ミチーガ皮下注用60mgシリンジ

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ADA	Anti -drug (nemolizumab) antibody：抗薬物（nemolizumab）抗体
$AUC_{0\text{-}14d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0から14日後の血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}28d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0から28日後の血漿中濃度時間曲線下面積
C_{max}	Maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
ePPND	enhanced Pre- and Postnatal Development：拡充型出生前及び出生後の発生
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
IgG	Immunoglobulin G：免疫グロブリンG
IL-31	Interleukin 31：インターロイキン31
IL-31R	Interleukin 31 receptor：インターロイキン31受容体
IL-31RA	Interleukin 31 receptor A：インターロイキン31受容体A
IL-6	Interleukin 6：インターロイキン6
IL-8	Interleukin 8：インターロイキン8
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
TNF	Tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子

目次

頁
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.1.1 単回投与毒性 4
2.6.6.1.2 反復投与毒性 5
2.6.6.1.3 遺伝毒性 5
2.6.6.1.4 がん原性 5
2.6.6.1.5 生殖発生毒性 5
2.6.6.1.6 局所刺激性 5
2.6.6.1.7 その他の毒性 5
2.6.6.2 単回投与（急性）毒性試験 6
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） 6
2.6.6.3.1 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 6
2.6.6.3.1.1 カニクイザルを用いた13週間間歇皮下投与毒性試験 6
2.6.6.3.1.2 カニクイザルを用いた26週間間歇皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験 7
2.6.6.4 遺伝毒性試験 8
2.6.6.5 がん原性試験 8
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 8
2.6.6.6.1 カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験 8
2.6.6.7 局所刺激性試験 9
2.6.6.7.1 ウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験 9
2.6.6.8 その他の毒性試験 10
2.6.6.8.1 組織交差反応性試験 10
2.6.6.8.2 サイトカイン放出症候群の*in vitro*でのリスク予測 10
2.6.6.9 考察及び結論 11
2.6.6.10 図表 12
2.6.6.11 参考文献 12

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

Nemolizumabの毒性評価は、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価（ICH-S6 (R1) ）」、「医薬品の生殖発生毒性試験（ICH-S5(R2)）及び「臨床試験のための非臨床試験の実施時期（ICH-M3(R2)）」に従い実施した。実施した試験の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」適用の有無を表 2.6.6-1に示した。

Nemolizumabの毒性評価にあたり、nemolizumabのIL-31RAへの結合及びIL-31RAを介したIL-31活性に対する*in vitro*及び*in vivo*の中和作用を指標として検討した結果、カニクイザルはnemolizumabの薬理作用を示す動物種であることが確認された。一方、nemolizumabは、マウス、ラット及びウサギに交差反応性を示さないことから、nemolizumabが薬理作用を示すカニクイザルを用いて、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験を実施した。また、局所刺激性の評価はウサギを用いて実施した。*In vivo*毒性試験は、臨床試験の投与経路と同様に皮下投与を適用し、投与頻度は2週に1回とした。各毒性試験の投与用量は、ヒトに対するリスク評価を行うために十分な曝露及び安全域が得られるように設定した。

その他の試験として、nemolizumabのヒト及びカニクイザル組織との交差反応性を確認する*in vitro*試験、サイトカイン放出症候群に関わるリスクを予測するための*in vitro*試験を行った。

実施した毒性試験を表 2.6.6-1に示した。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧

試験の種類 （資料番号）	投与 経路	動物種 又は試験系	被験物質：用量又は濃度	GLP 適用	評価／ 参考
反復投与毒性試験					
13週間間歇投与 （4.2.3.2-1）	皮下	カニクイザル	Nemolizumab：0、1、5、25 mg/kg	適	評価
26週間間歇投与+17週間回復 （4.2.3.2-2）	皮下	カニクイザル	Nemolizumab：0、1、5、25 mg/kg	適	評価
生殖発生毒性試験					
拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験 （4.2.3.5.3-1）	皮下	カニクイザル	Nemolizumab：0、1、25 mg/kg	適	評価
局所刺激性試験					
単回皮下刺激性 （4.2.3.6-1）	皮下	ウサギ	Nemolizumab ：100 mg/mL溶液 （0.9 mL/部位）	適	評価
その他の毒性試験					
組織交差反応性試験 （4.2.3.7.7-1）	*In vitro*	ヒト、カニクイザル組織	Nemolizumab：2及び10 µg/mL	適	評価
サイトカイン放出に関する試験 （4.2.3.7.7-2）	*In vitro*	ヒト血液	Nemolizumab ： 0.1 、 1 、 10 及 び 100 µg/mL	非	参考

2.6.6.1.1 単回投与毒性

急性毒性に関する評価は、13週間反復投与毒性試験（最高用量：25 mg/kg）における初回投与後14日までの観察及び各種検査により行った。死亡は認められず、いずれの検査においても、特筆すべき毒性学的変化は認められなかった。

2.6.6.1.2 反復投与毒性

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、nemolizumabを2週に1回の投与頻度で13週間（最高用量：25 mg/kg）及び26週間（最高用量：25 mg/kg）投与した。nemolizumab投与の影響は投与部皮下の反応のみであった。

2.6.6.1.3 遺伝毒性

ICH-S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。Nemolizumabは、分子量の大きいヒト化モノクローナル抗体であり、これがDNAや他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいことから、遺伝毒性に関する懸念は低いと考えられた。

