 作用として内因性 IgG の減少が実証された（2.6.2.2 項）。エフガルチギモドはウサギ FcRn に対する結合親和性が他の種と比較して弱く、単回投与では十分な IgG の減少がみられなかったが、反復投与では十分な IgG の減少が実証されたことから、ウサギも適切な動物種として確認された（2.6.6.6.2.2 項）。

4 週間反復投与毒性試験においてラットとカニクイザルを比較した。エフガルチギモドのカニクイザル及びヒトの FcRn に対する結合特性が類似しており、さらにラットとサルの 4 週間反復投与毒性試験において、投与に関連する所見に明らかな差がないことから、26 週間反復投与毒性試験では最適な動物種としてカニクイザルを選択した（2.6.6.1 項）。

単回投与毒性試験

カニクイザルを用いてエフガルチギモドの単回投与毒性を検討したところ、エフガルチギモド投与に関連した全身毒性の徴候は認められなかった。NOAEL は、最高用量である 100 mg/kg と判断された（2.6.6.2.1 項）。

反復投与毒性試験

反復投与後のエフガルチギモドの毒性を、ラットに 4 週間にわたり静脈内投与し、さらにカニクイザルに 4 及び 26 週間にわたり静脈内投与して検討した（2.6.6.3 項）。

ラット及びサルを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、エフガルチギモドを合計 15 回投与した。これらの試験から、エフガルチギモドの良好な忍容性が認められ、30 mg/kg q2d（2 日に 1 回投与）以下の用量ではエフガルチギモド投与に関連すると考えられる毒性徴候は認められなかった。100 mg/kg q2d の用量では、肝臓に可逆的な病理組織学的変化が認められたが、これらの所見は、以下に示した根拠、並びに高用量群でのみ認められたこと及び概ね軽度であり、エフガルチギモドの薬理学的作用には関連しないと考えられることから、ヒトの臨床使用に際し、同様の影響が発現する可能性はないと考えられる。

ラット（2.6.6.3.1 項）では可逆的な軽微から軽度のクッパー細胞肥大／増加が認められた。クッパー細胞は類洞内腔に存在し、貪食能を有している。これらは脂質とタンパク質を異化し、異物（金のナノ粒子、静脈内脂質）、変性細胞含有物及び被験物質（化学物質）を取り込んだ後には肥大／増加が生じると報告されている。また、赤血球が抗体免疫複合体と結合してこの複合体を肝臓内のクッパー細胞に引き渡し、その後このクッパー細胞が複合体を取り込んで異化することも示されている（Thoolen, 2010、NTP, 2014、Thomas, 2019）。エフガルチギモドのラットを用いた反復投与毒性試験では肝酵素の上昇又はその他の肝臓の病理組織学的変化（炎症、変性など）は認められなかった。クッパー細胞肥大／増加は毒性変化とみなされたが、軽度かつ回復性のある変化であり、肝機能又は動物の全身状態には関連する明らかな影響はなかった。エフガルチギモド投与とクッパー細胞の変化の生物学的関係は不明である。クッパー細胞の活性化は、補体及びクッパー細胞上の Toll 様受容体（TLR）を介して生じると考えられている。しかし、エフガルチギモドは抗原結合（Fab）領域を持たないことから、補体を活性化する可能性はない（2.6.2.3.1.1 項）。また、通常はクッパー細胞の活性化によってクッパー細胞の肥大／増加が生じることはない。同様に、他の細網内皮系内の固定マクロファージにおける影響も認められなかった。カニクイザルでは免疫複合体を介し

た過敏症の一部として、肝臓内のクッパー細胞と類洞壁細胞の過形成が報告されている（Rojko, 2014）。一方で、多くのバイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性試験はヒト以外の霊長類のみを用いて実施されているため、ラットにおいてこれに相当するデータは乏しいが、Rojko ら（2014）は、高用量のヒトタンパク質をラットに投与しても免疫複合体の沈着や病理所見は検出しなかったことを報告しており、エフガルチギモドのラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験でも、免疫複合体に関連すると考えられる病理所見（血管炎、糸球体腎炎など）は認められなかった。肝臓全体のクッパー細胞の分布と機能は均一ではなく、部位の違いがびまん性の帯状過形成の印象を与える可能性も考えられる。例えば、正常なラットの小葉周辺領域のクッパー細胞数は、小葉中心領域のそれの 1.6 倍になることがあり、また個体間差も大きいことが知られている（Kiyotoshi, 1982）。これらの要因は 1 つの交絡因子になり得る。

カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 項）では高用量群（100 mg/kg q2d 投与群）において、免疫系における一過性の活性化の徴候（LUC の割合と数の増加）とともに、肝細胞毒性（変性、炎症性細胞浸潤、ALAT 上昇）が認められた。30 mg/kg 群でも LUC の増加がみられたが、肝毒性の徴候は認められなかった。これらの影響はカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験では認められなかった（2.6.6.3.3 項）。この 26 週間反復投与毒性試験における 100 mg/kg 投与群のエフガルチギモドの C_{max} は、4 週間反復投与毒性試験と同程度であり、週あたりの曝露量に標準化された AUC も同程度であった（2.6.4.3.2 項）。LUC の増加及び肝毒性は、カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 項）及び拡張型単回投与毒性試験（2.6.6.2.1 項）に使用したエフガルチギモドのバッチ [redacted] 中に存在していたエンドトキシン（細菌由来 LPS）によるものと考えられた。カニクイザルに 10 µg/kg 以上の LPS を単回静脈内投与した場合、LUC が増加し ALAT が上昇する（3 倍）ことが知られている（Picha, 2004）。ALAT の上昇は多くの場合、肝細胞の明らかな障害を示す。ヒト以外の霊長類における、エンドトキシン／LPS 曝露後の肝臓の病理組織所見に関する情報はないものの、LPS を投与されたラットにおける明らかな肝細胞の損傷は広く認められている。本試験において 1 回の投与あたりのエンドトキシン量は約 3 ng/kg であったが、2 日に 1 回の頻度で合計 15 回投与されていたことから、エンドトキシンによる影響が増悪したと考えられる。また、単一の標準 LPS 試薬がなく、様々な細菌が様々な生物学的効力を有するエンドトキシンを産生することから、エンドトキシンによる影響を動物種間で外挿すること、並びに LPS の用量に関する情報を文献で比較することは困難である（Yokochi, 1989）。LPS の影響を正確に評価するためには、主要なサイトカインの測定と、さらに理想的には体温と血圧のモニタリングが必要であるが、これらの評価項目は本試験の計画には含まれていなかった。しかし、カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験で免疫活性化又は肝毒性の徴候は認められなかったこと、並びに LUC 及び肝細胞に対してエフガルチギモドが直接作用するという生物学的蓋然性がないことから、カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験で認められた所見発現は、エフガルチギモド中に含まれていたエンドトキシンに起因している可能性が高いと考えられる。さらに、エフガルチギモドの臨床試験でも肝毒性のリスクは報告されていない（2.5 項）。

ラット又はカニクイザルのいずれかで認められた毒性所見から、エフガルチギモドの副次的薬理作用の可能性は低いと考えられる。これは、（i）薬理試験において副次的薬理作用及び非特異的な組織結合が認められなかったこと（2.6.2.3 項及び 2.6.2.2.2.2 項）、並びに（ii）ヒト Fcγ 受容体（FcγR）のサブタイプである FcγRIIIa（CD16a）及び FcγRIIa 又は FcγRIIb（CD32a 又は CD32b）へのエフガルチギモドの結合は、野生型 Fc と比べて低く（2.6.2.3.1.1 項）、さらにエフガルチギモドはアビディティ及び架橋結合を促進する Fab 領域を有していない。したがって ADCC 及び CDC 系を直接活性化する可能性は極めて低いと考えられる（2.6.6.3.2 項）。また、リンパ球イムノフェノタイピングを含む血液学的検査に変動は認められなかった（2.6.6.2 項及び 2.6.6.3 項）。

カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）において、投与部位で認められた投与に関連した可逆的な病理組織学的所見として、肉芽組織と関連した硬結及び血栓形成／再疎通が認められた。これらの変化も、エフガルチギモド（パイロットバッチ：[redacted]）中に含まれるエンドトキシンに起因する可能性が考えられた。同様に、同じパイロットバッチを用いたカニクイザルの拡張型単回投与毒性試験（4.2.3.1-1）でも投与部位の可逆的な軽度又は中等度の急性炎症が認められた。その他の非臨床毒性試験では投与部位の反応は認められていない。LPS によって、皮下投与部位の組織の血管閉塞を含む炎症性の組織学的変化が生じることが知られており（Yokochi, 1989、Piguet, 1993）、静脈穿刺部から投与液の一部が漏出した可能性が考えられる。

以上を要約すると、4 週間反復投与毒性試験で認められた可逆性の所見は、エフガルチギモドの薬理作用に関連する可能性は低いことから、臨床使用において安全性上の問題となる可能性は低いと考えている。

26 週間反復投与毒性試験では、カニクイザルにエフガルチギモドを 0（溶媒）、10、30 及び 100 mg/kg q7d（週 1 回）の用量で 26 週間にわたり反復静脈内投与した（1 例あたり計 27 回の投与を行った。2.6.6.3.3 項）。週 1 回の投与頻度は予定されている臨床使用時の用法を反映している。一般状態観察、体重、摂餌量・摂水量、心電図、循環器系機能検査、臨床検査診断（血液生化学的検査パラメータ、凝固系を含む血液学的検査パラメータ、尿検査パラメータ）、視覚及び聴覚検査、相対及び絶対器官重量及び骨髄検査（M／E 比）の結果から、エフガルチギモド投与各群の全てのサルにおいて良好な忍容性が示された。前述したラット及びカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験で認められた所見は、26 週間反復投与毒性試験では認められなかった。すなわち：

- ALAT 又はその他の肝臓特異的な生化学的パラメータの変動、及び LUC の増加は認められなかった。リンパ球イムノフェノタイピングでは、検討した細胞サブセットの組成又は活性化の程度に、エフガルチギモド投与に関連した変化は認められなかった。
- 肉眼的及び病理組織学的所見では、エフガルチギモド投与に関連した変化は認められなかった。
- エフガルチギモドの 26 週間の反復投与により、エフガルチギモドに関連した PD 効果を反映したパラメータに統計学的に有意な変動が認められた。すなわち、グロブリン及びγ-グロブリン濃度にエフガルチギモドに関連した減少がみられたが、アルブミン濃度に対する影響はみられなかった。

10 及び 100 mg/kg 群の 3 例に腸炎が認められたが、発現率が低かったこと、サルで既知の背景病変であること、並びに発現状況に用量相関性を認めなかったことから、自然発生性のものであり、エフガルチギモド投与との関係はないと考えられた。ヒト以外の霊長類では、細菌感染などに伴う慢性胃炎及び腸炎は比較的高頻度にみられることが知られている（Sasseville, 2010）。IgA が関与する消化管粘膜の免疫機構は、エフガルチギモドの薬理作用による影響を受けない（2.6.2.3.2 項、Pabst, 2020）。したがって、26 週間反復投与毒性試験でみられた下痢の原因は、エフガルチギモドの影響であった可能性は低いと考えられる。さらに、その他の毒性試験では、感染に関連したその他の状態悪化は報告されていない。ウサギの胚・胎児発生毒性試験のエフガルチギモド投与群で認められた *Eimeria stiedae* 感染（肝コクシジウム症）と考えられる偶発所見（2.6.6.6.2.2 項）は、対照群では当該組織の病理組織学的検査を実施していないため対照群の感染率は不明であったが、エフガルチギモド投与との関連性は認められなかった。状態悪化に関連すると考えられるその他の変化（肝重量の増加、体重減少など）は認められていなかったことから、潜在的な感染が免疫系を介して制御されていたことが示唆された（Suckow, 2002）。さらに、エフガルチギモドの臨床試験において下痢及び消化管感染リスクは認められていない（2.5 項）。

上記に基づき、NOAEL は検討した最高用量である 100 mg/kg q7d と判断した。NOAEL に基づくヒトとの安全域は C_{max} 比では 13 倍、AUC 比では 8 倍であった（2.6.4.3.2 項）。

トキシコキネティクス

全ての主要な毒性試験（GLP 適用）において、血清中エフガルチギモド濃度はバリデートされた ELISA を用いて測定した（2.6.4.2.1 項）。TK パラメータはノンコンパートメント解析を用いて評価した。さらに、全ての一般毒性試験では ADA を測定し、TK データの解釈に用いた。以下に要約した。

- ラット及びカニクイザルの単回投与毒性試験及び 4 週間反復投与毒性試験、並びに 26 週間反復投与毒性試験の TK 解析結果から、エフガルチギモド投与群では、投与期間を通して一貫してエフガルチギモドの全身曝露が確認された。全試験において ADA が検出され、ADA 産生により TK 解析結果に何らかの影響を及ぼした可能性を完全には否定できないことから、エフガルチギモドを最終投与後の TK データの解釈には注意を要する。26 週間反復投与毒性試験の数例で異常な血清中濃度推移を示したことから、これらのデータは TK 解析から除外した。
- 雌雄ラット及び雌ウサギの生殖発生毒性試験での曝露量を確認するため、エフガルチギモドを静脈内投与後の TK 解析を実施した。ADA の産生が疑われるような異常な血清中エフガルチギモド濃度推移が認められない限り、ADA の測定は実施しなかった。全試験でエフガルチギモドの曝露が確認された。

前述のとおり、ADA 産生はラット及びカニクイザルの一般毒性試験で評価した。ADA 分析法を 2.6.4.2.3 項に示した。Day 15 以前の試料では ADA の測定はほとんどできなかったが、ADA は投与期間中のエフガルチギモドの曝露に影響しなかったと示唆された。全用量群において ADA が認められ、試験終了時の ADA 発現率に用量相関性はみられなかった。カニクイザル試験では、ADA 産生はみかけの毒性所見と関連していなかった。ラットの 4 週間反復投与毒性試験でみられた可逆的な所見が免疫原性に関連している可能性は、否定できなかった。

バイオテクノロジー応用医薬品の場合、非臨床試験の供試動物種で ADA が産生されることがあるが、動物での免疫原性がヒトでの免疫原性を予測するものではない［ICH S6（R1）］。

遺伝毒性、がん原性、生殖毒性

エフガルチギモドはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、遺伝毒性試験は必要と判断されなかった。さらにエフガルチギモドの長期がん原性は実施しなかった（2.6.6.5 項）。エフガルチギモドは FcRn を標的とする作用機序であること、並びにカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験では前腫瘍性病変又は腫瘍性所見がみられなかったことに基づき、エフガルチギモドのがん原性試験は実施しなかった。

エフガルチギモドのボーラス静脈内投与により生殖発生毒性試験を実施した。これらの試験では、げっ歯類としてラットを、非げっ歯類としてウサギを使用した。ラット及びウサギは薬理学的適切性に基づき適切な動物種であり（2.6.6.9 項、2.6.2.2 項）、並びに両動物種は生殖発生毒性試験で広く用いられており、背景データも豊富である。これらの試験においてエフガルチギモドの曝露量を最大化するため 1 日 1 回の頻度で投与した。ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験ではエフガルチギモドは良好な忍容性を示した。状態悪化、早期安楽死及び流産の自然発症例は試験施設の背景データ範囲内であり、エフガルチギモド投与に関連した影響ではないと考えられた。頻繁なハンドリングが動物にストレスを与え、ウサギの試験でみられた自然流産が発現した可能性は考えられる。エフガルチギモドの生殖発生

毒性試験では雌雄の受胎能及び催奇形性、並びに出生前の発生及び出生後の成長・発達にエフガルチギモドの影響は認められなかった。

生殖発生毒性試験における母動物のエフガルチギモド曝露を血清中濃度推移により確認した。胎児の曝露は評価しなかったことから、エフガルチギモドのみかけの胎児／母動物分布比は不明である。ただし、IgG1 由来のバイオテクノロジー応用医薬品では FcRn を介して胎盤を通過することが公知の論文で報告されており、エフガルチギモドは種特異的及び妊娠期特異的に胎盤を通過する可能性がある。Ex vivo の胎盤モデルで、HN 変異体（pH 6.0 での FcRn への結合親和性が高く、pH 7.4 での FcRn への結合親和性が低い分子）は対照の抗体と比較してわずかに多く胎盤を通過し胎児に移行することが報告されている（Vaccaro, 2006）。しかし、エフガルチギモドは pH 7.4 でも FcRn への結合親和性が高いため、HN 変異体と比較して胎児側で FcRn からのエフガルチギモドの放出は少ない可能性が考えられる。結論として、エフガルチギモドが他の治療用抗体又は抗体フラグメントと同様の割合で胎盤を通過する可能性は除外できないと考えられる。

ヒトと同様に、生殖発生毒性試験に一般に使用される全ての動物種（ラット、モルモット、ウサギ、サル）での妊娠初期及び器官形成期における胎児への IgG の移行はごくわずかである（Pentsuk, 2009）。DeSesso ら（2012）が論じているように、胎児に移行する IgG 及びエフガルチギモドの量及び時期は、子宮胎盤循環の生理機能、胎盤の種類及び FcRn 発現の状態によって支配されており、非霊長類と霊長類の胎盤間で異なっている。ラットにおいて、胎児に移行する総 IgG 量は出生まで低く保たれ、母動物の IgG に対する産後曝露が量的に重要である（Pentsuk, 2009、DeSesso, 2012）。しかし、ラットは主要な器官形成期に FcRn を介した IgG の移行が生じ、比較的早期の胚への曝露が予想される唯一の動物種であり、発生毒性リスクの高感度の評価が可能である（DeSesso, 2012）。さらに、母動物の IgG 及びエフガルチギモドのような Fc を有するバイオテクノロジー応用医薬品の出生後の曝露が、霊長類に比べて高いことからも、この期間に関して意義のある高感度のモデルとなると考えられる。以上のことから、一連の FEED 試験、EFD 試験及び PPND 試験はラットを用いて実施した。