2.6.6.1.4 がん原性

Nemolizumabは6カ月間を超えての使用が想定されることから、ICH S6 (R1)を考慮し、がん原性試験の必要性について検討した。がん原性リスクを評価するための標準的な試験として、マウス及びラットを用いた2年間のがん原性試験があげられるが、nemolizumabは、げっ歯類に薬理活性を示さないため、これらの試験の実施は不適切である。また、nemolizumabが薬理活性を示すカニクイザルは、がん原性リスクを評価するモデルとしては適切ではないと考えられること、IgGクラスの抗体の構造自体にがん原性のリスクはないこと、カニクイザルを用いた26週間までの反復投与毒性試験において増殖性病変や前がん病変は認められず、全身的な免疫機能低下は認められなかったこと、カニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験及びePPND試験において、ホルモン攪乱作用を示唆する変化も認められなかったことから、nemolizumabのがん原性に関する懸念は低いと判断し、がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性

受胎能に及ぼす影響については、性成熟したカニクイザルを用いた13週間間歇皮下投与毒性試験及び26週間間歇皮下投与毒性試験において、雌雄生殖器に毒性学的変化は認められなかった。なお、成熟カニクイザルを用いた26週間間歇皮下投与毒性試験において、雌雄受胎能に関する評価項目（月経周期、精子検査、精巣サイズ測定及び生殖器の組織学的検査）において、毒性学的変化は認められなかった。

妊娠／授乳期雌動物、胚・胎児発生及び出生児の発育に与える影響について、カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験において検討した。妊娠カニクイザルに、器官形成期の開始から出産まで、2週に1回の頻度で間歇皮下投与（最高用量 : 25 mg/kg）した。また、出生児に生後35日目から26週間、2週に1回の頻度で間歇皮下投与（最高用量 : 25 mg/kg）した。母動物、出生児ともにnemolizumab投与の影響は認められなかった。

2.6.6.1.6 局所刺激性

局所刺激性を評価するため、Nemolizumab溶液（100 mg/mL）のウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験を実施した。その結果、投与部位局所に所見は認められなかった。

2.6.6.1.7 その他の毒性

Nemolizumabの*in vitro*組織交差反応性を、ヒト及びカニクイザルにおける、それぞれ35種類の正常組織の凍結切片を用いて検討した。ヒト組織では、上皮組織として眼、食道、肺、唾液腺、皮

膚、胸腺、扁桃腺、前立腺、尿管、膀胱、子宮と、非上皮組織として筋細胞、毛嚢根鞘、肺胞マクロファージに、nemolizumabの特異的反応性がみられた。このうち、眼及び子宮はヒト組織でのみ特異的反応性が認められた。その他の組織では、ヒト組織とカニクイザル組織では、概ね同様のnemolizumabの特異的反応性がみられた。

ヒトにおける初回投与時のサイトカイン放出症候群の発症リスクを予測するため、nemolizumabによるサイトカイン放出に関する*in vitro*試験を、健康成人から得た新鮮な全血を用いて行った。2/10例の血液試料において、nemolizumabはIL-6若しくはTNFの増加を誘導した。Nemolizumabの初回投与時のサイトカイン放出症候群の発症リスクは、高リスク対照薬（alemtuzumabなど）に比べて低いと考えられた。

2.6.6.2 単回投与（急性）毒性試験

急性毒性に関する評価は、13週間反復投与毒性試験における初回投与後14日までの観察及び各種検査により行った。4~7歳齢の性成熟したカニクイザル（雌雄各4例／群）を用いて、0（溶媒）、1、5及び25 mg/kgの用量で皮下投与し、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査、末梢血イムノフェノタイピング及び血清中サイトカイン測定を実施した。死亡は認められず、いずれの検査においても、特筆すべき毒性学的変化は認められなかった。

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 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 カニクイザルを用いた13週間間歇皮下投与毒性試験

[4.2.3.2-1、報告書番号 TOX[redacted]-5016（評価資料）]

(1) 試験方法

4~7歳齢の性成熟したカニクイザル（雌雄各4例／群）を用いて、0（溶媒）、1、5及び25 mg/kgの用量で2週に1回、13週間間歇皮下投与（計7回）し、最終投与の3日後に剖検に供した。

本試験では、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、末梢血イムノフェノタイピング、血清中サイトカイン測定、心電図検査、神経行動学的機能観察、剖検、器官重量測定、骨髄検査、病理組織学的検査及び抗薬物抗体（ADA）検査を実施した。また、nemolizumabの血漿中濃度は、初回投与の8時間後、2、4、7及び14日後（計5時点）、投与3回目の投与前（計1時点）、投与4及び6回目の投与前、投与後8時間、2、4、7及び14日後（計6時点）、剖検日の剖検前（1時点）に採血し、測定した。

(2) 試験結果

投与15日あるいは88日目の血液生化学的検査において、25 mg/kg群の雌雄でCPKの低値が認められた。低値であること、変化の程度はわずかであること、実施施設の背景データの範囲内の変化であることから、毒性学的意義は低いと考えられた。その他、投与に関連する全身性の影響は認められず、死亡の発生もなかった。投与部位局所への影響として、最終投与後3日に採取した投与部位の病理組織学的検査において、対照群及び5 mg/kg群でもみられた皮下組織における単核細胞浸潤の程度及び発現頻度が25 mg/kg群でわずかに高かった。

ADA検査において、1 mg/kg群の雌1例及び5 mg/kg群の雌2例では、投薬後にADAが検出された。このうち、1 mg/kg群の雌1例及び5 mg/kg群の雌1例では、それぞれ同群の他の動物と比較して血漿中nemolizumab濃度は低い値を示した。