妊娠ウサギにおける IgG の移行の時期及び量はヒトと同程度であり、器官形成期の終了時に始まる（GD18 前後）。これにより器官形成期での胎児の曝露は生じないか低いレベルであり、妊娠末期（GD31 前後）に母動物に近いレベルとなる（Pentsuk, 2009、DeSesso, 2012）。ウサギの EFD 試験において、自然流産が中及び高用量群の 3 例に生じたが、これは当該試験施設における背景データの範囲内であった。この原因は完全には確認されていないが、背景にあった感染又はストレスが妊娠中毒症と関係した可能性は否定できない。生殖発生毒性試験には一般にウサギが使用されるが、これはストレスを受けやすいことが知られており、ウサギ胚・胎児毒性試験における毎日のハンドリングと投与が、この母動物でみられた背景的な状態悪化に寄与した可能性がある。加えてこれらの動物種では自然流産が生じることが知られている（ICH S5）。

以上のように、ラット及びウサギで検討した個々の生殖発生毒性試験での NOAEL は、最高用量である 100 mg/kg/日と判断された。

局所刺激性

エフガルチギモドの局所刺激性に関する評価から、患者に 25 mmol/L リン酸ナトリウム、100 mmol/L 塩化ナトリウム、150 mmol/L アルギニン、0.02%ポリソルベート 80 を含有するエフガルチギモド製剤（pH 6.7）を静脈内投与したとき、局所刺激性反応がみられるリスクは低いと結論付けられた。ほとんどの関連するデータが、ラット 4 週間反復投与毒性試験及びカニクイザル 26 週間反復投与毒性試験に組み込まれていた局所刺激性の指標から提供され、

また、エフガルチギモドの皮下投与用製剤を用いて局所刺激性のみを検討した試験のデータからも裏づけられている（2.6.6.7 項）。

カニクイザルの単回及び 4 週間反復投与毒性試験に用いられた局所刺激性指標については、USP 30 の勧告を上回るエンドトキシンが被験物質に含まれたことで、解釈が複雑なものとなった（2.6.6.2.1 項及び 2.6.6.3.2 項）。

全体の結論

以上のように、ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験、カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、並びにウサギを用いた局所刺激性試験においてエフガルチギモドの安全性について検討した。エフガルチギモドは良好な忍容性を示し、ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験では 30 mg/kg/q2d までの用量で、またカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験では 100 mg/kg/q7d までの用量で、エフガルチギモドの投与に関連した有害作用は認められなかった。

ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（NOAEL＝30 mg/kg q2d）においてみられた可逆性の所見の程度はいずれも概ね軽度であり、完全な回復性を示した。また、ラットでは免疫原性に関連した影響と考えられ、カニクイザルではエフガルチギモド中に含まれていたエンドトキシンによって増強されたと考えられたことから、治療用量ではヒトに生じる可能性は低いと考えられる。さらに、エフガルチギモドの臨床試験において下痢又は肝毒性のリスクは報告されていない（2.5 項）。

ラット及びウサギに対してエフガルチギモドを最高 100 mg/kg/日まで静脈内投与しても母動物毒性及び催奇形性の徴候は認められず、ラットに最高 100 mg/kg/日まで静脈内投与しても雌雄の受胎能及び出生前の発生及び出生後の成長・発達にエフガルチギモドの影響は認められなかった。

毒性試験に使用した各動物種においてエフガルチギモド製剤の静脈内投与後の明らかな局所刺激性は認められなかった。エフガルチギモド製剤のヒトへの静脈内投与に対し懸念される知見は得られなかった。

結論として、毒性試験に使用した各動物種において 100 mg/kg 以下の用量で静脈内投与したとき、エフガルチギモドは良好な忍容性を示し、ヒトに対してエフガルチギモドを静脈内投与する際に、懸念される毒性兆候は認められなかった。

2.6.6.10.　参考文献

Chamanza R, Marxfeld HA, Blanco AI, Naylor SW, Bradley AE. Incidences and range of spontaneous findings in control cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies. *Toxicol Pathol*. 2010;38(4):642-57.

DeSesso JM, Williams AL, Ahuja A, Bowman CJ, Hurtt ME. The placenta, transfer of immunoglobulins, and safety assessment of biopharmaceuticals in pregnancy. *Crit Rev Toxicol*. 2012;42(3):185-210.

Kiyotoshi S. Kupffer cell hyperplasia in rats intoxicated by carbon tetrachloride as demonstrated by scanning electron microscopy. *Gastroenterol Jpn*. 1982;17(5):422-9.

National Toxicology Program (NTP). Liver, Kupffer Cell - Hyperplasia - Nonneoplastic Lesion Atlas. 2014. Nih.gov. https://ntp.niehs.nih.gov/nnl/hepatobiliary/liver/kchyper/index.htm. Accessed August 6, 2020.

Pabst O, Slack E. IgA and the intestinal microbiota: the importance of being specific. *Mucosal Immunol*. 2020;13(1):12-21.

Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2009;86(4):328-44.

Picha KM, Tam SH, Khandekar VS, Soderman AR, Martin EC, Jordan RE, et al. Effects of lipopolysaccharide on toxicologically important endpoints in cynomolgus macaques. *Preclinica*. 2004;2(6):427-34.

Piguet PF, Vesin C, Ryser JE, Senaldi G, Grau GE, Tacchini-Cottier F. An effector role for platelets in systemic and local lipopolysaccharide-induced toxicity in mice, mediated by a CD11a- and CD54-dependent interaction with endothelium. *Infect Immun*. 1993;61(10):4182-7.

Rojko JL, Evans MG, Price SA, Han B, Waine G, DeWitte M, et al. Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: review and case studies. *Toxicol Pathol*. 2014;42(4):725-64.

Sasseville VG, Mansfield KG. Overview of known non-human primate pathogens with potential to affect colonies used for toxicity testing. *J Immunotoxicol*. 2010;7(2):79-92.

Suckow MA, Brammer DW, Rush HG, Chrisp CE. Biology and diseases of rabbits. *Laboratory Animal Medicine*. 2002;329-64.

Thomas VA, Balthasar JP. Understanding inter-individual variability in monoclonal antibody disposition. *Antibodies (Basel)*. 2019;8(4):56.

Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, Nyska A, Rousseaux C, Nolte T, et al. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicol Pathol*. 2010;38(7 Suppl):5S-81S.

Vaccaro C, Bawdon R, Wanjie S, Ober RJ, Ward ES. Divergent activities of an engineered antibody in murine and human systems have implications for therapeutic antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(49):18709-14.

Yokochi T, Inoue Y, Miyadai T, Kimura Y, Ito H, Kato N. A possible correlation between histological changes in regional subcutaneous tissue induced by bacterial lipopolysaccharides and their adjuvant activities. *Microbiol Immunol*. 1989;33(9):747-60.

販売名
ウィフガート点滴静注 400mg
医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.7　毒性試験概要表

アルジェニクスジャパン株式会社

目次

2.6.7. 毒性試験概要表 3
2.6.7.1. 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2. トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3. トキシコキネティクス試験成績の一覧 8
2.6.7.4. 毒性試験：　被験物質（バッチ毎）一覧 15
2.6.7.5. 単回投与毒性試験 18
2.6.7.6. 反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験 19
2.6.7.7. 反復投与毒性試験 20
2.6.7.7.A. ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験 20
2.6.7.7.B. サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験 38
2.6.7.7.C. サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復試験 56
2.6.7.8. In vitro 遺伝毒性試験 76
2.6.7.9. In vivo 遺伝毒性試験 76
2.6.7.10. がん原性試験 76
2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 77
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 78
2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 82
2.6.7.13.A. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 82
2.6.7.13.B. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 85
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 89
2.6.7.15. 幼若動物を用いた毒性試験 95
2.6.7.16. 局所刺激性試験 95
2.6.7.17. その他の毒性試験 96

2.6.7.　毒性試験概要表

2.6.7.1.　毒性試験：一覧表

						Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species and strain**	**Method of dosing**	**Duration of dosing**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP compliance**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Single-dose toxicity								
Single-dose + 3 days or 28 days posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	Single dose	0 (vehicle), 10, 30 50, 100	Yes	[redacted], Germany	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
Repeat-dose toxicity								
4 weeks + 4 weeks posttreatment observation	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	4 weeks	0 (vehicle), 10, 30, 100 q2d	Yes	[redacted], Germany	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
4 weeks + 4 weeks posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	4 weeks	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d	Yes	[redacted], Germany	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
26 weeks + 8 weeks posttreatment observation	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	26 weeks	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d	Yes	[redacted], Germany	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3

						Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species and strain**	**Method of dosing**	**Duration of dosing**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP compliance**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Genotoxicity								
Not performed	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Carcinogenicity								
Not performed	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Reproductive and developmental toxicity								
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	M: Week -4 before mating until days 42 or 43 F: Day -15, during mating until GD7	0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted], Germany	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
DRF Embryo-fetal development study	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	F: GD6-GD17 [M: 14 days]	F: 0 (vehicle), 10, 30, 100 qd [M: 100 qd]	Yes (in-life phase only)	[redacted], Germany	[redacted]35985	Module 4.2.3.5.2-1
Embryo-fetal development study	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	F: GD6-GD17	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted], Germany	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2

						Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species and strain**	**Method of dosing**	**Duration of dosing**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP compliance**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
DRF Embryo-fetal development study	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus)	F: GD6-GD28	F: 0 (vehicle), 10, 30, 100 qd	Yes (in-life phase only), analytical assessments non-GLP	[redacted], Germany	[redacted]35987	Module 4.2.3.5.2-3
Embryo-fetal development study	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus)	F: GD6-GD28	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted], Germany	[redacted]35988	Module 4.2.3.5.2-4
Pre- and postnatal development	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	F: GD6 until LD21	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted], Germany	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1
Local tolerance								
Local tolerance of efgartigimod with 48 and 96 hours as well as 14 days posttreatment observation	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus), SC, IA, PV, and IM	Single dose	1 mL/ animal (150 mg) IV, IA, or SC 0.25 mL/ animal (37.5 mg) PV and IM	Yes	[redacted], Germany	[redacted]34857	Module 4.2.3.6-1

						Test article: efgartigimod		
Type of study	**Species and strain**	**Method of dosing**	**Duration of dosing**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP compliance**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Other toxicity studies								
Method validation report (Efgartigimod concentration in test item formulation)	NA	NA	NA	NA	Yes	[redacted], Germany	[redacted]33809	Module 4.2.3.7.7-1
Method validation report (Efgartigimod concentration in test item formulation)	NA	NA	NA	NA	Yes	[redacted], Germany	[redacted]35990	Module 4.2.3.7.7-2
Method validation report (Efgartigimod concentration in test item formulation)	NA	NA	NA	NA	No (GMP, performed in GLP facility)	[redacted] - [redacted] the Netherlands	AXU2023 9-20239X-B	Module 4.2.3.7.7-3

DRF=dose range finding; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; GMP=Good Manufacturing Practice; IA=intraarterial; IM=intramuscular; IV=intravenous; LD=lactation day; M=male; NA=not applicable; NOAEL= No observed adverse effect level; PV=paravenous; qd=once daily; q2d=every other day; q7d=once weekly; SC=subcutaneous

[a] Unless otherwise specified. For single-dose and repeat-dose toxicity, the highest no observed adverse effect level (NOAEL) is underlined.

2.6.7.2.　トキシコキネティクス試験の一覧表

Overview of toxicokinetics studies				**Test article:** efgartigimod		
Type of study	**Test system**	**Method of administration**	**Doses (mg/kg)**	**GLP compliance**	**Study number**	**Location**
Single-dose toxicity						
Single dose	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30 50, 100	Yes	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
Repeat-dose toxicity						
4 weeks	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q2d	Yes	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
4 weeks	Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion)	0 (vehicle), 3, 30, 100 q2d	Yes	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
26 weeks	Monkey/ cynomolgus	IV (0.5-hour infusion)	0 (vehicle), 10, 30, 100 q7d	Yes	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
Reproductive and developmental toxicity						
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
Embryo-fetal development study	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2
Embryo-fetal development study	Rabbit/New Zealand White	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted]35988	Module 4.2.3.5.2-4
Pre- and postnatal development	Rat/Sprague Dawley	IV (bolus)	F: 0 (vehicle), 30, 100 qd	Yes	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1

F=female; GLP=Good Laboratory Practice; IV=intravenous; qd=once daily; q2d=every other day; q7d=once weekly

2.6.7.3.　トキシコキネティクス試験成績の一覧

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
Note that values taken from report tables are rounded in this Overview of Toxicokinetics Data. Data in italics need to be interpreted in consideration with the study protocol and cannot be readily compared with other studies. AUCs for the 4-week repeat-dose toxicity studies in rat and monkey are considered to be overestimated. C_{max} values of the 4-week studies were calculated based on individual highest obtained C_{max} values on different treatment days.					
RAT					
4 Weeks + 4 weeks posttreatment observation					
Day 1 to t_{last}, ie, day 28			$AUC_{0\text{-}tlast}$		
10 q2d	M	628	*94202*	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
10 q2d	F	660	*89823*		
30 q2d	M	1142	*236192*		
30 q2d	F	976	*215607*		
100 q2d	M	4864	*920323*		
100 q2d	F	4604	*934129*		
Day 29 to t_{last} after the last (15th) IV infusion			$AUC_{0\text{-}tlast}$		
10 q2d	M	358	*8598*	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1
10 q2d	F	378	*9080*		
30 q2d	M	617	*14829*		
30 q2d	F	638	*15314*		
100 q2d	M	1984	*47667*	[redacted]33981	Module 4.2.3.2-1

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
100 q2d	F	1995	*47932*		
Fertility and early embryonic development to implantation					
Day 1			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	M	284	1304	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
100 qd	M	1757	7165		
Day 42			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	M	1128	3025	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
100 qd	M	2597	11542		
Day 15			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	198	1159	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
100 qd	F	1294	6042		
GD7			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	823	4116	[redacted]35984	Module 4.2.3.5.1-1
100 qd	F	2749	9630		
Embryo-fetal development study or **pre- and postnatal development**					
GD6			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	575	1823	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2
30 qd	F	861	2390	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
100 qd	F	1893	6730	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2
100 qd	F	2879	9935	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1
GD17			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	575	1925	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2
30 qd	F	960	2723	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1
100 qd	F	1998	6456	[redacted]35986	Module 4.2.3.5.2-2
100 qd	F	3042	10702	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1
LD21			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	547	2236	[redacted]35989	Module 4.2.3.5.3-1
100 qd	F	2212	10024		
RABBIT					
Embryo-fetal development study					
GD6			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	1080	9758	[redacted]35988	Module 4.2.3.5.2-4
100 qd	F	3933	37429		
GD28			$AUC_{0\text{-}23h}$		
30 qd	F	1347	15759	[redacted]35988	Module 4.2.3.5.2-4
100 qd	F	4086	49443	[redacted]35988	Module 4.2.3.5.2-4

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
MONKEY					
Single dose + 3 days or 28 days posttreatment observation					
Days 1 through 5 (main study animals)			$AUC_{0\text{-}96h}$		
10	M	192±16.3	5151±481	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
10	F	195±53.6	5350±1559		
30	M	629±141	17193±3354		
30	F	541±61.7	15183±1579		
50	M	931±70.2	25383±2076		
50	F	746±126	21302±2708		
100	M	1629±256	46874±5235		
100	F	1408±288	38129±6883		
Days 1 through 29 (recovery animals)			$AUC_{0\text{-}tlast}$		
10	M	179	5138	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1
10	F	188	5573		
30	M	512	15317		
30	F	448	14094		
50	M	851	26025		
50	F	979	28101	[redacted]32188	Module 4.2.3.1-1

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
100	M	1415	43865		
100	F	1587	49553		
4 Weeks + 4 weeks posttreatment observation (data in italics need to be interpreted in consideration with the study protocol)					
Day 1 to t_{last}, ie, day 28			$AUC_{0\text{-}674h}$		
3 q2d	M	84±9	*21434± 1338*	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
3 q2d	F	84±11	*17986 ± 1330*		
30 q2d	M	932±47	*200020 ± 21478*		
30 q2d	F	674±29	*180370 ± 9757*		
100 q2d	M	2596±484	*598268 ± 109914*		
100 q2d	F	2960±799	*647494 ± 169990*		
Day 29 to t_{last} after the last (15th) IV infusion			$AUC_{0\text{-}tlast}$		
3 q2d	M	80	*2696*	[redacted]31554	Module 4.2.3.2-2
3 q2d	F	83	*3526*		
30 q2d	M	933	*25925*		
30 q2d	F	480	*17100*		
100 q2d	M	1585	*45789*		
100 q2d	F	1436	*246918*		

Overview of toxicokinetics data				**Test article: efgartigimod**	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
26 Weeks + 8 weeks posttreatment observation					
Days 1 to 8			$AUC_{0\text{-}168h}$		
10 q7d	M	251±38.0	3195±246	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
10 q7d	F	215±45.5	3258±205		
30 q7d	M	845±81.4	9584±896		
30 q7d	F	720±119	8424±164		
100 q7d	M	2523±790	30344±2763		
100 q7d	F	2221±363	30532±644		
Days 85 to 92			$AUC_{0\text{-}168h}$		
10 q7d	M	207±31.6	3336±475	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
10 q7d	F	148±106	3363±618		
30 q7d	M	707±284	10212±886		
30 q7d	F	696±74.3	8875±1525		
100 q7d	M	2653±414	44637±26 504		
100 q7d	F	2563±333	44197±11 307		

Overview of toxicokinetics data				**Test article:** efgartigimod	
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Total exposure**		**Study number**	**Location**
		C_{max} (µg/mL)	**AUC (µg·h/mL)**		
Days 176 to 183			$AUC_{0\text{-}168h}$		
10 q7d	M	188±12.2	4162±575	[redacted]33260	Module 4.2.3.2-3
10 q7d	F	226±34.4	5081±305		
30 q7d	M	836±272	11938±2230		
30 q7d	F	718±12.1	8657±3467		
100 q7d	M	2663±465	28262±8105		
100 q7d	F	2454±323	24678±2645		

AUC=area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}tlast}$=area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration > LLOQ; $AUC_{x\text{--}yh}$=area under the concentration-time curve from time x to the last quantifiable concentration >LLOQ and where y h was the last sampling time point that was considered for this evaluation; C_{max}=maximum observed concentration; F=female; GD=gestation day; h=hour; IV=intravenous; LD=lactation day; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; qd=once daily; q2d=every other day; q7d=once weekly; t_{last}=time of last quantifiable concentration >LLOQ
Notes: Note that individual animals were excluded from PK assessment (see Module 2.6.6).
Standard deviation (±SD) is only presented if given in the original report.

2.6.7.4.　毒性試験：　被験物質（バッチ毎）一覧

Batch number.	**Drug substance specification**							**Test article:** efgartigimod	
	Purity (%)		**Specified impurities**					**Location** **Study number**	**Type of study**
PROPOSED SPECIFICATION:	**[redacted]% [redacted], reducing CE-SDS**	**[redacted]% [redacted], GP HPLC**	**Aggregates: [redacted]%**	**CHO DNA: [redacted] pg/mg A_{280} protein**	**不純物F* [redacted] ng/mg A_{280} protein**	**CHO host cell protein: [redacted] ng/mg A_{280} protein**	**Endotoxin[a]: [redacted] EU/mg A_{280} protein**		
Pilot batch [redacted] (Cell Line: [redacted])	[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Module 4.2.3.1-1 [redacted]32188	Single dose+3 days or 28 days posttreatment observation in monkeys
[redacted] (Cell line: [redacted])	[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Module 4.2.3.2-1 [redacted]33981	4 weeks+4 weeks posttreatment observation in rats
Pilot batch [redacted] (Cell line: [redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Module 4.2.3.2-2 [redacted]31554	4 weeks+4 weeks posttreatment observation in monkeys
[redacted] (Cell line: [redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Module 4.2.3.2-3 [redacted]33260	26 weeks+8 weeks posttreatment observation in monkeys
[redacted][c] (Cell line: [redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Module 4.2.3.5.1-1 [redacted]35984	Fertility and early embryonic development to implantation in rat (FEED)

Batch number.	**Drug substance specification**							**Test article:** efgartigimod	
	Purity (%)		**Specified impurities**					**Location** **Study number**	**Type of study**
PROPOSED SPECIFICATION:	**% Fc, reducing CE-SDS**	**% Fc, GP HPLC**	**Aggregates: %**	**CHO DNA: pg/mg A_{280} protein**	**不純物F* ng/mg A_{280} protein**	**CHO host cell protein: ng/mg A_{280} protein**	**Endotoxin[a]: EU/mg A_{280} protein**		
(Cell line:)								Module 4.2.3.5.2-1 35985	DRF Embryo-fetal development study in rat (EFD DRF)
[c] (Cell line:)								Module 4.2.3.5.2-2 35986	Embryo-fetal development study in rat (EFD)
(Cell line:)								Module 4.2.3.5.2-3 35987	DRF Embryo-fetal development study in rabbit (EFD DRF)
[c] (Cell line:)								Module 4.2.3.5.2-4 35988	Embryo-fetal development study in rabbit (EFD)
(Cell line:)								Module 4.2.3.5.3-1 35989	Pre- and postnatal development in rat (PPND)
(Cell line)								Module 4.2.3.6-1 34857	Local tolerance study in rabbits

A_{280}= absorbance at 280 nm; CE-SDS=capillary electrophoresis; CHO=Chinese hamster ovary; DNA=deoxyribonucleic acid; DRF=dose range finding; EFD=embryo-fetal development; EU= endotoxin unit; Fc=crystallized fragment; FEED=fertility and early embryonic development; GP HPLC=gel permeation high-performance liquid chromatography; NMT=not more than; PPND=pre- and postnatal development; SDS PAGE=sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis; w/v=weight per volume

Note: Section 3.2.S.2.6 describes these batches in more detail. Importantly, pilot batch [redacted] was used in the 4-week monkey study as well as the single-dose monkey study. This efgartigimod batch had an higher endotoxin level compared to batches used for all other toxicity studies of efgartigimod.

[a] Note that in the commercial presentation the proposed specification is [redacted] EU/mL which corresponds to [redacted] EU/mg A_{280} protein given in this table.

[b] Tested by reducing SDS PAGE.

[c] Batch [redacted] is a pilot batch, manufactured in line with the manufacturing process described in Section 3.2.S.2.2 but formulated in 25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM L-arginine hydrochloride, [redacted] mM L-methionine, 0.02% (w/v) Polysorbate 80, pH 6.7. The use of this batch is supported by analytical comparability and stability testing.

2.6.7.5.　単回投与毒性試験

Report title: Single Dose Toxicity Study of ARGX-113 by 2-Hour Intravenous Infusion to Cynomolgus Monkeys				**Test article:** efgartigimod			
Species/strain	**Method of administration (vehicle/ formulation)**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Observed maximum nonlethal dose (mg/kg)**	**Approximate lethal dose (mg/kg)**	**Noteworthy findings**	**Location Study number**
Monkey/ cynomolgus	IV (2-hour infusion) (0.9% saline solution/ 25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7) Single dose followed by 3 or 28 treatment-free days	0 (vehicle), 10, 30 50, 100 Administration volume: 5 mL/kg	3+2M, 3+2F	100	>100 No animal died during the study.	Local tolerance (infusion site): Reactions as a result of the infusion procedure (hematoma formation, hemorrhagic infusion sites): at ≥50 mg/kg: local reaction appeared to be exacerbated (additional acute inflammation and/or necrosis) with increasing dosage of efgartigimod. Shown to be reversible until the end of recovery period. Systemic toxicity: • NOAEL: 100 mg/kg [at ≥10 mg/kg: non-adverse pharmacology effects on gamma globulin level ↓, globulin ↓, and albumin/globulin ratio↑; IgG↓. Albumin levels and IgM or IgA were unaffected] ADA formation: on day 15, 1F at 10 mg/kg and 1M at 30 mg/kg had marginal ADA titers; on day 29, 2M+2F at 10 mg/kg, 2M+2F at 30 mg/kg, 2M+2F at 50 mg/kg, 2M+2F at 100 mg/kg were positive. At all timepoints, all control animals	4.2.3.1-1 [redacted]32188

Report title: Single Dose Toxicity Study of ARGX-113 by 2-Hour Intravenous Infusion to Cynomolgus Monkeys				**Test article:** efgartigimod			
Species/strain	**Method of administration (vehicle/ formulation)**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Observed maximum nonlethal dose (mg/kg)**	**Approximate lethal dose (mg/kg)**	**Noteworthy findings**	**Location Study number**
						were negative.	
Toxicokinetics data are presented in Section 2.6.7.3.							

ADA=anti-drug-antibodies; ARGX-113= efgartigimod; F=female; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; M=male; no.=number; NOAEL= no observed adverse effect level
Note: The study was designed as 'extended single dose' toxicity study, comprising clinical signs, mortality, body weight, food and drinking water consumption, electrocardiography, blood pressure, hematology, coagulation, erythrocyte sedimentation rate, urinalysis, immunoglobulin levels, lymphocytes typing, ophthalmological and auditory functions, and necropsy on day 5 or day 30, respectively, with full pathology (gross pathology, organ weights and, restricted to the main study animals, also histopathology of standard protocol organs) and bone marrow evaluation. In addition, blood was sampled for determination of efgartigimod serum concentrations and potential ADA formation. Urine samples were collected for potential evaluation of drug concentrations; these samples were not analyzed.

2.6.7.6.　反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験

実施せず。

2.6.7.7.　反復投与毒性試験

2.6.7.7.A.　ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report title: 4-Week Subchronic Toxicity Study of ARGX-113 by Repeated Intravenous Administration to CD® Rats</td><td>Test article: efgartigimod</td></tr>
<tr><td>Species/strain: Rats/Sprague Dawley CD® / Crl:CD(SD)</td><td>Duration of dosing: 4 weeks</td><td>Study number: [redacted]33981</td></tr>
<tr><td>Initial age: 58 or 59 days</td><td>Duration of postdose: 28 days</td><td rowspan="2">Location in CTD: Module 4.2.3.2-1</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Date of first dose:
[redacted] 20[redacted]</td><td>Method of administration: IV (dose/approximately 15 seconds) q2d, ie, in total 15 injections/animal
Administration volume: 10 mL/kg</td></tr>
<tr><td>Vehicle/formulation: 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7</td><td>GLP compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special features:
FACS analysis for lymphocytes typing (absolute or relative lymphocyte levels of the investigated cell subsets: mature and immature T-cells, double negative T-cells, helper T-cells, activated helper T-cells, suppressor/cytotoxic T-cells, activated suppressor/cytotoxic T-cells, NK-cells, and B-cells) and determination of IgA and IgM in plasma from ‘subset 1’ satellite animals (n=3/sex/group); blood collection at approximately 24 h after dosing;
Determination of IgG in plasma and ADA in serum, respectively, from ‘subset 2’ satellite animals (n=9/sex/group, ie, n=3/time point/sex/group); blood collection at predose;
Blood sampling for TK at the following time points:
During treatment period: at predose and 5 minutes after dosing on each dosing day until day 29 (n=9/sex/group);
During recovery period: once on days 31, 33, 35, 38, 42, 46, 50, 54, and 58 (n=9/sex/group);
Determination of concentrations of efgartigimod in serum from ‘subset 3’ satellite animals (n=9/sex/group) for toxicokinetics;
Bone marrow examinations (myeloid:erythroid ratios) determined by cell differentiation (counting of 200 nuclei-containing cells) for all groups.</td></tr>
<tr><td colspan="3">No observed adverse effect level: 30 mg/kg q2d</td></tr>
</table>

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Satellite group (subsets 1+2)	**M: 12 (3+9)**	**F: 12 (3+9)**	**M: 12 (3+9)**	**F: 12 (3+9)**	**M: 12 (3+9)**	**F: 12 (3+9)**	**M: 12 (3+9)**	**F: 12 (3+9)**
Satellite group for TK	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics (mean): (TK data in italics need to be interpreted in consideration with the study protocol)								
Main study	Day 1 to day 28 (672 hours)							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	628	660	1142	976	4864	4604
$AUC_{0\text{-}672h}$ (µg·h/mL)	NA	NA	*85604*	*80743*	*221362*	*200293*	*872656*	*886198*
$AUC_{0\text{-}672h}$ /dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	*8560*	*8074*	*7379*	*6676*	*8727*	*8862*
DPF	NA	NA	1.00	1.00	0.86	0.83	1.02	1.10
Recovery period	Day 29 to t_{last} after the last (15th) IV injection							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	358	378	617	638	1984	1995
t_{max} (h)	NA	NA	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
$t_{½}$ (h)	NA	NA	17	45	76	22	40	81
t_{last} (h)	NA	NA	96	144	216	96	216	312
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (µg·h/mL)	NA	NA	8598	9080	14829	15314	47667	47932

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
$AUC_{0\text{-}tlast}$/dose (μg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	860	908	494	510	477	479
DPF	NA	NA	1.00	1.00	0.57	0.56	0.55	0.53
Noteworthy findings:								
Died or sacrificed Moribund	0/36	0/36	0/36	0/36	1[a]/36 TK satellite	0/36	0/36	1[b]/36 TK satellite
Body weight (%[c])	383.73 g	256.06 g	-0.5	+2.5	+1.6	+1.6	-2.4	+1.0
Food consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Water consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Local tolerance (clinical signs)	-	-	-	-	-	-	-	-
Behavior, external appearance and feces	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory examination	-	-	-	-	-	-	-	-

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Hematology, coagulation[d]								
Hemoglobin content								
Day 30 (in mmol/L)	9.46	9.48	9.57	9.21[§]	9.43	9.20[§]	9.33	9.33
% difference to control	NA	NA	+1.2	-2.8[e]	-0.4	-3.0[e]	-1.3	-1.6
Leukocytes								
Day -5 (in x10E3/µL)	8.270	8.649	7.989	6.800[**]	8.012	7.893	8.787	7.703
% difference to control	NA	NA	-3.4	-21.4[f]	-3.1	-8.7	+6.3	-10.9
Reticulocytes								
Day -5 (in %)	5.27	2.91	5.54	2.20	5.82	2.10[*]	5.05	2.15
% difference to control	NA	NA	+5.2	-24.5	+10.5	-27.9[f]	-4.2	-26.3
Day 30 (in %)	2.79	2.63	2.37[*]	2.55	2.90	2.60	2.98	2.90
% difference to control	NA	NA	-15.1[g]	-3.0	+4.1	-1.3	+6.9	+10.1
Platelets								
Day 30 (in x10E3/µL)	858.3	677.4	812.3	808.1[§]	882.1	749.5	804.9	795.9[§]
% difference to control	NA	NA	-5.4	+19.3[e]	+2.8	+10.6	-6.2	+17.5[h]

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Neutrophilic granulocytes								
Day 16 (in x10E3/µL)	1.199	1.155	1.132	0.999	1.143	0.745[§]	1.263	1.080
% difference to control	NA	NA	-5.6	-13.5	-4.7	-35.5[h]	+ 5.4	-6.5
Lymphocytes								
Day -5 (in x10E3/µL)	6.846	7.029	6.677	5.435[**]	6.437	6.721	7.237	6.299
% difference to control	NA	NA	-2.5	-22.7[f]	-6.0	-4.4	+5.7	-10.4
Day 30 (in x10E3/µL)	8.490	6.988	8.367	5.313[§]	8.182	7.337	9.010	6.902
% difference to control	NA	NA	-1.4	-24.0[g]	-3.6	+5.0	+6.1	-1.2
Basophilic granulocytes								
Day 30 (in x10E3/µL)	0.011	0.010	0.012	0.004[§]	0.013	0.009	0.013	0.009
% difference to control	NA	NA	+12.5	-60.0[g]	+25.0	-6.7	+18.7	-13.3
Fibrinogen								
Day 30 (in mg/dL)	132.85	114.67	121.67[§]	110.61	134.93	114.92	124.80	122.37
% difference to control	NA	NA	-8.4[e]	-3.5	+1.6	+0.2	-6.1	+6.7

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Lymphocyte typing	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry[i]								
Albumin (g/L)								
Day 16 ([redacted])	29.71	31.75	33.86§§	36.57**	33.86§§	36.41**	33.75§§	35.94**
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	32.28	36.98	41.54**	45.83**	41.65**	46.23**	41.82**	45.43**
Day 30 ([redacted])	29.35	31.76	33.46§§	35.87**	33.33§§	35.87**	33.17§§	35.39**
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	30.55	37.63	38.42**	45.43§§	37.13**	46.49§§	37.34**	45.16§§
% difference to control								
Day 16 ([redacted])	NA	NA	+14.0§§	+15.2**	+14.0§§	+14.7**	+13.6§§	+13.2**
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	+28.7**	+23.9**	+29.0**	+25.0**	+29.6**	+22.9**
Day 30 ([redacted])	NA	NA	+14.0§§	+13.0**	+13.6§§	+12.9**	+13.0§§	+11.4**
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	+25.7**	+20.7§§	+21.5**	+23.5§§	+22.2**	+20.0§§
Globulin (g/L)								
Day 16 ([redacted])	29.69	30.71	28.94	30.03	29.41	30.52	30.05	30.93

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	27.13	25.50	21.28**	20.78§§	21.61**	20.71§§	21.99**	21.45§§
Day 30 ([redacted])	26.25	32.44	24.54**	31.26	24.93*	31.47	24.49**	31.87
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	25.07	26.57	19.59**	21.73§§	21.16**	20.85§§	20.35**	22.11§§
% difference to control								
Day 16 ([redacted])	NA	NA	-2.5	-2.2	-1.0	-0.6	+1.2	+0.7
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	-21.6**	-18.5§§	-20.3**	-18.8§§	-18.9**	-15.9§§
Day 30 ([redacted])	NA	NA	-6.5**	-3.6	-5.0*	-3.0	-6.7**	-1.7
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	-21.8**	-18.2§§	-15.6**	-21.5§§	-18.8**	-16.8§§
Albumin/globulin ratio								
Day 16 ([redacted])	1.002	1.036	1.173§§	1.222§§	1.153§§	1.195§§	1.126§§	1.165§§
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	1.193	1.452	1.965**	2.211§§	1.930**	2.236§§	1.905**	2.137§§
Day 30 ([redacted])	1.121	0.982	1.369§§	1.151§§	1.340§§	1.141§§	1.359§§	1.116§§
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	1.222	1.419	1.966**	2.107§§	1.763**	2.261§§	1.849**	2.079§§

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1 Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
% difference to control								
Day 16 ([redacted])	NA	NA	+17.0§§	+17.9§§	+15.1§§	+15.3§§	+12.3§§	+12.5§§
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	+64.7**	+52.3§§	+61.8**	+54.0§§	+59.8**	+47.2§§
Day 30 ([redacted])	NA	NA	+22.1§§	+17.2§§	+19.5§§	+16.2§§	+21.2§§	+13.7§§
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	+60.9**	+48.5§§	+44.3**	+59.4§§	+51.3**	+46.5§§
γ-globulin (g/L)								
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	1.33	1.89	0.55§§	0.61§§	0.49§§	0.41§§	0.33§§	0.48§§
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	1.33	1.93	0.37§§	0.63**	0.40§§	0.49**	0.38§§	0.43**
% difference to control								
Day 16 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	-59.0§§	-67.8§§	-63.5§§	-78.1§§	-75.5§§	-74.6§§
Day 30 (Agarose gel electrophoresis)	NA	NA	-72.0§§	-67.2**	-70.0§§	-74.8**	-71.5§§	-77.6**
Protein (g/L)								
Day 16 ([redacted])	59.4	62.5	62.8**	66.6**	63.3**	66.9**	63.8**	66.9**