ADAの産生がみられた動物を除いて雌雄ともにすべての投与量において投与量に比例したC_{max}及びAUC_{0-14d}の増加が認められた。ADAの産生がみられた動物では、ADAの産生がみられなかった動物に比べ血漿中nemolizumab濃度が低値を示した。初回投与ではすべての投与量において雌雄差は認められなかった。1 mg/kg群及び5 mg/kg群の投与4回目及び6回目の全身曝露量は、雄に比べて雌で低値傾向を示した。雌雄ともにすべての投与量で反復投与によるC_{max}及びAUC_{0-14d}の増加が認められた。

以上の結果より、本試験ではnemolizumabの全身曝露による毒性学的変化はいずれの投与群においても認められず、全身曝露に関連したNOAELは25 mg/kg/2週と考えられた。

2.6.6.3.1.2 カニクイザルを用いた26週間間歇皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験

[4.2.3.2-2、報告書番号 TOX[redacted]-0076（評価資料）]

(1) 試験方法

3~6歳齢の性成熟したカニクイザル（雌雄各5例／群）を用いて、0（溶媒）、1、5及び25 mg/kgの用量で2週に1回、26週間間歇皮下投与（計14回）し、最終投与の3日後に各群雌雄各3例を剖検に供し、残りの各群雌雄各2例は、17週間の休薬後に剖検に供した。

本試験では、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、月経周期、精子検査、精巣サイズ測定、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、骨髄検査、末梢血イムノフェノタイピング、血清中サイトカイン測定、T細胞依存性抗体反応、心電図検査、呼吸数計数、血圧測定、神経行動学的機能観察、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査及びADA検査を実施した。また、nemolizumabの血漿中濃度は、初回投与の8時間後、2、4、7及び14日後（計5時点）、投与4及び9回目の投与前（計1時点）、投与6、11及び13回目の投与前、投与後8時間、2、4、7及び14日後（計6時点）、回復期間中は最終投与の7、35、63、91及び119日後（計5時点）に採血し、測定した。

(2) 試験結果

投与期間、回復期間を通じて、いずれの群も各種検査で投与に関連する全身性の影響は認められず、死亡の発生もなかった。

1 mg/kg群の雄3例及び雌1例、5 mg/kg群の雄1例及び雌1例、並びに25 mg/kg群の雌2例では、投薬後にADAが検出された。このうち、1 mg/kg群の雄2例及び雌1例、5 mg/kg群の雄1例及び雌1例、並びに25 mg/kg群の雌1例では、中和活性が確認された。

雌雄ともにすべての投与量において投与量に比例したC_{max}及びAUC_{0-14d}の増加が認められた。投与6回目までは、ADAの産生がみられた動物を除いて雌雄ともにすべての投与量でC_{max}及びAUC_{0-14d}の増加傾向が認められた。投与6、11及び13回目では、C_{max}及びAUC_{0-14d}は最大値付近に達した。投与11及び13回目ではすべての投与量で雌のC_{max}及びAUC_{0-14d}が雄よりも低値傾向を示したものの、投与期間中の全身曝露はすべての用量及び期間において明らかな性差は認められなかった。回復期間においては、すべての用量において血漿中nemolizumab濃度が徐々に減少し、最終投与後119日において全身曝露が確認されたのは雄4例と雌2例であった。ADAの産生がみられたほぼすべての動物で、ADAの産生がみられなかった動物に比べ血漿中nemolizumabの消失が速かった。

以上の結果より、本試験ではnemolizumabの全身曝露による毒性学的変化はいずれの投与群においても認められず、全身曝露に関連したNOAELは25 mg/kg/2週と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ICH-S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。Nemolizumabは、分子量の大きいヒト化モノクローナル抗体であり、これがDNAや他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいことから、遺伝毒性に関する懸念は低いと考えられた。

2.6.6.5 がん原性試験

Nemolizumabは6ヵ月間を超えての使用が想定されることから、ICH S6 (R1)を考慮し、がん原性試験の必要性について検討した。がん原性リスクを評価するための標準的な試験として、マウス及びラットを用いた2年間のがん原性試験があげられるが、nemolizumabは、げっ歯類に薬理活性を示さないため、これらの試験の実施は不適切である。

カニクイザルを用いた26週間までの反復投与毒性試験における病理組織学的検査の結果、増殖性病変や前がん病変は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、T細胞依存性抗体反応及び骨髄を含む免疫・造血器系の病理組織学的検査の結果からは、全身的な免疫機能の低下を示唆する変化は認められなかった。また、カニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験及びePPND試験において、ホルモン攪乱作用を示唆する変化も認められなかった。

IL-31Rをノックアウトしたマウスでは、野生型マウスと比べて、生後の体重、出生率、血液学的検査、血液生化学的検査、器官の発達などに異常は認められなかった。骨髄や脾臓中の一部の造血系前駆細胞において、未成熟細胞の絶対数が少なかったものの、循環血中の赤血球や血小板、その他の血液細胞数に変化はみられなかった[1)]。

加えて、nemolizumabが薬理活性を示すカニクイザルは、がん原性リスクを評価するモデルとしては適切ではないと考えられること、IgGクラスの抗体の構造自体にがん原性のリスクはないことから、nemolizumabのがん原性に関する懸念は低いと判断し、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

2.6.6.6.1 カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験

[4.2.3.5.3-1、報告書番号 TOX[redacted]-0140（評価資料）]

(1) 試験方法

妊娠カニクイザル（16例／群）を用いて、0（溶媒）、1及び25 mg/kgの用量で2週に1回、器官形成期の開始（妊娠20日目）から出産まで間歇皮下投与した。また、nemolizumabの出生児に対する毒性及び発育への影響について評価するため、0（溶媒）、1及び25 mg/kgの用量で2週に1回、生後35日目から26週間（計14回）間歇皮下投与した。母動物については自然分娩させ、産後220日目まで出生児の哺育に供した。また出生児については生後220日目に剖検を行った。

本試験では、母動物の一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、超音波検査（妊娠の確認及び胎児検査）、血液学的検査、血液生化学的検査、ADA測定及びTK測定を実施した。

出生児については、一般状態観察、体重測定、X線装置を用いた骨格検査、外表検査、形態的及び機能的発達、母体-出生児間交流、血液学的検査、血液生化学的検査、眼科学的検査、心電図検査、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査、ADA測定及びTK測定を実施した。

また、出生児の免疫機能評価として、T細胞依存性抗体産生及び末梢血イムノフェノタイピングを実施した。

(2) 試験結果

妊娠及び哺育期間における母動物の一般状態、体重、摂餌状況、妊娠日数、胎児の超音波検査、血液学的検査及び血液生化学的検査においてnemolizumab投与の影響と考えられる毒性学的変化は認められなかった。妊娠に対するnemolizumab投与の影響は認められず、出生児への投与を開始した生後35日目時点での生存児数は、0（溶媒）、1及び25 mg/kg群でそれぞれ13、10及び11例と同程度であった。

出生児のnemolizumab投与に関連した一般状態、体重、外表及び骨格検査、形態的及び機能的発達、母体–出生児間交流、血液学的検査、血液生化学的検査、末梢血イムノフェノタイピング、T細胞依存性抗体産生、眼科学的検査、心電図検査、剖検所見、器官重量測定及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。

1 mg/kg群の母動物4例及び出生児2例において、投薬後にADAが検出され、いずれの検体においても中和活性が確認された。25 mg/kg群の母動物3例において、投薬後にADAが検出されたが、いずれの検体においても中和活性は確認されなかった。

母動物では、ADAの産生がみられた動物を除いて、投与量にほぼ比例したC_{max}及び$AUC_{0\text{-}14d}$の増加が認められた。6回目及び9回目投与後のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}14d}$は、初回投与後と比較して高い傾向を示した。投与期間が終了した出産後の母動物では、血漿中nemolizumab濃度が徐々に低下したものの、1 mg/kg群ではADAの産生がみられた動物を除いて哺育35～91日目まで曝露が確認され、25 mg/kg群では哺育63～147日目まで曝露が確認された。

出生児においては、生後7日目の血漿中nemolizumab濃度が母動物の血漿中濃度とほぼ同程度であり、nemolizumabが母動物の胎盤を経由して胎児に移行することが示唆された。投与開始後の出生児におけるC_{max}及び$AUC_{0\text{-}14d}$（13回目投与後）は、ADAの産生がみられた動物を除いて、投与量にほぼ比例した増加が認められた。

乳汁中nemolizumab濃度は、血漿中濃度に対して0.2～0.5%（ADA陽性の個体を除く）であり、カニクイザルにおけるnemolizumabの乳汁分泌はわずかであることが示唆された。

以上、本試験ではnemolizumab投与に起因する毒性学的変化はいずれの投与群においても認められず、母動物及び胎児の出生前発達、並びに出生児の生後発育に対するNOAELは、いずれも25 mg/kg/2週と考えられた。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験

[4.2.3.6-1、報告書番号 TOX[redacted]-0024（評価資料）]

(1) 試験方法

New Zealand White種、雄性ウサギ6例の左側腹部皮下に100 mg/mLのnemolizumab溶液を0.9 mL/部位の容量で、右側腹部皮下に生理食塩液を単回投与し、投与部位の外観を毎日観察した。投与後3及び14日に各3例について、投与部位の肉眼的観察及び病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

外観検査、剖検時の投与部皮下の観察及び病理組織学的検査の結果、nemolizumab溶液投与に関連する変化はみられず、皮下投与による刺激は認められなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 組織交差反応性試験

[4.2.3.7.7-1、報告書番号 [redacted]（評価資料）]

(1) 試験方法

Nemolizumabの*in vitro*組織交差反応性を、ヒト及びカニクイザルにおける、それぞれ35種類の正常組織の凍結切片（各3例/組織）を用いて検討した。

(2) 試験結果

Nemolizumabの特異的反応性がみられたヒト組織は、上皮組織として眼（角膜の重層扁平上皮）、食道（重層扁平上皮）、肺（肺細胞／細気管支）、唾液腺（導管）、皮膚（表皮の重層扁平上皮、汗管）、胸腺（ハッサル小体の重層扁平上皮）、扁桃腺（粘膜と陰窩の重層扁平上皮）、前立腺（腺上皮、前立腺部尿道の移行上皮）、尿管、膀胱（移行上皮）、子宮（子宮内膜の腺上皮、頚部の重層扁平上皮）と、非上皮組織として筋細胞（骨格筋、眼周囲）、毛嚢根鞘、肺胞マクロファージであった。このうち、眼及び子宮はヒト組織でのみ特異的反応性が認められた。その他の組織では、カニクイザル組織においても、ヒト組織と概ね同様の特異的反応性がみられた。

2.6.6.8.2 サイトカイン放出症候群の*in vitro*でのリスク予測

[4.2.3.7.7-2、報告書番号 TOX[redacted]-0135S（参考資料）]