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1 Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 30 ([redacted])	55.6	64.2	58.0§§	67.1*	58.3§§	67.3**	57.7§	67.3**
% difference to control								
Day 16 ([redacted])	NA	NA	+5.7**	+6.6**	+6.5**	+7.2**	+7.4**	+7.0**
Day 30 ([redacted])	NA	NA	+4.3§§	+4.6*	+4.8§§	+4.9**	+3.7§	+4.8**
Calcium (mmol/L)								
Day 16 ([redacted])	2.571	2.606	2.680§§	2.672	2.697§§	2.717**	2.644§§	2.719**
Day 30 ([redacted])	2.551	2.561	2.633§§	2.664**	2.677§§	2.682**	2.618§§	2.672**
% difference to control								
Day 16 ([redacted])	NA	NA	+4.2§§	+2.5	+4.9§§	+4.2**	+2.8§§	+4.3**
Day 30 ([redacted])	NA	NA	+3.2§§	+4.0**	+4.9§§	+4.7**	+2.6§§	+4.3**
IgM levels	-	-	-	-	-	-	-	-
IgA levels	-	-	-	-	-	-	-	-
IgG levels (µg/mL)								
Day 1	1482.0	3892.0	1098.7	3677.5	2921.3	2132.7	2106.7	3084.6
Day 3	2332.3	3121.1	985.8*	1886.9	1287.6	3114.5	793.5*	1991.2
Day 5	2484.1	3684.6	1202.1*	1542.0	749.5*	2996.6	902.4*	998.7
Day 7	1852.6	4176.9	371.1**	1737.9	308.0**	625.7**	561.9**	847.2**

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 9	1920.5	3501.2	606.1**	1153.7**	714.0**	1651.2**	501.7**	1217.1**
Day 11	2750.5	4452.4	1017.2**	1130.9	718.1**	1850.5	691.9**	1072.4
Day 13	2231.8	4392.1	453.9**	1599.1	852.9*	545.6**	689.8*	1099.9
Day 15	2296.9	3773.0	582.7**	1163.7**	990.1**	1858.9**	616.5**	1514.0**
Day 17	3016.1	3952.7	1043.4**	1364.8*	1166.5**	1964.8	843.0**	1143.5*
Day 19	2894.4	5325.4	562.4**	1777.3*	608.2**	808.5**	671.5**	946.1**
Day 21	3039.6	3742.2	806.4**	1355.0*	872.6**	1750.2	577.9**	1512.9*
Day 23	3347.7	4648.2	1325.9*	1865.8	1221.0*	2185.6	771.0**	1553.3
Day 25	3537.7	6063.0	588.3**	1945.4*	799.3**	822.7**	922.0**	1247.8**
Day 27	4042.2	6250.7	1071.4**	1352.6**	1213.8**	2312.6**	614.2**	1939.8**
Day 29	4420.1	5401.0	1361.4**	2522.6	1394.3**	2369.5	1017.7**	1768.5
% difference to control								
Day 1	NA	NA	-25.9	-5.5	+97.1	-45.2	+42.1	-20.7
Day 3	NA	NA	-57.7*	-39.5	-44.8	-0.2	-66.0*	-36.2
Day 5	NA	NA	-51.6*	-58.2	-69.8*	-18.7	-63.7*	-72.9
Day 7	NA	NA	-80.0**	-58.4	-83.4**	-85.0**	-69.7**	-79.7**
Day 9	NA	NA	-68.4**	-67.0**	-62.8**	-52.8**	-73.9**	-65.2**

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 11	NA	NA	-63.0**	-74.6	-73.9**	-58.4	-74.8**	-75.9
Day 13	NA	NA	-79.7**	-63.6	-61.8*	-87.6**	-69.1*	-75.0
Day 15	NA	NA	-74.6**	-69.2**	-56.9**	-50.7**	-73.2**	-59.9**
Day 17	NA	NA	-65.4**	-65.5*	-61.3**	-50.3	-72.0**	-71.1*
Day 19	NA	NA	-80.6**	-66.6*	-79.0**	-84.8**	-76.8**	-82.2**
Day 21	NA	NA	-73.5**	-63.8*	-71.3**	-53.2	-81.0**	-59.6*
Day 23	NA	NA	-60.4*	-59.9	-63.5*	-53.0	-77.0**	-66.6
Day 25	NA	NA	-83.4**	-67.9*	-77.4**	-86.4**	-73.9**	-79.4**
Day 27	NA	NA	-73.5**	-78.4**	-70.0**	-63.0**	-84.8**	-69.0**
Day 29	NA	NA	-69.2**	-53.3	-68.5**	-56.1	-77.0**	-67.3
Urinalysis[d]								
Specific gravity								
Day 16 (in g/mL)	1.0347	1.0341	1.0323	1.0349	1.0287**	1.0339	1.0319	1.0358
% difference to control	NA	NA	-0.2[e]	0.1	-0.6**	0.0	-0.3	0.2
Day 30 (in g/mL)	1.0323	1.0365	1.0335	1.0351	1.0287	1.0329	1.0305	1.0293§§
% difference to control	NA	NA	+0.1	-0.1	-0.3	-0.3	-0.2	-0.7§§[h]

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
pH								
Day 30	6.91	6.79	7.28[§§]	6.78	7.27[§§]	6.79	6.99	6.70
% difference to control	NA	NA	+5.4[§§e]	-0.2	+5.3[§§e]	0.0	+1.3	-1.4
ADA response (incidence as number of animals / individual titers in ng/mL titer)								
Day 3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/114.5	0/0	0/0
Day 5	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 9	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 11	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 13	0/0	0/0	0/0	1/232	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 15	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/169.5
Day 17	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/94.5
Day 19	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 21	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/490.5
Day 23	0/0	0/0	0/0	1/410.5	1/271.0	0/0	0/0	1/381.5
Day 25	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 27	0/0	0/0	1/94.5	0/0	0/0	1/119.5	0/0	1/410.5

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1 Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 29	0/0	0/0	0/0	1/5841.5	1/635.5	0/0	0/0	0/0
Terminal sacrifice: Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10
Organ weights on day 30 (%)[d]								
Brain (relative to BW)	5.841 g/kg	8.590 g/kg	-1.0	-7.4[e]	+0.8	-6.0	+2.3	-3.1
Liver (absolute)	10.46 g	6.94 g	+1.5	+11.7	+7.6	+13.3	-2.9	+18.3[§h]
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow (myeloid:erythroid ratios)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver								
Increased prevalence of Kupffer cell hypertrophy / hyperplasia	0	0	0	0	0	0	3	2
• marginal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	1
• slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Extramedullary hematopoiesis	2	2	2	2	3	0	1	2
• marginal	2	2	2	2	3	0	1	2
Mononuclear inflammatory cell infiltrate	0	0	0	0	0	0	1	0
• marginal	0	0	0	0	0	0	1	0
Necrosis; focal	0	1	0	0	0	0	1	0
• marginal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
• slight	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Oil red O staining	6	9	10	10	10	10	10	10
• marginal	6	7	6	7	4	3	9	9
• slight	0	2	4	3	6[#]	7	1	1
Local tolerance (signs)/injection sites	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose evaluation[j]: Number evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1 Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Hematology[d]								
Eosinophilic granulocytes								
Day 58 (in x10E3/µL)	0.132	0.214	0.138	0.118	0.170	0.140	0.236**	0.152
% difference to control	NA	NA	+4.5	-44.9	+28.8	-34.6	+78.8	-29.0
IgG levels (µg/mL)								
Day 31	4762.8	7233.8	687.1**	2221.1*	939.1**	1051.2**	938.8**	1227.6**
Day 33	4592.3	6521.4	1734.9**	2273.7**	1739.7**	3651.3*	1085.5**	2505.7**
Day 35	4772.3	6601.8	2281.8	4054.0	2316.4	4822.4	1930.8	3338.8
Day 38	4948.5	8627.1	1722.3*	4894.2	2117.9*	2350.3*	2252.6*	3453.6
Day 42	4663.3	7493.5	2968.4	4952.3	2932.9	8106.9	2712.4	6592.7
Day 46	5150.4	8790.1	4332.3	6138.7	3082.1	9710.1	4139.4	6666.2
Day 50	7175.3	8284.3	3520.7	8684.9	3668.0	4154.1	4287.1	6050.1
Day 54	5267.6	8332.1	5450.0	7301.9	5081.5	10305.6	3889.8	9830.2
Day 58	5394.1	10197.9	5904.4	8879.9	4330.6	12038.2	5847.5	10600.1
% difference to control								
Day 31	NA	NA	-85.6**	-69.3*	-80.3**	-85.5**	-80.3**	-83.0**
Day 33	NA	NA	-62.2**	-65.1**	-62.1**	-44.0*	-76.4**	-61.6**

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 35	NA	NA	-52.2	-38.6	-51.5	-27.0	-59.5	-49.4
Day 38	NA	NA	-65.2*	-43.3	-57.2*	-72.8*	-54.5*	-60.0
Day 42	NA	NA	-36.3	-33.9	-37.1	+8.2	-41.8	-12.0
Day 46	NA	NA	-15.9	-30.2	-40.2	+10.5	-19.6	-24.2
Day 50	NA	NA	-50.9	+4.8	-48.9	-49.9	-40.3	-27.0
Day 54	NA	NA	+3.5	-12.4	-3.5	+23.7	-26.2	+18.0
Day 58	NA	NA	+9.5	-12.9	-19.7	+18.0	+8.4	+3.9
ADA response (incidence as number of animals / individual titers in ng/mL titer)								
Day 31	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 33	0/0	0/0	1/153.5	0/0	0/0	1/266.5	0/0	1/7530
Day 35	0/0	0/0	1/233	1/101505	1/31959	0/0	0/0	1/55719
Day 38	0/0	0/0	0/0	1/182.5	0/0	1/5225	1/321.5	0/0
Day 42	0/0	0/0	1/246.5	1/482	2/318, 134	1/16812.5	0/0	1/76271
Day 46	0/0	0/0	2/4887.5, 215	2/168.5, 115440	2/63757, 951.5	0/0	0/0	1/247755
Day 50	0/0	0/0	1/157	2/253.5, 186.5	1/614	1/56759	2/583, 16886.5	1/137.5
Day 54	0/0	0/0	1/2199	2/16692.5, 95.5	3/198, 4254, 2654	3/196.5, 17632, 253.5	0/0	1/95227

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-1** **Study number: [redacted]33981**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Main group	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Recovery group	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Day 58	0/0	0/0	2/14362, 1212.5	2/844.5, 89812.5	2/65225.5, 10562	1/551	2/399.5, 3050.5	2/361565, 191
Organ weights on day 58 (%)[k]								
Kidney, left (absolute)	1.628 g	1.072 g	-14.3[e]	-13.1	+0.4	-7.6	+2.9	-10.1
Liver (absolute)	12.22 g	8.58 g	-3.1	-10.7	+9.5[h]	-6.8	+5.7	-9.6
Local tolerance (signs)/injection sites	-	-	-	-	-	-	-	-

ADA=anti-drug-antibodies; ARGX-113=efgartigimod; AUC=area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}672h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 672 hours postdose; $AUC_{0\text{-}tlast}$=AUC from time zero to time of the last quantifiable serum concentration >LLOQ; BLOQ=below limit of quantitation; BW=body weight; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; FACS=fluorescence-activated cell sorting; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; n=number of animals, subjects or samples; NA=not applicable; NK=natural killer; q2d=every other day; $t_{½}$=half-life; TK=toxicokinetics; t_{last}=time of last quantifiable concentration >LLOQ; t_{max}=time of C_{max}

- No noteworthy findings.

[*] p≤0.05 Anova & Dunnett or Anova & Dunnett (Log)

[**] p≤0.01 Anova & Dunnett or Anova & Dunnett (Log)

[§] p≤0.05 Anova & Dunnett (Rank)

[§§] p≤0.01 Anova & Dunnett (Rank)

[#] p≤0.05 Fisher's Two-Tailed Exact Test

[a] One male satellite animal no. 257 died on Day 19 due to blood sampling stress; the death was not related to the administration of efgartigimod.

[b] One female satellite animal no. 288 died after predose blood sampling on day 29; the death was not related to the administration of efgartigimod.

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

[d] Findings are not test item related but statistically significant.

[e] The alteration in comparison to control animals is without any biological relevance and is lacking dose dependency.

[f] Effect was observed before start of treatment.

[g] Lacking dose dependency.

[h] The alteration in comparison to control animals is without any biological relevance.

[i] Clinical chemistry parameters were determined by means of 2 separate methods as a test item-related pharmacodynamic effect on the γ-globulins was expected.
[j] Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation', were fully reversible.
[k] At end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7.B.　サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Report title: 4-Week Subchronic Toxicity Study of ARGX-113 by Repeated 2-Hour Intravenous Infusion to Cynomolgus Monkeys	**Test article:** efgartigimod	
Species/strain: Monkey/cynomolgus	**Duration of dosing:** 4 weeks	**Study number:** [redacted]31554
Initial age: 25-29 months (males) and 24-26 months (females)	**Duration of postdose:** 4 weeks	**Location in CTD: Module** 4.2.3.2-2
Date of first dose: [redacted]	**Method of administration:** IV (2-hour infusion) q2d, ie, in total 15 infusions/animal Administration volume: 5 mL/kg	
	Vehicle/formulation: 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7	**GLP compliance:** Yes

Special features:

- Erythrocyte sedimentation rate
- FACS analysis for lymphocytes typing during pretest (baseline) and on days 16, 30, and 58.
- Urine collection for pharmacokinetics on days 9 and 23; urine collection started immediately after completion of fifth or 12th infusion for possible analysis of the urine samples conducted by the Sponsor. These exploratory monkey data are on file at argenx but were not reported.
- Determination of IgG in plasma: prior to each infusion (n=5/sex/group) and on days 31, 33, 35, 38, 42, 46, 50, 54, and 58 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Determination of IgA and IgM (approximately 24 hours postdose) in plasma: predose and on days 16, 30 (n=5/sex/group) and 58 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Determination of ADA in serum: prior to each infusion (n=5/sex/group) and on days 31, 33, 35, 38, 42, 46, 50, 54, and 58 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Blood sampling for TK at the following time points:
  During treatment period: prior to each infusion and at the end of each infusion (all animals: n=5/sex/group);
  During recovery period: on days 31, 33, 35, 38, 42, 46, 50, 54, and 58 (all recovery animals: n=2/sex/group).
  Determination of concentrations of efgartigimod in serum from all animals for toxicokinetics.
- Bone marrow examinations (myeloid:erythroid ratios) determined by cell differentiation (counting of 200 nuclei-containing cells) for all groups.

No observed adverse effect level: 30 mg/kg q2d

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics: (data in italics need to be interpreted in consideration with the study protocol)								
Main study (mean±SD)	Day 1 to t_{last}, ie, day 28							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	84±9	84±11	932±47	674±29	2596±484	2960±799
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (µg·h/mL)	NA	NA	*21434 ±1338*	*17986 ±1330*	*200020 ±21478*	*180370 ±9757*	*598268 ±109914*	*647494 ±169990*
$AUC_{0\text{-}tlast}$/dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	*7145 ±446*	*5995 ±443*	*6667 ±716*	*6012 ±325*	*5983 ±1099*	*6475 ±1700*
DPF	NA	NA	1.0	1.0	0.9	1.0	0.8	1.1
Recovery period (mean)	Day 29 to t_{last} after the last (15th) IV infusion							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	80	83	933	480	1585	1436
t_{max} (h)	NA	NA	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	73
t½ (h)	NA	NA	90.4	130	118	119	158	115
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (µg·h/mL)	NA	NA	2696	3526	25925	17100	45789	246918
$AUC_{0\text{-}tlast}$/dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	899	1176	864	570	458	2469
CL (mL/h/kg)	NA	NA	1.24	0.96	1.17	1.75	2.18	1.63
DPF	NA	NA	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	2.1

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or sacrificed moribund	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Body weight (%[a])	4.90 kg	3.22 kg	-4.5	-5	-2.0	-4.3	-9.0	-4.3
Food consumption (%[a])								
Week 2	29.4 g/kg/day	34.2 g/kg/day	+21.8*	+7.0	+18.4	+2.3	+6.1	-1.2
Week 3	28.0 g/kg/day	31.2 g/kg/day	+15*	+9.6	+15.7*	+9.0	+7.9	+3.2
Week 4	27.4 g/kg/day	36.0 g/kg/day	+27*	+11.7	+19	+3.9	+12.4	+2.2
Water consumption (%[a])	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Local tolerance (clinical signs)								
Hematoma formation	(M+F pooled)		(M+F pooled)		(M+F pooled)		(M+F pooled)	
Week 1, incidences/week	49		46		54		53	
Week 2, incidences/week	24		36		31		42	
Week 3, incidences/week	25		44		51		52	
Week 4, incidences/week	7		17		27		48	

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 29, incidences	0		1		4		8	
Induration formation	(M+F pooled)		(M+F pooled)		(M+F pooled)		(M+F pooled)	
Week 1, incidences/week	0		0		0		0	
Week 2, incidences/week	0		0		0		7	
Week 3, incidences/week	0		0		17		53	
Week 4, incidences/week	0		2		32		65	
Day 29, incidences/week	0		0		4		10	
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, coagulation								
Large unstained cells (% of total leukocytes)								
Day -11	0.72	0.64	0.70	0.64	0.70	0.62	0.80	0.78
% difference to control	NA	NA	-2.8	0	-2.8	-3.1	+11.1	+21.9
Day 16	0.98	0.88	1.66	1.62	1.46	1.90	2.42	2.92
% difference to control	NA	NA	+69.4	+84.1	+49.0	+115.9	+146.9	+231.8