(1) 試験方法

ヒトにおける初回投与時のサイトカイン放出症候群の発症リスクを予測するため、nemolizumab（試作製造原薬）によるサイトカイン放出に関する*in vitro*試験を、健康成人10例から得た新鮮な全血を用いて行った。各血液試料にnemolizumab（0.1～100 μg/mL）を添加し、24時間培養後のIL-8、IL-6及びTNFを測定した。臨床においてサイトカイン放出を誘発し一連の症状をもたらすことが知られている抗体医薬alemtuzumab[2)3)]及び自社製造したTGN1412（同一配列抗体）[4)]を高リスク対照薬として、panitumumab[5)]を低リスク対照薬として用いた。

(2) 試験結果

健康な供血者10例中2例の血液試料において、nemolizumabはIL-6若しくはTNFの増加を誘導し、低リスク対照薬であるpanitumumabでは、10例中1例でIL-8、IL-6及びTNFの増加を誘導した。高リスク対照薬であるalemtuzumabは10例中10例でIL-8、IL-6又はTNFのうち、少なくとも1つ以上の増加を誘導し、TGN1412も10例中5例でIL-8、IL-6又はTNFのうち、少なくとも1つ以上の増加を誘導した。

以上より、nemolizumabの初回投与時のサイトカイン放出症候群の発症リスクは、高リスク対照薬（alemtuzumabなど）に比べて低いと考えられた。

2.6.6.9 考察及び結論

NemolizumabのIL-31RAへの結合及びIL-31RAを介したIL-31活性に対する*in vitro*及び*in vivo*の中和作用を指標として検討した結果、カニクイザルはnemolizumabの薬理作用を示す動物種であることが確認された。一方、nemolizumabは、マウス、ラット及びウサギに交差反応性を示さないことから、nemolizumabが薬理作用を示すカニクイザルを用いて、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験を実施した。

カニクイザルに25 mg/kgまでの用量で、2週に1回投与した13及び26週間間歇皮下投与毒性試験において、nemolizumabの全身曝露による毒性学的変化は認められず、臨床適用経路である皮下投与によるこれらの試験における全身曝露に関連したNOAELは、25 mg/kg/2週と結論した。また、拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験において、妊娠カニクイザル（器官形成期の開始から出産まで）及び新生カニクイザルに25 mg/kgまでの用量で、2週に1回皮下投与したとき、nemolizumabに関連した毒性学的変化は認められなかった。このことから、母動物及び胎児の出生前発達、並びに出生児の生後発育に対するNOAELは、いずれも25 mg/kg/2週と結論した。アトピー性皮膚炎患者を対象とした第III相比較臨床試験において、臨床推奨用量（60 mg/body）を4週に1回投与したときの曝露量（$AUC_{0\text{-}28d}$：102.30 (μg･day/mL)、初回投与時）は、これらの毒性試験のNOAELにおける初回投与時の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}14d}$：45800～58600 (μg･hr/mL)、$AUC_{0\text{-}28d}$に換算すると3817～4883 (μg･day /mL)）の約1/37～1/48であり、十分な安全域が確保されていると判断した。なお、毒性試験の投与頻度は、臨床試験の2倍であったため、安全域の算出時には、毒性試験の全身曝露量に2を乗じた。

出生児においては、生後7日目の血漿中nemolizumab濃度が母動物の血漿中濃度とほぼ同程度であり、nemolizumabが母動物の胎盤を経由して胎児に移行することが示唆された。乳汁中nemolizumab濃度は、血漿中濃度に対して0.2～0.5%（ADA陽性の個体を除く）であり、カニクイザルにおけるnemolizumabの乳汁分泌はわずかであることが示唆された。

Nemolizumabは、バイオテクノロジー応用医薬品であるため、ICH-S6(R1)ガイドラインの考え方に従い、遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。反復投与毒性試験の結果等から、Nemolizumabのがん原性に関する懸念は低いと判断した。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、免疫原性を評価した結果、nemolizumabを投与した一部の動物でADAが検出され、さらに中和抗体が検出された動物もみられた。しかしながら、毒性試験の各種検査において、ADA産生に起因したと考えられる影響は認められなかった。

カニクイザルを用いた毒性試験に加えて、サイトカイン放出症候群に関わるリスク予測を健康成人の全血を用いた*in vitro*試験により行った。NemolizumabはIL-6若しくはTNFの増加を誘導したが、発現頻度が低いことから、高リスク対照薬（alemtuzumabなど）に比べてサイトカイン放出症候群の発症リスクは低いと考えられた。

投与部位局所に対する影響について、ウサギを用いた単回皮下投与による局所刺激性試験にて確認した結果、刺激は認められなかった。カニクイザルを用いた26週間間歇皮下投与毒性試験においても、臨床製剤と同一処方であるnemolizumab溶液（最高濃度100 mg/mL）の投与部位局所に所見は認められなかった。第II相試験、第III相試験及び長期投与試験の全治療期間でみられた注射関連反応に関する有害事象の発現割合は6.4%であり、その多くは、注射部位反応や注射部位内出血などの注射部位の症状であった。注射部位反応（中等度）及び剥脱性皮膚炎（高度）の各1例を除き、重症度はすべて軽度であったことから、臨床使用において、投与部位の刺激が問題となる可能性は低いと考えられた。