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 30	0.88	0.84	0.94	0.96	1.24	1.12	1.96	3.28
% difference to control	NA	NA	+6.8	+14.3	+40.9	+33.3	+122.7	+290.5
Large unstained cells (x10E3/µL)								
Day -11	0.098	0.068	0.096	0.068	0.088	0.074	0.098	0.080
% difference to control	NA	NA	-2.0	0	-10.2	8.8	0	17.6
Day 16	0.140	0.092	0.224	0.172	0.158	0.274*	0.268	0.276**
% difference to control	NA	NA	+60.0	+87.0	+12.9	+197.8	+91.4	+200.0
Day 30	0.268	0.076	0.118	0.094	0.134	0.116	0.278**	0.380*
% difference to control	NA	NA	+3.5	+23.7	+17.5	+52.6	+143.9	+400.0
Hemoglobin content[b]								
Day 30 (in mmol/L)	7.58	7.10	7.40	7.06	7.84	6.78	6.70*[c]	6.56*[c]
% difference to control	NA	NA	-2.4	-0.6	+3.4	-4.5	-11.6	-7.6
Hematocrit[b]								
Day 30 (in %)	41.98	40.36	40.68	39.66	43.28	38.46	37.66*[c]	36.24**[c]
% difference to control	NA	NA	-3.1	-1.7	+3.1	-4.7	-10.3	-10.2
Red blood cells[b]								
Day -11 (in x10E6/µL)	6.298	6.022	6.290	5.604	6.212	5.742	6.178	5.424**[d]

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
% difference to control	NA	NA	-0.1	-6.9	-1.4	-4.6	-1.9	-9.9
Day 16 (in x10E6/µL)	5.288	4.860	5.124	4.522	5.248	4.342	4.790	4.298*c
% difference to control	NA	NA	-3.1	-7.0	-0.8	-10.7	-9.4	-11.6
Day 30 (in x10E6/µL)	5.408	4.998	5.086	4.808	5.296	4.660	4.720**c	4.454*c
% difference to control	NA	NA	-6	-3.8	-2.1	-6.8	-12.7	-10.9
Reticulocytes[b]								
Day -11 (in % of RBC)	8.60	5.60	10.00	8.40	8.20	12.20**e	8.80	9.60**e
% difference to control	NA	NA	+16.3	+50	-4.7	+117.9	+2.3	+71.4
Day 30 (in % of RBC)	26.40	36.80	24.60	31.60	24.00	37.80	42.00*c	35.60
% difference to control	NA	NA	-6.8	-14.1	-9.1	+2.7	+59.1	-3.3
Mean corpuscular volume (% difference to control)[b]								
Day -11 (in fL)	74.36	74.84	77.82	78.50	79.28*f	78.20	76.82	79.24
% difference to control	NA	NA	+4.7	+4.9	+6.6	+4.5	+3.3	+5.9
Lymphocyte typing								
Natural killer cells[b]								
Day-3 (in cells/µL)	612.0	789.8	582.0	258.4*g	554.6	754.6	543.8	317.6*g

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Immature T-cells[b]								
Day 16 (in cells/µL)	280.4	106.4	159.0	94.2	92.0[**h]	112.4	137.8[*h]	105.2
Activated helper T-cells[b]								
Day 30 (in cells/µL)	39.6	62.0	85.4	52.4	129.8[**h]	108.0	115.8[*h]	146.0
Activated cytotoxic T-cells[b]								
Day 30 (in cells/µL)	5.6	9.0	11.2	7.0	19.2[**h]	13.4	18.6[**h]	21.0[*]
Serum chemistry								
Albumin (g/L)[b]								
Day 30	42.94	41.66	45.14	42.82	49.28[**i]	41.94	44.56	44.74
% difference to control	NA	NA	+5.1	+2.8	+14.8	+0.7	+3.8	+7.4
Globulin (g/L)								
Day 16	30.84	30.96	25.78[**]	27.60	22.82[**]	27.30	22.76[**]	25.50
Day 30	32.06	31.16	25.66[*]	26.82	21.92[**]	28.46	27.26	26.68
% difference to control								
Day 16	NA	NA	-16.4	-10.9	-26.0	-11.8	-26.2	-17.6
Day 30	NA	NA	-20.0	-13.9	-31.6	-8.7	-15.0	-14.4

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**			
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
β-globulin (g/L)								
Day 16	12.88	12.18	11.62	11.80	10.56	13.08	10.32*	11.20
Day 30	13.16	12.36	11.64	11.48	10.14*	12.68	12.06	10.70
% difference to control								
Day 16	NA	NA	-9.8	-3.1	-18.0	+7.4	-19.9	-8.0
Day 30	NA	NA	-11.6	-7.1	-22.9	+2.6	-8.4	-13.4
γ-globulin (g/L)								
Day 16	8.64	8.72	4.48**	5.60	3.40**	3.60**	3.66**	4.36*
Day 30	9.48	8.76	4.80*	5.66	3.34**	5.74	5.64*	6.46
% difference to control								
Day 16	NA	NA	-48.1	-35.8	-60.6	-58.7	-57.6	-50.0
Day 30	NA	NA	-49.4	-35.4	64.8	-34.5	-40.5	-26.3
Albumin/Globulin ratio								
Day 16	1.372	1.252	1.764*	1.448	2.052**	1.602	1.968**	1.788
Day 30	1.342	1.338	1.806*	1.616	2.250**	1.698	1.652	1.886
% difference to control								
Day 16	NA	NA	+28.6	+15.7	+49.6	+28.0	+43.4	+42.8

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 30	NA	NA	+34.6	+20.8	+67.7	+26.9	+23.1	+41.0
Protein (total) (g/L)[b]								
Day 16	73.0	69.8	71.2	67.4	69.0	66.4	67.0[*h]	69.2
% difference to control	NA	NA	-2.5	-3.4	-5.5	-4.9	-8.2	-0.9
Glucose (mmol/L)[b]								
Day 16	4.882	4.840	4.448	4.770	4.204	4.116[*i]	4.478	4.500
% difference to control	NA	NA	-8.9	-1.4	-13.9	-15.0	-8.3	-7.0
Calcium (mmol/L)[b]								
Day 30	2.480	2.460	2.530	2.548	2.670[*c]	2.480	2.578	2.554
% difference to control	NA	NA	+2.0	+3.6	+7.7	+0.8	+4.0	+3.8
ALAT (U/L; mean value and range)								
Day -11	63.8 (43 - 96)	49.8 (37 - 63)	79.8 (65 - 112)	61.8 (36 - 126)	50.4 (34 - 74)	74.8 (30 - 108)	65.4 (52 - 92)	70.6 (39 - 127)
% difference to control	NA	NA	+25.1	+24.1	-21.0	+50.2	+2.5	+41.8
Day 16	95.8 (60 - 158)	68.2 (52 - 120)	84.4 (65 - 104)	70.8 (40 - 99)	68.2 (41 - 104)	82.6 (64 - 126)	88.6 (53 - 119)	114.0 (73 - 174)
% difference to control	NA	NA	-11.9	+3.8	-28.8	+21.1	-7.5	+67.2

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 30	64.4 (44 - 85)	56.6 (42 - 67)	64.8 (49 - 93)	67.2 (32 - 136)	77.6 (55 - 135)	69.2 (50 - 84)	114.8* (92 - 168)	99.0* (71 - 120)
% difference to control	NA	NA	+0.6	+18.7	+20.5	+22.3	+78.3	+74.9
LDH (U/L)[b]								
Day -11	325.0	268.8	365.2	307.4	301.0	440.8**[j]	265.8	324.6
% difference to control	NA	NA	+12.4	+14.4	-7.4	+64.0	-18.2	+20.8
GLDH (U/L)[b]								
Day 30	18.72	20.10	18.68	19.24	17.72	22.44	32.70**[c]	21.40
% difference to control	NA	NA	-0.2	-4.3	-5.3	+11.6	+74.7	+6.5
IgM levels(µg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-
IgA levels (µg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-
IgG levels (µg/mL)								
Day 1	21979.4	21084.8	21408.0	19874.2	22098.8	15754.8	19962.4	20548.4
Day 3	20323.6	24322.6	18453.6	18623.8	16205.2	9002.2**	16655.0	11131.0**
Day 5	24787.2	25233.2	14822.6**	13546.6**	13858.8**	10349.0**	11979.0**	9290.0**
Day 7	27374.0	28124.8	15729.2**	15930.2**	9359.6**	7225.8**	8555.2**	8245.4**
Day 9	20724.2	25033.0	9575.8**	10508.4*	7190.6**	5065.8**	6831.8**	6402.8**

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 11	23329.8	22132.6	11069.4**	10964.0**	7553.2**	6101.2**	7832.2**	7176.8**
Day 13	21815.4	22676.0	11211.4**	11297.0**	8584.0**	7041.6**	8078.8**	9859.8**
Day 15	24629.4	27634.6	11643.4**	12052.4**	8859.4**	6900.0**	8969.6**	10379.8**
Day 17	22473.0	22870.0	12733.0*	14246.0*	8527.0**	8258.8**	11587.6**	9326.2**
Day 19	22930.4	23160.2	12125.2**	17258.4	10717.4**	10538.8*	11291.6**	12618.4*
Day 21	29003.8	29381.4	14885.8**	15032.0*	9766.8**	11547.4**	14351.4**	12948.2**
Day 23	26490.6	25855.4	14018.6**	17533.8	9713.4**	12255.2	15661.0*	13556.0
Day 25	25787.2	25406.6	13512.0**	16094.4	9794.0**	11375.6*	14006.4*	12020.4
Day 27	22709.8	23337.6	11933.8*	15910.4	8163.6**	12394.4	13441.6*	13871.2
Day 29	23390.0	28083.2	13191.0**	15990.8	7788.4**	14078.0	14037.6**	15558.2
% difference to control								
Day 1	NA	NA	-2.6	-5.7	+0.5	-25.3	-9.2	-2.5
Day 3	NA	NA	-9.2	-23.4	-20.3	-63.0**	-18.1	-54.2**
Day 5	NA	NA	-40.2**	-46.3**	-44.1**	-59.0**	-51.7**	-63.2**
Day 7	NA	NA	-42.5**	-43.4**	-65.8**	-74.3**	-68-7**	-70.7**
Day 9	NA	NA	-53.8**	-58.0*	-65.3**	-79.8**	-67.0**	-74.4**
Day 11	NA	NA	-52.6**	-50.5**	-67.6**	-72.4**	-66.4**	-67.6**

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 13	NA	NA	-48.6**	-50.2**	-60.7**	-68.9**	-63.0**	-56.5**
Day 15	NA	NA	-52.7**	-56.4**	-64.0**	-75.0**	-63.6**	-62.4**
Day 17	NA	NA	-43.3*	-37.7*	-62.1**	-63.9**	-48.4**	-59.2**
Day 19	NA	NA	-47.1**	-25.5	-53.3**	-54.5*	-50.8**	-45.5*
Day 21	NA	NA	-48.7**	-48.8*	-66.3**	-60.7**	-50.5**	-55.9**
Day 23	NA	NA	-47.1**	-32.2	-63.3**	-52.6	-40.9*	-47.6
Day 25	NA	NA	-47.6**	-36.7	-62.0**	-55.2*	-45.7*	-52.7
Day 27	NA	NA	-47.5*	-31.8	-64.1**	-46.9	-40.8*	-40.6
Day 29	NA	NA	-43.6**	-43.1	-66.7**	-49.9	-40.0**	-44.6
Urinalysis[b]								
pH								
Day 18	8.28	7.94	8.12	8.42*	8.16	8.22	8.10	7.94
% difference to control	NA	NA	-1.9	+6.0	-1.4	+3.5	-2.2	0.0
ADA response (incidence as number of animals/individual titers in ng/mL titer)								
Day 11	0/0	0/0	1/128.5[k]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 29	1/379.8[k]	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Terminal sacrifice: Number evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ weights on day 30 (%[a])								
Thymus (absolute)[b,l]	2.767 g	2.420 g	-9.5	-25.3	+52.8[**c]	-21.2	-30.5[*c]	-10.6
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow (myeloid:erythroid ratios)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Liver								
Cytoplasmic alteration / degeneration; diffuse	0	0	0	0	0	0	3	1
• marginal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
• slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
• moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Infiltrate, mixed cell; diffuse	0	0	0	0	0	0	3	3
• marginal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
• slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
• moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Local tolerance (signs)/ infusion sites								
Granulation tissue, subcutis	0	3	3	1	3	3	3	3
• marginal	NA	3	2	0	0	0	0	1
• slight	NA	0	1	1	3	2	3	2
• moderate	NA	0	0	0	0	1	0	0
Thromb(us)i/recanalization	0	0	0	0	1	0	1	1
Postdose evaluation[m]: Number evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Hematology								
Large unstained cells (% of total leukocytes)								
Day 58	0.75	0.55	0.70	0.95	0.65	0.45	0.50	0.60
% difference to control	NA	NA	-6.7	+72.7	-13.3	-18.2	-33.3	+9.1
Large unstained cells (in x10E3/µL)								
Day 58	0.110	0.045	0.090	0.090	0.085	0.055	0.060	0.065

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
% difference to control	NA	NA	-18.2	+100.0	-22.7	+22.2	-45.5	+44.4
Clinical chemistry								
ALAT (U/L)								
Day 58	41.0	44.5	48.0	54.0	41.0	53.5	40.0	46.5
% difference to control	NA	NA	+17.1	+21.3	0	+20.2	-2.4	+4.5
IgG levels (µg/mL)								
Day 31	26737.5	31350.0	18717.5	19057.5	7775.5	12532.5	9402.0	33168.0
Day 33	23434.0	30338.5	18753.5	19162.0	7735.0	12656.5	9642.5	28033.5
Day 35	21682.0	25287.0	19793.5	23485.5	9916.5	14336.5	10966.0	25611.5
Day 38	24221.0	23351.5	19652.5	21823.5	14485.5	16671.0	13321.0	24379.0
Day 42	27195.5	26296.0	20238.0	21846.5	22148.0	16774.5	16790.5	20141.5
Day 46	24264.0	32209.5	20184.5	24233.5	20279.5	19545.0	20852.5	21663.5
Day 50	25621.5	22539.5	20751.5	23761.5	21471.5	23636.0	24572.0	28107.0
Day 54	24521.5	30268.5	21990.5	25542.0	23827.0	28191.0	24679.5	23083.5
Day 58	25550.0	30754.0	19241.0	28965.0	22638.0	23493.5	23076.0	24784.5
% difference to control								
Day 31	NA	NA	-30.0	-39.2	-70.9	-60.0	-64.8	+5.8

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2** **Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 33	NA	NA	-20.0	-36.8	-67.0	-58.3	-58.9	-7.6
Day 35	NA	NA	-8.7	-7.1	-54.3	-43.3	-49.4	+1.3
Day 38	NA	NA	-18.9	-6.5	-40.2	-28.6	-45.0	+4.4
Day 42	NA	NA	-25.6	-16.9	-18.6	-36.2	-38.3	-23.4
Day 46	NA	NA	-16.8	-24.8	-16.4	-39.3	-14.1	-32.7
Day 50	NA	NA	-19.0	+5.4	-16.2	+4.9	-4.1	+24.7
Day 54	NA	NA	-10.3	-15.6	-2.8	-6.9	+0.6	-23.7
Day 58	NA	NA	-24.7	-5.8	-11.4	-23.6	-9.7	-19.4
ADA Response (incidence as number of animals / individual titers in ng/mL)								
Recovery animals								
Day 31	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 33	0/0	0/0	1/229.4	1/94.5	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 35	0/0	0/0	1/482.8	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 38	0/0	0/0	1/663.2	1/896.4	0/0	0/0	0/0	1/951.6
Day 42	0/0	0/0	2/2479.5, 340.7	1/2754.3	0/0	0/0	0/0	1/2411.3
Day 46	0/0	0/0	2/2881.7, 825	1/2714.3	0/0	0/0	0/0	0/0

Test article: efgartigimod				**Location: Module 4.2.3.2-2 Study number: [redacted]31554**				
Dose (mg/kg) q2d	**0 (Control)**		**3**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main group	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 50	0/0	0/0	2/3396.8, 2367.6	1/3090.3	0/0	0/0	0/0	1/3082.3
Day 54	0/0	0/0	2/3753, 2582.4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Day 58	0/0	0/0	2/3508.4, 2960.6	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Histopathology								
Number of Animals Examined	2	2	2	2	2	2	2	2
Liver								
Focus/foci of mixed inflammatory cells	0	0	0	1	0	0	0	0
• one focus	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
Local Tolerance (signs)/infusion sites	-	-	-	-	-	-	-	-

ADA=anti-drug-antibodies; ALAT=alanine aminotransferase; ARGX-113=efgartigimod; AUC=area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}tlast}$=AUC from time zero to time of the last quantifiable concentration >LLOQ; BLOQ=below limit of quantitation; CL=total clearance; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; FACS=fluorescence-activated cell sorting; GLDH=glutamate dehydrogenase; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; LDH=lactate dehydrogenase; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; n=number of animals, subjects or samples; NA=not applicable; q2d=every other day; RBC=red blood cells; SD=standard deviation; $t_{½}$=half-life; TK=toxicokinetics; t_{last}=time of last quantifiable concentration >LLOQ; t_{max}=time of C_{max}
- No noteworthy findings.
* $p \leq 0.05$ Dunnett
** $p \leq 0.01$ Dunnett

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[b] Statistically significant differences that are not considered to be efgartigimod-related.
[c] A slight alteration in comparison to control animals is without any biological relevance and lacking dose dependency.
[d] Effect is due to relative low or high value observed for the control group and was observed before start of treatment.
[e] Effect observed before start of treatment and is lacking dose dependency.
[f] A slight alteration in comparison to control animals is without any biological relevance, effect is due to relative low or high value observed for the control group and was observed before start of treatment.
[g] Effect was observed before start of treatment.
[h] A slight alteration in comparison to control animals is without any biological relevance, lacking dose dependency, and effect is due to relative low or high value observed for the control group.
[i] Effect is due to relative low or high value observed for the control group and is lacking dose dependency.
[j] A slight alteration in comparison to control animals is without any biological relevance and effect was observed before start of treatment.
[k] Includes single positive results of low titer. These can be considered incidental and of no importance.
[,l] % difference to control was not available in the report, hence the values represented are based on own calculation.
[m] Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation', were fully reversible.
Urine samples were collected for potential evaluation of drug concentrations; these exploratory monkey data are on file at argenx, but they were not reported.

2.6.7.7.C.　サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復試験

Report title: 26-Week Chronic Toxicity Study of ARGX-113 by Repeated 30 Min Intravenous Infusion to Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period		**Test article:** efgartigimod
Species/Strain: Monkey/cynomolgus	**Duration of dosing:** 26 weeks	**Study number:** [redacted]33260
Initial age: 3.4-4.2 years (males) and 3.1-3.6 years (females)	**Duration of postdose:** 8 weeks	**Location in CTD: Module 4.2.3.2-3**
Date of first dose: [redacted]	**Method of Administration:** IV (0.5-hour infusion) q7d, ie, in total 27 infusions/animal Administration volume: 5 mL/kg	
	Vehicle/Formulation: 0.9 % saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02 % polysorbate 80, pH 6.7	**GLP Compliance:** Yes

Special Features:

- Erythrocyte sedimentation rate during pretest (baseline) and on days 93, 184 (all study animals), and 239 (recovery animals).
- FACS analysis for lymphocytes typing during pretest (baseline) and on days 93, and 184, (all study animals) and 239 (recovery animals).
- Urine collection for pharmacokinetics on days 1, 85, 183, and 239; urine collection started immediately after completion of first, 13th or 27th infusion and end of recovery period for possible analysis of the urine samples conducted by the Sponsor.
- Determination of IgG in plasma: prior to each infusion (n=6/sex/group) and weekly during recovery (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Determination of IgA and IgM in plasma: prior to the first administration, approximately 24 hours after the 14th infusion (day 93) and last infusion on day 184 (n=6/sex/group); in addition, on day 239 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Determination of ADA in serum: prior to each infusion and (n=6/sex/group) on days 190, 197, 204, 211, 225, and 239 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- Blood sampling for TK at the following time points:
  During treatment period: prior to each infusion and at the end of each infusion, and additionally on days 1, 85, and 176 at 2, 4, 6, and 24 hours after the end of infusion (all animals: n=6/sex/group).
  During recovery period: on test days 190, 197, 204, 211, 225, and 239 (all recovery animals: n=2/sex/group).
- An amendment no 1 to the final report was issued on [redacted] to provide the certificate of analysis to the report. For clarification, an Amendment no. 2 to Final Report was issued on [redacted] of [redacted] ([redacted]33260_Amend2 describing re-evaluation of TK. In brief, the serum levels obtained at 168 hours after end of infusion, ie, the predose values of the following administration, were used for the evaluation of the pharmacokinetic parameters of days 1 to 8,

Report title: 26-Week Chronic Toxicity Study of ARGX-113 by Repeated 30 Min Intravenous Infusion to Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period	**Test article:** efgartigimod

85 to 92 and 176 to 183. The 168 h-values were used for the calculation of $t_{1/2}$ for all animals. The approach allows the assessment of $AUC_{0\text{-}168h}$.

- Bone marrow examinations (myeloid:erythroid ratios) determined by cell differentiation (counting of 200 nuclei-containing cells) for all groups.

No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg q7d

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics (mean±SD):								
During treatment	Days 1 to 8 (after the first dose):							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	251 ±38.0	215 ±45.5	845 ±81.4	720 ±119	2523 ±790	2221 ±363
t_{max} (h)	NA	NA	0.83 ±0.82	0.50 ±0	0.50 ±0	0.50 ±0	0.83 ±0.82	0.50 ±0
$t_{½}$ (h)	NA	NA	23.27 ±6.90	23.45 ±5.95	29.27 ±2.37	29.96 ±3.45	25.24 ±1.93	25.42 ±1.28
CL (mL/h/kg)	NA	NA	3.11 ±0.27	3.05 ±0.22	3.08 ±0.29	3.46 ±0.09	3.28 ±0.34	3.23 ±0.07
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)	NA	NA	3195 ±246	3258 ±205	9584 ±896	8424 ±164	30344 ±2763	30532 ±644
$AUC_{0\text{-}168h}$/dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	320 ±24.6	326 ±20.5	320 ±29.9	281 ±5.48	303 ±27.6	305 ±6.44

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
DPF	NA	NA	1.00	1.00	1.00	0.86	0.95	0.94
During treatment	Days 85 to 92 (after the 12th dose)**:**							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	207 ±31.6	148 ±106	707 ±284	696 ±74.3	2653 ±414	2563 ±333
t_{max} (h)	NA	NA	0.90 ±0.89	2.50 ±3.46	1.50 ±2.45	0.50 ±0	0.50 ±0	0.83 ±0.82
$t_{½}$ (h)	NA	NA	32.14 ±9.12	36.44 (n=2, no SD)	25.56 ±8.63	24.67 ±8.35	23.38 ±6.20	25.16 ±2.55
CL (mL/h/kg)	NA	NA	2.95 ±0.37	2.60 (n=2, no SD)	2.84 ±0.22	3.41 ±0.58	2.65 ±0.92	2.34 ±0.49
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)	NA	NA	3336 ±475	3363 ±618	10212 ±886	8875 ±1525	44637 ±26504	44197 ±11307
$AUC_{0\text{-}168h}$/dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	334 ±47.5	336 ±61.8	340 ±29.5	296 ±50.8	446 ±265	442 ±113
DPF	NA	NA	1.00	1.00	1.02	0.88	1.34	1.31
Accumulation factor R	NA	NA	1.04	1.03	1.07	1.05	1.47	1.45

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
During treatment	Days 176 to 183 (after the last but one dose)**:**							
C_{max} (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	188 ±12.2	226 ±34.4	836 ±272	718 ±12.1	2663 ±465	2454 ±323
t_{max} (h)	NA	NA	2.10 ±1.67	0.50 ±0	0.90 ±0.89	0.50 ±0	1.17 ±1.63	1.50 ±1.67
$t_{½}$ (h)	NA	NA	31.65 ±0.65	33.09 ±4.05	25.49 ±7.12	30.55 ±3.34	23.87 ±6.37	25.30 ±1.86
CL (mL/h/kg)	NA	NA	2.38 ±0.33	1.90 ±0.13	2.55 ±0.49	3.73 ±1.14	3.67 ±0.77	4.04 ±0.41
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg·h/mL)	NA	NA	4162 ±575	5081 ±305	11938 ±2230	8657 ±3467	28262 ±8105	24678 ±2645
$AUC_{0\text{-}168h}$/dose (µg·h/mL)/(mg/kg)	NA	NA	416 ±57.5	508 ±30.5	398 ±74.3	289 ±116	283 ±81.1	247 ±26.5
DPF	NA	NA	1.00	1.00	0.96	0.57	0.68	0.49
Accumulation factor R	NA	NA	1.30	1.56	1.25	1.03	0.93	0.81
Noteworthy findings:								
Died or sacrificed moribund	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Body weight (%[a]**)**	4.60 kg	3.80 kg	-4.0	+1.8	-2.9	+1.3	-2.2	-10.1[b]

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Food consumption (%[a]**)**	47.5 g/kg/day	47.0 g/kg/day	+5.3	+2.1	+4.2	-7.4	+5.3	-11
Water consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations								
Changes not test item-related								
reduced motility	0	0	0	0	0	0	0	1[b] Weeks 25/26
sunken eyes	0	0	0	0	0	0	0	1[b] Weeks 25/26
diarrhea	0	0	0	2 On a single day: Day 52 or 178	0	0	0	1[b] Weeks 25/26
Local Tolerance (clinical signs)								
Hematoma formation (entrance of the catheter into the skin)	6	6	5	6	6	5	6	6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography								
Changes not test item-related								
Sinus arrhythmia	0	0	0	0	0	0	1	0

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Ventricular extrasystoles	0	1	0	0	0	0	0	0
Decreased QTc value (Bazett)	0	0	1 Day 85	0	0	0	1 Day 176	0
Day 85 (in ms, at 5 min)	313.8	302.2	284.0*	304.2	304.3	308.8	296.5	314.2
Day 176 (in ms, at 5 min)	317.7	319.7	320.3	310.7	303.0	313.3	294.7*	302.7
Blood pressure (BP)								
Increased diastolic BP	0	0	0	0	0	0	0	1 Day 176
Day 176 (in mmHg, at 5 min)	104.0	79.2	92.0	94.0	103.3	81.3	89.0	105.5*
Increased mean BP	0	0	0	0	0	0	0	1 Day 176
Day 176 (in mmHg, at 5 min)	120.3	96.0	113.2	111.5	124.8	102.5	110.3	122.7*
Hematology, coagulation								
Fibrinogen								
Day 184 (in mg/dL)	96.58	101.58	107.02	107.33	144.13*	94.13	107.63	118.83
% difference to control	NA	NA	+10.8	+5.7	+49.2	-7.3	+11.4	+17.0
Mean corpuscular volume								
Day 184 (in fL)	77.43	78.08	77.88	84.48*	76.43	77.37	76.87	80.63
% difference to control	NA	NA	+0.6	+8.2	-1.3	-0.9	-0.7	+3.3
Lymphocyte typing	-	-	-	-	-	-	-	-

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Serum chemistry								
Albumin (g/L)								
Day 93	46.13	46.22	48.00	45.77	49.17	50.77	48.42	53.50*
% difference to control	NA	NA	+4.0	-1.0	+6.6	+9.8	+4.9	+15.8
Globulin (g/L)								
Day 93	28.87	33.65	26.67	28.92	24.52	24.92**	23.08	22.52**
% difference to control	NA	NA	-7.6	-14.1	-15.1	-26.0	-20.0	-33.1
Day 184	29.70	33.17	32.78	30.25	27.88	25.25	22.82	25.68
% difference to control	NA	NA	+10.4	-8.8	-6.1	-23.9	-23.2	-22.6
β-globulin (g/L)								
Day 93	10.98	12.77	10.38	11.60	9.73	9.98**	9.32	8.95**
% difference to control	NA	NA	-5.5	-9.1	-11.4	-21.8	-15.2	-29.9
γ-globulin (g/L)								
Day 93	8.83	10.93	7.00	7.87	5.65	5.47§	4.93	4.32§§
% difference to control	NA	NA	-20.8	-28.0	-36.0	-50.0	-44.2	-60.5
Day 184	9.60	10.17	11.30	8.13	6.97	5.53	4.72	4.72
% difference to control	NA	NA	+17.7	-20.0	-27.4	-45.6	-50.9	-53.6

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Albumin/globulin ratio								
Day 93	1.617	1.385	1.893	1.653	2.060	2.167*	2.163	2.403**
% difference to control	NA	NA	+17.1	+19.4	+27.4	+56.4	+33.8	+73.5
Day 184	1.448	1.352	1.567	1.680	1.602	2.112	2.077	1.982
% difference to control	NA	NA	+8.2	+24.3	+10.6	+56.2	+43.4	+46.6
Sodium (mmol/L)								
Day 184	142.0	143.0	142.7	145.2*	143.0	143.7	143.0	144.3
% difference to control	NA	NA	+0.5	+1.5	+0.7	+0.5	+0.7	+0.9
IgM levels (µg/mL)								
Day 1, predose	1805.4	2198.5	1793.0	1980.2	1905.9	2174.5	1638.1	1655.9*
% difference to control	NA	NA	-0.7	-9.9	+5.6	-1.1	-9.3	-24.7
IgA levels	-	-	-	-	-	-	-	-
IgG levels (µg/mL)								
Day 1	29271.5	30150.4	28868.4	32020.6	26814.9	28065.0	25683.4	29618.4
Day 8	23905.8	29213.5	17947.8	17664.4**	12913.9**	12384.8**	11586.0**	11725.1**
Day 15	29354.8	28243.1	15557.1	17256.5**	12871.1§§	11509.9**	13057.1§§	11007.3**
Day 22	25947.0	25881.3	17260.0	18067.9*	14910.8	13362.1**	12288.6§	9455.8**

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 29	22316.7	30993.2	23533.6	25822.5	19500.6	16518.8*	15389.8	10796.5**
Day 36	27912.8	32164.9	23501.7	26829.0	20280.8	20434.1	17382.1	9494.7**
Day 43	24049.4	24585.8	21346.1	19335.9	14521.2	15704.6	17369.4	11667.6*
Day 50	28358.8	45692.7	24807.0	21221.2*	14449.8	16076.8**	14370.9	10854.7**
Day 57	22031.8	26685.4	21076.7	22190.7	14652.7	14989.7	12751.2	11106.5*
Day 64	24635.0	27782.0	25544.9	22450.4	16151.3	16314.1*	14430.1	10389.9**
Day 71	22099.4	26785.1	20282.1	23333.1	16968.2	18871.8	18731.3	11874.3
Day 78	25154.8	27270.8	22191.7	24286.7	20151.5	18363.3	13724.1	12595.0
Day 85	23655.3	26336.8	19780.7	22279.0	19159.2	19467.8	16124.4	13155.8
Day 92	26991.3	30265.3	23373.3	24869.0	18032.5	17508.8	14665.2	12191.7*
Day 99	26821.1	27374.8	21617.7	24829.1	18825.3	18120.4	17606.6	12377.7*
Day 106	28166.3	27005.2	22464.7	25458.9	18593.1	15731.1*	15129.2	10544.6**
Day 113	24212.3	24729.4	17056.3	18245.8	14228.6	20274.3	16238.0	11972.9
Day 120	24060.6	30415.1	22851.0	27266.3	16331.9	17925.1*	16421.1	10533.5**
Day 127	23457.3	25225.9	17540.2	21992.6	16899.8	16358.2	13326.4	11015.4
Day 134	19150.2	23606.4	15484.9	17621.6	15361.0	15181.0§	13005.6	9308.5§§
Day 141	23614.5	25182.3	15503.9	18878.9	14878.2	16008.7	14816.6	10730.5*

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 148	23867.3	22426.3	16204.5	19751.6	16873.3	17105.0[§]	14549.7	10180.3[§§]
Day 155	24582.8	24581.4	17747.5	20349.8	19991.0	18582.1[§]	14171.5[§]	9760.6[§§]
Day 162	30055.3	27591.8	16809.7	23426.6	22577.3	17952.8	13827.9[*]	9782.8[§§]
Day 169	24793.0	30933.4	22954.4	25118.8	24222.8	17907.1[*]	14847.2	11575.1[**]
Day 176	20201.2	22872.2	25443.3	19112.2	18596.4	16382.9[§]	12800.6	10758.1[§§]
Day 183	21958.7	22541.3	22252.6	19455.7	17862.5	17847.0	14674.1	14134.1
% difference to control								
Day 1	NA	NA	-1	+6	-8	-7	-12	-2
Day 8	NA	NA	-25	-40[**]	-46[**]	-58[**]	-52[**]	-60[**]
Day 15	NA	NA	-47	-39[**]	-56[§§]	-59[**]	-56[§§]	-61[**]
Day 22	NA	NA	-34	-30[*]	-43	-48[**]	-53[§]	-64[**]
Day 29	NA	NA	+6	-17	-13	-47[*]	-31	-65[**]
Day 36	NA	NA	-16	-17	-27	-37	-38	-71[**]
Day 43	NA	NA	-11	-21	-40	-36	-28	-53[*]
Day 50	NA	NA	-13	-54[*]	-49	-65[**]	-49	-76[**]
Day 57	NA	NA	-4	-17	-34	-44	-42	-58[*]
Day 64	NA	NA	+4	-19	-34	-41[*]	-41	-63[**]

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6 [g]**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 71	NA	NA	-8	-13	-23	-30	-15	-56
Day 78	NA	NA	-12	-11	-20	-33	-45	-54
Day 85	NA	NA	-16	-15	-19	-26	-32	-50
Day 92	NA	NA	-13	-18	-33	-42	-46	-60[*]
Day 99	NA	NA	-19	-9	-30	-34	-34	-55[*]
Day 106	NA	NA	-20	-6	-34	-42[*]	-46	-61[**]
Day 113	NA	NA	-30	-26	-41	-18	-33	-52
Day 120	NA	NA	-5	-10	-32	-41[*]	-32	-65[**]
Day 127	NA	NA	-25	-13	-28	-35	-43	-56
Day 134	NA	NA	-19	-25	-20	-36[§]	-32	-61[§§]
Day 141	NA	NA	-34	-25	-37	-36	-37	-57[*]
Day 148	NA	NA	-32	-12	-29	-24[§]	-39	-55[§§]
Day 155	NA	NA	-28	-17	-19	-24[§]	-42[§]	-60[§§]
Day 162	NA	NA	-44	-15	-25	-35	-54[*]	-65[§§]
Day 169	NA	NA	-7	-19	-2	-42[*]	-40	-63[**]
Day 176	NA	NA	+26	-16	-8	-28[§]	-37	-53[§§]
Day 183	NA	NA	+1	-14	-19	-21	-33	-37

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Urinalysis								
Specific gravity (in g/mL)								
Day 177	1.0047	1.0033	1.0055	1.0038	1.0057	1.0048[§§]	1.0052	1.0087[§§]
% difference to control	NA	NA	+0.1	+0.0	+0.1	+0.1	+0.0	+0.5
ADA response (incidence as number of animals/individual titer in µg/mL)[c]								
Day 15	0/0	0/0	5/0.21, 0.25, 0.22, 0.27, 0.68	4/2.58, 0.39, 1.06, 0.59	2/1.47, 1.44	2/0.71, 1.54	1/1.89	0/0
Day 22	0/0	0/0	2/1.06, 4.49	4/44.8, 0.59, 1.92, 3.20	4/0.20, 60.4, 0.24, 9.59	3/0.21, 2.12, 6.63	2/1.15, 4.41	3/0.52, 0.27, 0.51
Day 29	0/0	0/0	2/27.6, 30.7	5/0.48, 410, 1.48, 99.4, 112	4/1.19, 581, 0.35, 245	2/32.0, 21.0	3/22.8, 92.0, 0.99	3/1.26, 0.28, 1.17
Day 36	0/0	0/0	2/158, 93.3	5/2.01, 1386, 11.1, 660, 593	5/4.45, 1931, 0.65, 0.35, 732	3/124, 0.23, 73.3	3/82.9, 406, 2.80	3/1.43, 0.49, 2.93
Day 43	0/0	0/0	3/582, 0.61, 436	5/1.77, 2374, 147.6, 3221, 1999	4/4.18, 3921, 0.42, 1820	3/547, 0.30, 282	5/0.27, 0.22, 124, 374, 6.74	3/2.52, 1.25, 50.3