2.6.6.10 図表

毒性試験の概要文中に図表を含めた。

2.6.6.11 参考文献

1) Broxmeyer HE, et al. Regulation of myeloid progenitor cell proliferation/survival by IL-31 receptor and IL-31. Exp Hematol 2007;35:78-86.
2) Wing MG, Moreau T, Greenwood J, Smith RM, Hale G, Isaacs J, et al. Mechanism of first-dose cytokine-release syndrome by CAMPATH 1-H: involvement of CD16 (FcγRIII) and CD11a/CD18 (LFA-1) on NK cells. J Clin Invest 1996;98:2819-26.
3) Bugelski PJ, Achuthanandam R, Capocasale RJ, Treacy G, Bouman-Thio E. Monoclonal antibody-induced cytokine-release syndrome. Expert Rev Clin Immunol 2009;5:499-521.
4) Suntharalingam G, Perry MR, Ward S, Brett SJ, Castello-Cortes A, Brunner MD, et al. Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. N Engl J Med. 2006 Sep 7;355(10):1018-28.
5) Chung CH. Managing Premedications and the risk for reactions to infusional monoclonal antibody therapy. The Oncologist 2008 Jun;13(6):725-32.

ミチーガ皮下注用60mgシリンジ

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

M2.6.7　毒性試験概要表

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ADA	Anti-Drug Antibody：抗薬物抗体
$AUC_{0\text{-}14d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0から14日までの血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}28d}$	Area under the plasma concentration time curve：投与後0から28日までの血漿中濃度時間曲線下面積
CH5427227	Nemolizumab
CHMP	Committee for Human Medicinal Products：ヒト用医薬品委員会
CIM331	Nemolizumab
CIM331-100	Nemolizumab
C_{max}	Maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
EMEA	European Medicines Agency（current EMA）：欧州医薬品庁
ePPND	enhanced Pre- and Postnatal Development：拡充型出生前及び出生後の発生
GD	Gestation Day：妊娠日数
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
IL-6	Interleukin 6：インターロイキン6
IL-8	Interleukin 8：インターロイキン8
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
NZW	New Zealand White：ニュージーランド白色種
PBS	Phosphate Buffered Saline：リン酸緩衝生理食塩水
PND	Postnatal Day：出生後日数
TNF	Tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子

目次

頁
2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧 7
2.6.7.5 急性毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 7
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 8
2.6.7.7.1 カニクイザル13週間反復皮下投与毒性試験 8
2.6.7.7.2 カニクイザル26週間反復皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験 12
2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験 15
2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験 15
2.6.7.10 がん原性試験 15
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 15
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 15
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 15
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験 16
2.6.7.15 新生児を用いた試験 18
2.6.7.16 局所刺激性試験 19
2.6.7.16.1 ウサギ単回皮下刺激性 19
2.6.7.17 その他の毒性試験 20
2.6.7.17.1 組織交差反応性試験 20
2.6.7.17.2 サイトカイン放出症候群の*in vitro*でのリスク予測 21

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧

被験物質：Nemolizumab

試験種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所
反復投与毒性試験	カニクイザル	皮下	13週間（1回/2週）	0、1、5、25 mg/kg	適	[redacted]	TOX[redacted]-5016	4.2.3.2-1
	カニクイザル	皮下	26週間（1回/2週）	0、1、5、25 mg/kg	適	[redacted]	TOX[redacted]-0076	4.2.3.2-2
生殖発生毒性試験 拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験	カニクイザル	皮下	母動物：GD20～GD174（1回/2週） 出生児：PND35～PND217（1回/2週）	0、1、25 mg/kg	適	[redacted]	TOX[redacted]-0140	4.2.3.5.3-1
局所刺激性試験	NZWウサギ	皮下	単回	生理食塩液、 100 mg/mL液：0.9 mL/部位	適	[redacted]	TOX[redacted]-0024	4.2.3.6-1
その他の試験 組織交差反応性試験	ヒト、カニクイザル	*In vitro*（組織切片）	-	2 μg/mL及び10 μg/mL	適	[redacted] b)	[redacted]	4.2.3.7.7-1
サイトカイン放出に関する試験	ヒト	*In vitro*（血液）	-	終濃度0.1、1、10及び100 μg/mL	非	中外製薬 富士御殿場研究所	TOX[redacted]-0135S	4.2.3.7.7-2

a)特に記載のない場合、投与量はnemolizumabの投与量として示す。また、反復投与毒性試験での下線は無毒性量（NOAEL）を示す。

b) [redacted] = [redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：Nemolizumab

試験の種類	試験系	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	被験物質	GLP適用	試験番号	CTDにおける記載箇所
反復投与毒性試験	カニクイザル	皮下	13週間（1回/2週）	0、1、5、25 mg/kg	Nemolizumab	適	TOX[redacted]-5016	4.2.3.2-1
	カニクイザル	皮下	26週間（1回/2週）	0、1、5、25 mg/kg	Nemolizumab	適	TOX[redacted]-0076	4.2.3.2-2
生殖発生毒性試験	カニクイザル	皮下	母動物：GD20～GD174（1回/2週） 出生児：PND35～PND217（1回/2週）	0、1、25 mg/kg	Nemolizumab	適	TOX[redacted]-0140	4.2.3.5.3-1

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：Nemolizumab

	$AUC_{0\text{-}14d}$（μg･hr/mL）			C_{max}（μg/mL）		
投与量	カニクイザル		ヒト	カニクイザル		ヒト
（mg/kg）	雄	雌	$AUC_{0\text{-}28d}$（μg･day/mL）	雄	雌	
0.1 [a)]	-	-	21.3	-	-	1.26
0.5 [a)]	-	-	64.9	-	-	3.45
1 [b)]	3150 (6040)*	3560 (4450)*	-	11.6 (21.6)*	12.7 (15.9)*	-
1 [c)]	-	2650 (3310)*	-	-	9.13 (11.4)*	-
1 [d)]	-	-	102.30	-	-	5.74
2.0 [a)]	-	-	228	-	-	12.7
5 [b)]	26400	22100	-	94.3	77.1	-
25 [b)]	101000	69400 (86800)*	-	351	253 (317)*	-
25 [c)]	-	59500 (59900)*	-	-	257 (258)*	-