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 50	0/0	0/0	2/926, 599	5/3.95, 2691, 150.7, 5200, 2332	5/9.94, 3476, 0.98, 0.20, 3369	3/559, 1.30, 421	4/0.54, 1.85, 824, 5.40	3/3.31, 0.78, 52.6
Day 57	0/0	0/0	2/1197, 1450	5/3.95, 4341, 200.5, 4940, 2468	5/5.59, 3638, 1.57, 0.83, 3961	3/522, 0.79, 1018	4/0.32, 0.46, 730, 1.13	2/2.44, 118
Day 64	0/0	1/2.09[d]	2/605, 2847	5/2.76, 5557, 60.1, 12636, 3175	4/3.49, 3300, 0.92, 9243	3/676, 0.19, 810	3/0.26, 1253, 0.66	2/5.50, 131
Day 71	0/0	0/0	2/666, 2391	5/2.39, 9288, 32.1, 16318, 4997	4/2.25, 3929, 0.99, 9883	2/1124, 526	4/0.50, 0.23, 1338, 0.44	2/5.68, 160
Day 78	0/0	0/0	2/332, 7687	4/2.31, 12097, 25847, 7960	4/2.58, 3696, 1.29, 15004	2/851, 1365	3/0.45, 1940, 0.84	2/33.2, 137
Day 85	0/0	0/0	2/437, 10360	5/1.66, 16631, 2.44, 20506, 11246	4/1.70, 3540, 1.23, 15685	2/1209, 553	3/0.58, 2400, 0.42	2/14.4, 79.5
Day 92	0/0	0/0	2/214, 14106	5/1.03, 14233, 1.93, 21710, 17 394	4/1.22, 3028, 0.77, 18544	2/1820, 478	3/0.67, 2610, 0.77	2/11.4, 1.49

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 99	0/0	0/0	2/156, 20728	5/0.53, 19023, 1.10, 22502, 19906	4/0.89, 3813, 1.43, 17034	2/2351, 203	3/0.95, 2877, 0.44	2/11.9, 3.44
Day 106	0/0	0/0	2/45.0, 24285	5/1.27, 22424, 1.39, 27925, 22365	4/0.23, 2776, 1.27, 23293	2/2043, 327	2/1.44, 2808	2/5.87, 3.54
Day 113	0/0	0/0	2/5.43, 35248	5/1.05, 30284, 0.64, 52356, 26198	2/4180, 24053	2/3495, 199	3/1.99, 2796, 0.27	2/3.75, 1.81
Day 120	0/0	0/0	2/3.98, 37741	5/0.79, 25503, 0.42, 50132, 26718	4/0.34, 3431, 0.50, 27646	2/5017, 17.3	2/2.14, 2214	2/3.30, 1.02
Day 127	0/0	0/0	2/2.53, 32085	5/0.58, 30340, 0.32, 57654, 34783	3/7516, 0.51, 22913	2/5596, 14.0	2/1.75, 2515	2/2.36, 0.54

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 134	0/0	0/0	2/1.38, 39885	5/0.29, 32451, 0.26, 56699, 26985	2/4737, 49751	2/3566, 5.21	2/0.98, 1983	2/1.36, 0.60
Day 141	0/0	0/0	2/0.96, 38958	4/0.19, 24326, 54472, 27623	3/4248, 0.37, 42765	2/3902, 4.53	2/1.36, 1450	2/0.84, 0.55
Day 148	0/0	0/0	2/0.81, 40170	4/0.23, 33125, 57059, 32273	3/3039, 0.32, 44191	2/5668, 2.87	2/2.02, 1558	1/0.34
Day 155	0/0	0/0	2/0.28, 41 845	5/0.31, 36 503, 0.53, 56 879, 35 009	4/0.34, 2528, 0.61, 60 405	2/9647, 1.74	1/1124	2/0.29, 0.46
Day 162	0/0	0/0	2/0.40, 33268	3/34262, 58209, 34689	3/2451, 0.22, 56371	2/11 230, 1.40	2/3.51, 901	2/0.34, 0.30
Day 169	0/0	0/0	2/0.39, 37037	3/36752, 52463, 31420	3/2283, 0.34, 64461	2/14019, 0.77	2/0.80, 915	2/0.24, 0.39

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 176	0/0	0/0	2/0.33, 36289	5/0.19, 0.46, 40775, 56196, 30497	3/2035, 0.48, 65131	2/16137, 0.67	2/2.75, 688	2/0.43, 0.87
Day 183	0/0	0/0	2/0.56, 43878	3/37286, 56771, 32557	3/1451, 0.61, 85011	2/15 412, 0.44	2/3.46, 309	1/0.22
Terminal sacrifice: Number evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Organ weights on day 184 (%[c])								
Spleen (absolute)	5.83 g	5.10 g	+30.5	-2.0	+32.6	+1.5	+21.9	+39.2[*]
Spleen (relative to BW)	1.42 g/kg	1.44 g/kg	+28.7	-3.5	+32.4	-0.7	+23.3	+55.7[**]
Liver (absolute)	81.85 g	78.83 g	+14.5[*]	+4.1	-0.4	-4.5	-6.4	-0.9
Gross pathology								
Hemorrhagic infusion sites (tip of the catheter in the vein)	2	1	4	1	3	0	3	1
Bone marrow (myeloid:erythroid ratios)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3 Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6 [g]**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Local tolerance (signs)/infusion sites								
Hemorrhage, dermis	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemorrhage, subcutis	3	4	4	4	4	3	3	3
Acute inflammation, dermis	0	3	0	3	0	1	0	1
Acute inflammation, subcutis	2	3	4	4	3	4	3	2
Pigment depositions, subcutis	3	4	4	4	3	3	3	4
Necrosis, dermis	0	1	0	2	0	0	0	0
Necrosis, subcutis	2	4	2	3	3	4	3	1
Granulation tissue, subcutis	4	3	2	4	3	2	4	4
(Peri-)vasculitis, subcutis	1	3	3	2	3	1	2	1
Gastrointestinal tract								
Entero-colitis	0	0	0	0	0	0	0	1[b]
Bone marrow (sternum)								
Myeloid hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	1[b]

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6 [g]**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Postdose evaluation[f]: Number evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
IgG levels (µg/mL)								
Day 190	30899.5	27530.5	30120.0	42843.5	25491.8	12084.8	26066.5	14162.3
Day 197	28870.5	30888.5	31945.8	42800.5	22479.3	16701.8	25965.0	16280.8
Day 204	22631.8	20926.3	23827.0	27770.5	21024.3	20192.0	29997.0	21800.3
Day 211	25664.3	18125.8	20191.3	19927.3	20191.8	20992.0	24906.5	19589.3
Day 218	18980.3	19300.8	21267.3	24018.0	18439.0	22569.8	24815.3	18735.3
Day 225	19812.5	20286.5	20305.0	23922.5	17941.8	22731.5	23496.0	20075.8
Day 232	19398.5	20828.0	23907.3	28515.3	21499.3	27134.3	25759.0	20945.0
Day 239	22805.0	28614.3	23792.8	27779.3	21630.0	26331.5	26317.5	23045.5
% difference to control								
Day 190	NA	NA	-3	+56	-18	-56	-16	-49
Day 197	NA	NA	+11	+39	-22	-46	-10	-47
Day 204	NA	NA	+5	+33	-7	-4	+33	+4
Day 211	NA	NA	-21	+10	-21	+16	-3	+8

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Day 218	NA	NA	+12	+24	-3	+17	+31	-3
Day 225	NA	NA	+3	+18	-9	+12	+19	-1
Day 232	NA	NA	+23	+37	+11	+30	+33	+1
Day 239	NA	NA	+4	-3	-5	-8	+15	-20
ADA response (incidence as number of animals/individual titer in µg/mL)[c]								
Day 190	0/0	0/0	1/54213	2/40786, 39428	1/85798	1/0.34	1/324	1/0.46
Day 197	0/0	0/0	1/52781	2/54222, 50426	1/88428	1/2.07	2/877, 0.29	1/1.49
Day 204	0/0	0/0	1/54910	2/40500, 30110	1/69341	1/4.27	2/1032, 0.46	1/2.65
Day 211	0/0	0/0	1/37995	2/39507, 28687	1/51133	1/4.99	2/517, 0.39	1/2.85
Day 225	0/0	0/0	1/26375	2/25535, 17561	1/24779	1/8.01	2/584, 0.56	1/5.66
Day 239	0/0	0/0	1/17494	2/20747, 13258	1/17861	1/12.2	2/447, 1.26	1/17.3

Test article: efgartigimod					**Location: Module 4.2.3.2-3** **Study number: [redacted]33260**			
Dose (mg/kg) q7d	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Total number of animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6** [g]	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Main group	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Recovery group	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Local tolerance (signs)/infusion sites								
Macroscopic changes	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

ADA=anti-drug-antibodies; ARGX-113=efgartigimod; $AUC_{0\text{-}168h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours postdose; BLOQ=below limit of quantitation; BP=blood pressure; BW=body weight; CL=total clearance; C_{max}=maximum observed concentration; DPF=dose proportion factor; F=female; FACS=fluorescence-activated cell sorting; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; Min=minute; ms=millisecond; NA=not applicable; q7d=once weekly; QTc=corrected QT time; R=accumulation factor; SD=standard deviation; $t_{½}$=half-life; TK=toxicokinetics; t_{max}=time of C_{max}

- No noteworthy findings.

[*] p≤0.05 Anova & Dunnett or Anova & Dunnett (Log)

[**] p≤0.01 Anova & Dunnett or Anova & Dunnett (Log)

[§] p≤0.05 Anova & Dunnett (Rank)

[§§] p≤0.01 Anova & Dunnett (Rank)

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

[b] Female no. 44 revealed slightly to moderately reduced motility lasting for 24 hours as of day 174, sunken eyes as of day 175 and diarrhea from day 175 onwards. The symptoms lasted until scheduled sacrifice on day 184. The animal had considerable body weight loss from days 169 (3.5 kg) to 176 (3.1 kg, minus 0.4 kg) and from days 176 (3.1 kg) to 183 (2.9 kg, minus 0.2 kg). The necropsy weight on day 184 was 2.6 kg. These changes are not test item-related but due to prevailing diarrheal disease.

[c] Positive ADA samples in screening assay which were confirmed positive for ADA in the confirmatory assay and were above LLOQ of 188 ng/mL.

[d] Includes single positive results of low titer. These can be considered incidental and of no importance.

[e] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

[f] Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation', were fully reversible.

[g] M: 5 after Days 85. Data from 1 male (M18) were excluded from PK analysis from day 85 onwards (see Table 18 and Module 4.2.3.2-3, [redacted]33260_amendment2, Text Table 1-1).

2.6.7.8.　In vitro 遺伝毒性試験

実施せず。

2.6.7.9.　In vivo 遺伝毒性試験

実施せず。

2.6.7.10.　がん原性試験

実施せず。

2.6.7.11.　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Nonpivotal dose range finding studies in rats and rabbits				**Test article:** efgartigimod		
Species/ strain	**Method of administration (vehicle/ formulation)**	**Dosing period**	**Doses (mg/kg)**	**No. per group examined**	**Noteworthy findings**	**Location Study number**
Rats/Sprague Dawley CD® / Crl:CD(SD)	IV (dose/approximately 15 seconds) qd (0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7) [a] Administration volume: 10 mL/kg	F: GD6-GD17 [M: 14 days]	F: 0 (vehicle), F: 10, F: 30, F: 100 [M: 100]	3F 3F 5F 3F [3M]	The NOAEL for maternal toxicity, reproductive parameters and fetal examinations was the highest test dose of 100 mg/kg/day. No test item-related influence was noted on the number of resorptions, the number of live fetuses, the body weight of the fetuses and the weight of the placentas. No dead fetuses and no malformations or variations were noted. Treatment was well tolerated by male rats without overt toxicity. No assessment of exposure or pharmacology was included.	4.2.3.5.2-1 [redacted]35985
Rabbit/New Zealand White	IV (dose/approximately 120 seconds) qd (0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7) Administration volume: 5 mL/kg	F: GD6-GD28	0 (vehicle), 10, 30, 100	3F 2F 2F 3F	The NOAEL for maternal toxicity, reproductive parameters and fetal examinations was the highest test dose of 100 mg/kg/day. No test item-related influence was noted on the number of resorptions, the number of live fetuses, the body weight of the fetuses and the weight of the placentas. No dead fetuses and no malformations or variations were noted. Exposure to efgartigimod was confirmed in pregnant dams (non-GLP). Reduction of IgG as expression of primary pharmacology was established (non-GLP).	4.2.3.5.2-3 [redacted]35987

F=female; GD=gestation day; GLP= Good Laboratory Practice; Ig=immunoglobulin; IV=intravenous; M=male; No.=number; NOAEL=no observed adverse effect level; qd=once daily

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

Report title: Examination of the Influence of Efgartigimod on the Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of Rats Following Intravenous Administration to the Animals of the F0 Generation		**Test article:** efgartigimod
Design similar to ICH S5(R3) : Yes	**Duration of dosing:** M: Once daily, beginning 4 weeks before mating and continuing until test days 42 or 43, which was one day before sacrifice on day 43 or 44	**Study number:** [redacted]**35984**
Species/strain: Rats/Sprague Dawley CD® / Crl:CD(SD)	**Day of mating:** Day 0 **Duration of dosing:** F**:** Once daily, beginning 2 weeks before mating and continuing until the seventh day of gestation (and during mating for max. 21 days)	**Location in CTD: Module 4.2.3.5.1-1**
Initial age: 55 days	**Day of C-section:** On day 13 of gestation	
Date of first dose: M: [redacted] 20[redacted]; F: [redacted] 20[redacted]	**Method of administration:** IV (dose/approximately 15 seconds) qd Administration volume: 10 mL/kg	**GLP compliance:** Yes
Special features: Satellite animals were used for the measurement of possible ADA (not determined in view of unaltered TK in this study) and efgartigimod concentration in serum	**Vehicle/formulation:** 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 10 mM L-methionine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7	
No observed adverse effect level:		
F_0 Males: 100 mg/kg qd		
F_0 Females: 100 mg/kg qd		
F_1 Litters: 100 mg/kg qd		

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.1-1** **Study number: [redacted]35984**
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Males			
Toxicokinetics $AUC_{0\text{-}23h}$ Day 1			
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), Day 42	BLOQ	3025.41	11541.52
No. evaluated	20[a]	20	20
No. died or sacrificed moribund	0	0	0
Clinical observations	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-
Body weight (%)	459.60 g	+3.1	+1.0
Food consumption (%)	64.99 g/kg/day	+0.9	-0.3
Mean no. days prior to mating (pre-coital time)	NR	NR	NR
No. of males that mated	20	20	20
No. of fertile males	20	20	20
Females			
Toxicokinetics $AUC_{0\text{-}23h}$ Day 15 (first day of dosing)			
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), GD7	BLOQ	4115.55	9630.40
No. evaluated	19[b]	20	20
No. died or sacrificed moribund	0	0	0
Clinical observations	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-
Premating body weight (%)	275.12 g	+1.9	+0.4

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.1-1** **Study number: [redacted]35984**
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Gestation body weight (%)	337.01 g	+1.9	-0.1
Premating food consumption (%)	73.38 g	-0.5	-1.8
Gestation food consumption (%)	80.28 g	-3.0	-1.3
Mean No. Estrous cycles/14 days			
Pre-treatment period (days 1 to 14)	1.3	1.6	1.7
Treatment period (days 15 to 28)	2.0	1.9	1.5[§]
Mean no. days prior to mating	NR	NR	NR
No. of females sperm positive	19	20	20
No. of pregnant females	17	20	19
No. Aborted or with total resorption of litter	0	1	0
Mean no. corpora lutea	16.8	16.7	17.1
Mean no. implantations	16.5	16.4	17.1
Mean % preimplantation loss	1.26	4.59	0.33
Mean no. live conceptuses	16.1	16.6	16.5
Mean no. resorptions	0.5	0.7	0.5
No. dead conceptuses	0	0	0
Mean % postimplantation loss	2.8	8.6[c]	2.9

ADA=anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 23 hours postdose; BLOQ=below limit of quantitation; C-section= Caesarean section; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; ICH=International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; IV=intravenous; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; max=maximum; No.=number; NR=not reported; qd=once daily; TK=toxicokinetics
- No noteworthy findings.
[§] $p \leq 0.05$ Anova & Dunnett (Rank)

[a] One control male (no. 6) was removed on test day 50 after the maximum mating period of 21 days.
[b] No positive mating sign was noted for animal no. 26 after the maximum mating period of 21 days (test day 50). The animals were separated and the male partner (no. 6) was sacrificed. Due to advance signs of pregnancy no. 26 was laparotomized 7 days after separation from its male partner. As the real day of mating and hence the age of the fetuses could not be evaluated, animal no. 26 was excluded from the study.
[c] The increased mean values are due to animal no. 64 (resorption of all implants) with a resorption rate and a percentage of post implantation loss of 100%.