- ：実施せず、*：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す。

a) アトピー性皮膚炎患者　第II相試験（投与頻度：1回/4週、初回投与時の値）、b) カニクイザル26週間反復皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験（投与頻度：1回/2週、投与13回目の値）、c) カニクイザル拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（投与頻度：1回/2週、投与9回目の母動物の値）、d) アトピー性皮膚炎患者　第III相試験（投与頻度：1回/4週、初回投与時の値、1回60 mg/kg投与、ヒトの体重を60 kgとした場合）

2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧

ロット番号	表示濃度（mg/mL）	純度（%）	試験番号	試験種類
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	サル13週間経皮投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	サル26週間経皮投与毒性試験+17週間回復性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	サル拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ウサギ単回皮下刺激性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	組織交差反応性試験

2.6.7.5 急性毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 カニクイザル13週間反復皮下投与毒性試験

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：A 13-Week Intermittent Subcutaneous Dose (Once Every Two Weeks, Seven Time Total) Toxicity Study of CH5427227 in Cynomolgus Monkeys

動物種/系統：カニクイザル　投与期間：13週間　試験番号：TOX[redacted]-5016

試験開始月齢：4～7歳齢　休薬期間：なし　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-1

初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雄）、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雌）　投与方法：皮下　GLP適用：適

特記事項：2週に1回間歇投与（計7回）　溶媒/投与形態：[redacted] mmol/L Tris- hydrochloric buffer solution including [redacted] mmol/L arginine (pH[redacted])

無毒性量：全身性の無毒性量：25 mg/kg/2週

PAGE 1 OF 4 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.16		0.16		0.16		0.16	
動物数	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4
トキシコキネティクス $AUC_{0\text{-}14d}$(μg･hr/mL)								
初回投与	NC	NC	2290	2140	9410	9600	51400	45800
投与4回目	NC	NC	5170	2450 (3100) a)	20800	11200 (14300) a)	95300	80400
投与6回目	NC	NC	5510	2660 (3530) a)	25600	12200 (18000) a)	117000	100000

NC：算出できず

a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す。

2.6.7.7.1 カニクイザル13週間反復皮下投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 4 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.16		0.16		0.16		0.16	
動物数	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4
C_{max}(μg/mL)								
初回投与	BLQ	BLQ	9.06	8.67	33.9	34.4	187	179
投与4回目	BLQ	BLQ	17.5	10.3 (11.7) a)	79.4	42.4 (52.1) a)	353	321
投与6回目	BLQ	BLQ	18.9	10.9 (14.3) a)	90.0	49.5 (69.7) a)	430	400
投与3回目投与前の血中濃度(μg/mL)	BLQ	BLQ	9.75	5.63	37.0	23.7 (28.3) a)	161	160
剖検時血中濃度(μg/mL)	BLQ	BLQ	19.1	11.2 (14.8) a)	91.1	56.5 (82.8) a)	437	426
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし、BLQ：定量下限未満（0.0500 μg/mL）

a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す

2.6.7.7.1 カニクイザル13週間反復皮下投与毒性試験（続き）

PAGE 3 OF 4 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)		0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)		0.16		0.16		0.16		0.16	
動物数		M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4
心電図検査		-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
CPK (IU/L)	Day-20	172.8	281.8	184.8	378.0	206.5	215.0	777.3	401.3
	Day15	167.8	241.5	288.0	117.0	674.8	119.3	338.8	107.5*
	Day88	273.0	191.0	2145.8	147.8	118.5	148.3	68.5*	184.5
尿検査		-	-	-	-	-	-	-	-
神経行動学的機能観察		-	-	-	-	-	-	-	-
末梢血イムノフェノタイピング		-	-	-	-	-	-	-	-
血清中サイトカイン測定		-	-	-	-	-	-	-	-
ADA検査									
ADA産生		0	0	0	1	0	2	0	0
中和活性		0	0	0	1	0	1	0	0
骨髄検査		-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量		-	-	-	-	-	-	-	-
剖検		-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし、*p<0.05（Dunnett’s test）

2.6.7.7.1 カニクイザル13週間反復皮下投与毒性試験（続き）

PAGE 4 OF 4 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.16		0.16		0.16		0.16	
動物数	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4	M：4	F：4
病理組織学的検査								
投与部位皮膚								
皮下織の単核細胞浸潤								
–	3	4	4	4	3	3	1	3
±	1	0	0	0	1	1	1	0
+	0	0	0	0	0	0	2	1
2+	0	0	0	0	0	0	0	0
3+	0	0	0	0	0	0	0	0

-：特記すべき所見なし、±：軽微、+：軽度、2+：中等度、3+：重度

2.6.7.7.2 カニクイザル26週間反復皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：A 26-Week Intermittent Subcutaneous Dose (Once Every Two Weeks, 14 Times Total) Toxicity Study of CH5427227 in Mature Cynomolgus Monkeys Followed by a 17-Week Recovery Period

動物種/系統：カニクイザル
試験開始月齢：3～6歳齢
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雄）、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雌）
特記事項：2週に1回間歇投与（計14回）