2.6.7.13.　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report title: Embryo-Fetal Development Study in Rats with Efgartigimod by Intravenous Administration</td><td>Test article: efgartigimod</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Design similar to ICH S5(R3) : Yes</td><td>Duration of dosing: GD6-GD17</td><td rowspan="2">Study number: [redacted]35986</td></tr>
<tr><td>Day of mating: Day 0</td></tr>
<tr><td>Species/strain: Rats/Sprague Dawley
CD® / Crl:CD(SD)</td><td>Day of C-section: Day 21</td><td rowspan="2">Location in CTD: Module 4.2.3.5.2-2</td></tr>
<tr><td>Initial age: 8 – 9 weeks</td><td>Method of administration: IV (dose/approximately 15 seconds) qd
Administration volume: 10 mL/kg</td></tr>
<tr><td>Date of first dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Vehicle/formulation: 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, [redacted] mM L-methionine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7</td><td>GLP compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special features: Satellite animals were used for the measurement of possible ADA (not determined in view of unaltered TK in this study) and efgartigimod concentration in serum.</td></tr>
<tr><td colspan="3">No observed adverse effect level:</td></tr>
<tr><td>F_0 Females:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd</td></tr>
<tr><td>F_1 Litters:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd</td></tr>
</table>

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.2-2** **Study number: [redacted]35986**
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Toxicokinetics (no. of satellite animals):	3	9	9
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), GD17	BLOQ	1925.437	6456.220
Dams/does:	25	25	25
No. pregnant	25	25	25
No. died or sacrificed moribund	0	0	0
No. aborted or with total resorption of litter	0	0	0
Clinical observations	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-
Body weight (%)	381.58 g	-0.2	+1.4
Food consumption (%)	70.11 g/kg/day	-5.9	+7.8
Mean no. corpora lutea	15.3	15.6	15.4
Mean no. implantations	15.2	15.2	14.8
Mean % preimplantation loss (group mean)	0.3	2.6*	3.9**
Mean % preimplantation loss (mean/dam)	0.3	2.3	4.6
Litters:			
No. Litters Evaluated	20	20	20
No. live fetuses	294	291	289
Total resorptions, total	11	13	7
Total resorptions, mean per dam	0.6	0.7	0.4
No. of dead fetuses	0	0	0

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.2-2** **Study number: [redacted]35986**
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Mean % postimplantation loss	3.62	4.15	1.96
Mean fetal body weight (g) M/F	5.32/5.07	5.38/5.09	5.52/5.22
Fetal sex ratios	0.99	1.17	0.99
Fetal anomalies:			
Gross external	0	0	0
Visceral anomalies	0	0	0
Skeletal anomalies	0	0	0
Total affected fetuses (litters)	0	0	0

ADA=anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 23 hours postdose; BLOQ=below limit of quantitation; C-section= Caesarean section; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour; ICH=International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; IV=intravenous; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; No.=number; qd=once daily; TK=toxicokinetics
- No noteworthy findings.
* $p \leq 0.05$ Chi^2 – test
** $p \leq 0.01$ Chi^2 – test

2.6.7.13.B.　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

<table>
<tr><td colspan="2">Report title: Embryo-Fetal Development Study in Rabbits with Efgartigimod by Intravenous Administration</td><td>Test Article: efgartigimod</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Design similar to ICH S5(R3) : Yes</td><td>Duration of dosing: GD6-GD28</td><td rowspan="2">Study number: [redacted]35988</td></tr>
<tr><td>Day of mating: Day 0</td></tr>
<tr><td>Species/strain: Rabbit/New Zealand White</td><td>Day of C-section: Day 29</td><td rowspan="2">Location in CTD: Module 4.2.3.5.2-4</td></tr>
<tr><td>Initial age: approximately 5 months</td><td>Method of administration: IV (dose/approximately 120 seconds) qd
Administration volume: 5 mL/kg</td></tr>
<tr><td>Date of first dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Vehicle/formulation: 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, [redacted] mM L-methionine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7</td><td>GLP compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special features: Satellite animals were used for the measurement of possible ADA (not determined in view of unaltered TK in this study) and efgartigimod concentration in serum.</td></tr>
<tr><td colspan="3">No observed adverse effect level:</td></tr>
<tr><td>F_0 Females:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd</td></tr>
<tr><td>F_1 Litters:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd</td></tr>
</table>

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.2-4** **Study number: [redacted]35988**	
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), GD28	BLOQ	15759.1	49443.1	
Dams/does:				
No. pregnant	20	22[a]	21[a]	
No. died or sacrificed moribund	0	0	0	
No. aborted or with total resorption of litter	0	2[a]	1[a]	Background Data: 2013 to June 2017 Abortion rate in %: control groups: 4.26% ±4.18% (0.0%-9.5%) test groups: 3.43% ±3.69% (0.0%-10.0%)
Clinical observations	-	-	-	
Pathology observations	0	1	1	
Number of animals evaluated:	0	2	1	
Number of animals with findings:	NA	1	1	
Liver	NA	1	-	
- paleness, correlating microscopically with mild vacuolation of centrilobular hepatocytes		1		
- white focus, correlating microscopically with multifocal, moderate necrosis		1		
Gall bladder	NA	1	-	
- enlarged, correlating microscopically with mild epithelial hypertrophy		1		

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.2-4** **Study number: [redacted]35988**	
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	
Spleen	NA	-	1	
- enlarged, correlating microscopically with mild congestion (may be immunogenicity related)			1	
Body weight (%)	4.775 kg	-2.4	+0.4	
Food consumption (%)	23.02 g/kg/day	-6.8	+0.9	
Mean no. corpora lutea	12.4	11.9	11.8	
Mean no. implantations	11.0	10.3	10.6	
Mean % preimplantation loss	9.69	14.53	9.44	
Litters:				
No. litters evaluated	20	20	20	
No. live fetuses	210	191	204	
Mean no. resorptions	7	8	6	
No. of litters with dead fetuses	0	0	0	
Mean % postimplantation loss	4.44	5.92	3.62	
Mean fetal body weight (g) M/F	42.72/43.41	45.93/45.41	46.73/45.98	
Fetal sex ratios	1.12	0.91	1.17	
Fetal anomalies:				
Gross external	0	0	1[b]	
Visceral anomalies	0	0	0	
Skeletal anomalies	0	0	1[b]	

Test article: efgartigimod			**Location: Module 4.2.3.5.2-4** **Study number: [redacted]35988**	
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	
Total affected fetuses (litters), mean%	0	0	0.5	
Skeletal examinations:				Background Data: 2013 to June 2017 Fetuses with skeletal retardations (mean % per group), control groups: 53.96% ±15.92% (20.7%-77.1%) test groups: 49.98% ±13.13% (25.2%-75.2%)
Total fetal skeletal retardations				
Fetal incidence (%)	54.8	45.5*	48.5	
Litter incidence (%)	90.0	100.0	95.0	

ADA=anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 23 hours postdose; BLOQ=below limit of quantitation; F=female; ICH=International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; IV=intravenous; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; LLOQ=lower limit of quantification; M=male; NA=not applicable; No.=number; qd=once daily; TK=toxicokinetics

- No noteworthy findings.

* $p \leq 0.05$ Fisher or Chi^2 - test

[a] Dams no. 27 and 47 (Group 2) as well as dam no. 66 (Group 3) were included in the calculation until their premature sacrifice after abortion.

[b] One fetus (female) of the high dose dam no. 60 was noted with external alterations in the form of multiple external malformations [absent head (acephaly) and omphalocele with prolapse of liver and intestines]. Furthermore, bilateral flexure of the hind limbs (external variation) was observed for this fetus. All afore-mentioned external gross alterations are considered to be not test item-related, above all as no corresponding findings were noted in any other examined fetus.

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

<table>
<tr><td colspan="2">Report title: Examination of Efgartigimod for Effects on the Pre- and Postnatal Development (Including Maternal Function) Following Intravenous Administration to the Dams of Rats of the F0 Generation</td><td>Test article: efgartigimod</td></tr>
<tr><td>Design similar to ICH S5(R3) : Yes</td><td>Duration of dosing: GD6 until LD21
Day of Mating: Day 0</td><td>Study number: [redacted]35989</td></tr>
<tr><td>Species/strain: Rats/Sprague Dawley
CD® / Crl:CD(SD)</td><td>Method of administration: IV (dose/approximately 15 seconds) qd
Administration volume: 10 mL/kg</td><td rowspan="2">Location in CTD: Module 4.2.3.5.3-1</td></tr>
<tr><td>Initial age: 62 days</td><td>Vehicle/formulation: 0.9% saline solution/25 mM sodium phosphate, 100 mM sodium chloride, 150 mM arginine, 0.02% polysorbate 80, pH 6.7</td></tr>
<tr><td>Date of first dose: [redacted] 20[redacted]</td><td>Litters culled/not culled: culled</td><td>GLP compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special features: None</td></tr>
<tr><td colspan="3">No observed adverse effect level</td></tr>
<tr><td>F_0 Females:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd</td></tr>
<tr><td>F_1 Pups:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd (treatment of the F0)</td></tr>
<tr><td>F_1 Parents:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd (treatment of the F0)</td></tr>
<tr><td>F_2 Pups:</td><td colspan="2">100 mg/kg qd (treatment of the F0)</td></tr>
</table>

Test article: efgartigimod			**Location**: **Module** 4.2.3.5.3-1 **Study number:** [redacted]**35989**
Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**
F_0 Females:			
Toxicokinetics (no. of satellite animals):	3	9	9
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), GD6	BLOQ	2389.8	9934.8
$AUC_{0\text{-}23h}$ (µg·h/mL), GD17	BLOQ	2723.4	10702.4
$AUC_{0\text{-}23ht}$ (µg·h/mL), LD21	BLOQ	2235.6	10023.5
No. pregnant	25	23	20
No. pregnant evaluated	20	21	19
No. died or sacrificed moribund	0	0	1[a]
No. aborted or with total res. of litter			0
Clinical observations	-	-	1[a]
Necropsy observations	-	-	1[a]
Gestation body weight (% change to control)	405.15 g	+0.6	+3.3
Lactation body weight (% change to control)	323.46 g	-0.1	+2.6
Gestation food consumption (% change to control), GD20/21	67.01 g/kg/day	+0.7	+7.2
Lactation food consumption (% change to control), LD7-14	191.57 g/kg/day	-6.7	-2.4
Mean duration of gestation (days change to control)	22.6 days	-1.2	-2.0[##]
Abnormal parturition	0	0	0
F_1 Litters: (Preweaning)			

Test article: efgartigimod				**Location**: **Module 4.2.3.5.3-1** **Study number: [redacted]35989**
Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**30**	**100**
	No. litters evaluated	20	21[b]	19
	Mean no. of implantations	15.6	15.3	16.3
	Mean no. pups/litter	14.7	13.9	15.6
	Mean no. liveborn pups/litter	14.6	13.7	15.5
	No. of litters with stillborn pups	0.1	0.2	0.1
	Postnatal survival to day 4	285	283	285
	Postnatal survival to weaning	280	281	281
	No. of total litter losses	0	1[b]	0
	Pup body weights (g), LD21	41.047	38.915	38.167
	Pup sex ratios, LD1	0.92	1.18	1.08
	Pup clinical signs	-	-	-
	Pup necropsy observations	-	-	-
F_1 Males: (Postweaning)	Not dosed			
	No. evaluated postweaning per litter	20	20	20
	No. died or sacrificed moribund	0	0	0
	Clinical observations	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-
	Body weight gain, days 1-85 (%)	+224.53	+241.43	+242.26
	Body weight change (% change to control)	549.40	+0.9	-1.3

Test article: efgartigimod				**Location**: **Module 4.2.3.5.3-1** **Study number:** [redacted]**35989**
Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**30**	**100**
	Food consumption (%)	NR	NR	NR
	Preputial separation – day of life	22.52	22.30	22.38
	Sensory function: Midair righting reflex/auditor startle reflex/pupillary reflex (% passed)	98.9/97.9/100.0	99.3/99.3/100.0	99.3/98.6/100.0
	Motor activity	NR	NR	NR
	Learning/memory (% passed)	90.7/79.3	95.0/85.0	92.1/84.3
	Mean no. days prior to mating	7.8	5.7	3.5
	No. of males that mated	20	20	20
	No. of fertile males	20	20	20
F_1 Females: (Postweaning)	Not dosed			
	No. evaluated postweaning	20	20	20
	No. died or sacrificed moribund	0	0	0
	Clinical observations	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-
	Premating body weight gain, days 1-64 (g)	109.28	113.48	106.58
	Premating body weight change (% change to control)	290.26 g	-1.4	-5.3
	Gestation body weight gain, days GD0-21 (g)	52.46	48.19	54.33

Test article: efgartigimod				**Location**: **Module 4.2.3.5.3-1** **Study number:** [redacted]**35989**
Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**30**	**100**
	Gestation body weight change (% change to control)	447.70 g	-5.5	-5.0
	Premating food consumption (%)	NR	NR	NR
	Gestation food consumption (%)	NR	NR	NR
	Mean age of vaginal patency (day of life)	33.96	34.03	33.86
	Sensory function: midair righting reflex/auditor startle reflex/pupillary reflex (% passed)	98.9/97.9/100.0	99.3/99.3/100.0	99.3/98.6/100.0
	Motor activity	NR	NR	NR
	Learning/memory (% passed)	90.7/79.3	95.0/85.0	92.1/84.3
	No. of females sperm-positive	20	20	20
	No. of pregnant females	20	17	18
	Mean gestational length (days, GD0-LD1)	22.5	22.6	22.7
	Pregnant with total resorptions	0	1[c]	0
	Mean no. corpora lutea	NR	NR	NR
	Mean no. implantations	16.0	13.7[c]	14.8
	Mean % preimplantation loss	NR	NR	NR
F_2 Litters:	Prenatal development (from conceptus to birth, terminal sacrifice on LD24)			
	Mean No. pups (alive + dead)/litter	14.7	12.9[c]	13.8
	Mean No. live conceptuses/litter	14.6	12.8[c]	13.8
	Mean No. resorptions	NR	NR	NR

Test article: efgartigimod				**Location**: **Module 4.2.3.5.3-1** **Study number: [redacted]35989**
Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**30**	**100**
	No. of litter with dead conceptuses	0.1	0.1[c]	0.0
	No. dead conceptuses	NR	NR	NR
	Mean % postimplantation loss	NR	NR	NR
	Pup body weights on LD21 (g)	43.390	42.868	45.268
	Pup sex ratios (LD1)	1.07	1.07	0.97
	Pup anomalies	-	-	-
	Pup clinical signs (during lactation period)	-	-	-
	Pup necropsy observations			
	hydrocephalus (seen during macroscopic external examination)	1 6 pups (nos. 3, 4, 5, 6, 7 and 8) of dam no. 333	0	0

$AUC_{0\text{-}23h}$=area under the concentration-time curve from time zero to 23 hours postdose; BLOQ=below limit of quantitation; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; ICH=International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; IV=intravenous; LD=lactation day; LLOQ=lower limit of quantification; No.=number; NR=not reported; qd=once daily

- No noteworthy findings.

$p \leq 0.01$ Anova & Dunnett (Rank)

[a] Dam no. 65 was found dead on GD21 revealing signs of incipient abortion (ie, hemorrhagic vagina and implants in resorption in the uterus). Gross pathology showed few changes in the liver (pale and thickened), stomach (a few hemorrhagic foci), adrenals (reddened and enlarged) and the spleen (enlarged) which are considered to be incidental findings. This single death is considered to be not test item-related but spontaneous during incipient abortion.

[b] Including one dam (no. 30, no viable pups) with only one stillborn pup and no living pups.

[c] The incidence of one dam (no. 366, no viable pups) with total resorptions of implants is considered with a value of zero in the mean value calculation.

2.6.7.15.　幼若動物を用いた毒性試験

実施せず。

2.6.7.16.　局所刺激性試験

Report title: Study of Local Tolerance ARGX-113 Following Single Intravenous, Intra-arterial, Paravenous, Subcutaneous and Intramuscular Administration in Rabbits					**Test article:** efgartigimod
Species/ strain	**Method of administration**	**Doses (mg/kg)**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Location Study number**
Rabbit/New Zealand White	IV, IA, SC, PV, IM routes left-right comparison: left side: vehicle (formulation buffer solution as reference control) right side: efgartigimod	IV, IA, SC: 150 mg per animal in 1 mL volume PV, IM: 37.5 mg per animal in 0.25 mL volume	6F	Efgartigimod (150 mg/mL) was well tolerated. No difference in tolerability following IV, IA, SC, PV, or IM administration compared to the control (vehicle) injections, administered in an equal volume for each route of administration. — Additional information: Clinical signs at 1, 2, 6, 24, 48, 72, 96 hours and 14 days after administration. Necropsy with macroscopic and microscopic examinations at 48 hours (n=2) and 96 hours (n=2) and 14 days (n=2) postdose.	4.2.3.6-1 [redacted]34857

ARGX-113=efgartigimod; F=female; IA=intraarterial; IM=intramuscular; IV=intravenous; no.=number of animals, subjects or samples; no.=number; PV=paravenous; SC=subcutaneous

2.6.7.17.　その他の毒性試験

						Test article: efgartigimod	
Study type	**Species/ strain**	**Method**	**Sample type**	**Calibration curve**	**Sex and no. per group**	**Noteworthy findings**	**Location Study number**
Validation	NA	ELISA	Formulation	2.5-80 ng/mL	NA	Accuracy, precision (repeatability and intermediate precision), and stability (6 hours at room temperature, 3 freeze-thaw cycles and at <- 15°C up to 12 months) of samples met.	4.2.3.7.7-1 [redacted]33809
Revalidation	NA	ELISA	Formulation	Range: 2.5-80 ng/mL	NA	Accuracy, precision (intra- and inter-assay precision), and stability (2 hours at room temperature, 3 freeze-thaw cycles and at <-80°C for up to 3 months), of samples met.	4.2.3.7.7-2 [redacted]35990
Validation	NA	OD_{280} (A_{280}) using ultraviolet detection/visible spectrophotometry	Formulation	100-1000 µg/mL	NA	Linearity, specificity, accuracy and precision, and bench-top stability (24 hours at room temperature) resulted in validated and suitable method for quantitative determination of ARGX-113 in test item formulation samples.	4.2.3.7.7-3 AXU20239-20239X-B

A_{280}= absorbance at 280 nm; ARGX-113=efgartigimod; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; NA=not applicable; No.=number; OD=optical density