投与期間：26週間
休薬期間：17週間
投与方法：皮下
溶媒/投与形態：[redacted] mmol/L Tris-HCl buffer containing [redacted] mmol/L arginine, [redacted] mmol/L [redacted] and [redacted] mg/mL [redacted] (pH [redacted])

試験番号：TOX[redacted]-0076
CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-2
GLP適用：適

無毒性量：全身性の無毒性量：25 mg/kg/2週

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.25		0.25		0.25		0.25	
動物数	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5
トキシコキネティクス $AUC_{0\text{-}14d}$(μg･hr/mL)								
初回投与	NC	NC	2640 (2710) a)	2620	14200	11300	51400	58600
投与6回目	NC	NC	2450 (4170) a)	3180 (3980) a)	26300	21100	87700	75900 (90000) a)
投与11回目	NC	NC	2880 (5300) a)	2770 (3460) a)	25900	19300	108000	78000 (97500) a)
投与13回目	NC	NC	3150 (6040) a)	3560 (4450) a)	26400	22100	101000	69400 (86800) a)

NC：算出できず
a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す。

2.6.7.7.2 カニクイザル26週間反復皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.25		0.25		0.25		0.25	
動物数	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5
C_{max}(μg/mL)								
初回投与	BLQ	BLQ	9.91 (9.64) a)	9.93	52.5	41.6	187	230
投与6回目	BLQ	BLQ	9.05 (14.9) a)	11.9 (14.9) a)	100	76.8	334	299 (341) a)
投与11回目	BLQ	BLQ	10.7 (19.2) a)	10.6 (13.3) a)	92.9	69.9	384	294 (367) a)
投与13回目	BLQ	BLQ	11.6 (21.6) a)	12.7 (15.9) a)	94.3	77.1	351	253 (317) a)
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
月経周期	-	-	-	-	-	-	-	-
精子検査	-	-	-	-	-	-	-	-
精巣サイズ測定	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし、BLQ：定量下限未満（0.0500 μg/mL）、NC：算出できず

a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す。

2.6.7.7.2 カニクイザル26週間反復皮下投与毒性試験及び17週間回復性試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/2週)	0（溶媒対照）		1		5		25	
投与液の投与容量(mL/kg/2週)	0.25		0.25		0.25		0.25	
動物数	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5	M：5	F：5
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
呼吸数計測	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧測定	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
神経行動学的機能観察	-	-	-	-	-	-	-	-
末梢血イムノフェノタイピング	-	-	-	-	-	-	-	-
血清中サイトカイン測定	-	-	-	-	-	-	-	-
T細胞依存性抗体産生	-	-	-	-	-	-	-	-
ADA検査								
ADA産生	0	0	3	1	1	1	0	1
中和活性	0	0	2	1	1	1	0	1
骨髄検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし

2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当資料なし

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：Intermittent Subcutaneous Dose (Once Every Two Weeks) Enhanced Study for Effects on Pre- and Postnatal Development of CIM331 in Cynomolgus Monkeys.

動物種：カニクイザル

投与期間：母動物　GD20～出産（1回/2週）
出生児　PND35～PND217（1回/2週）

試験番号：TOX[redacted]-0140

試験開始年齢：4～8歳

休薬期間：なし

CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.3-1

初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日

投与方法：皮下

GLP適用：適

特記事項：-

溶媒/投与形態：[redacted] mmol/L Tris-HCl buffer containing [redacted] mmol/L arginine, [redacted] mmol/L [redacted] and [redacted] mg/mL [redacted] (pH [redacted])

無毒性量：母動物の無毒性量：25 mg/kg/2週、出生児の無毒性量：25 mg/kg/2週

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/day)	0（溶媒対照）	1	25
母動物数	F：16	F：16	F：16
トキシコキネティクス			
$AUC_{0\text{-}14d}$(μg･h/mL)			
初回投与	NC	2370(2340) [a)]	56000(55800) [a)]
投与6回目	NC	3210(4020) [a)]	78300(80300) [a)]
投与9回目	NC	2650(3310) [a)]	59500(59900) [a)]
C_{max}(μg/mL)			
初回投与	BLQ	9.21(8.90) [a)]	220(219) [a)]
投与6回目	BLQ	12.5(15.6) [a)]	371(375) [a)]
投与9回目	BLQ	9.13(11.4) [a)]	257(258) [a)]
特記すべき所見			
死亡及び屠殺動物数	0	0	0
一般状態	-	-	-
体重	-	-	-

-：特記すべき所見なし、BLQ：定量下限未満（0.0500 μg/mL）、NC：算出できず、a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/day)	0（溶媒対照）	1	25
母動物数	F：16	F：16	F：16
摂餌量	-	-	-
妊娠日数	-	-	-
超音波検査	-	-	-
血液学的検査	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-
ADA検査			
ADA産生	0	4	3
中和活性	0	4	0
出生児数（投与開始時生存児数）	14（13）	12（10[b)]）	14（11）
トキシコキネティクス			
$AUC_{0\text{-}14d}$(μg・h/mL)			
投与13回目	NC	7880 (8490) [a)]	201000
C_{max}(μg/mL)			
投与13回目	BLQ	27.7 (29.8) [a)]	711
血漿中濃度			
生後7日	BLQ	6.14 (7.68) [a)]	177
特記すべき所見			
死亡及び屠殺動物数			
生後0～7日	1	2	2
生後8～30日	0	0	1
生後31日以降	0	0	0

-：特記すべき所見なし、BLQ：定量下限未満（0.0500 μg/mL）、NC：算出できず、a)：ADA産生が認められた動物のデータを除外した平均値を表す

b)：PND0及びPND2にそれぞれ1例を安楽死した

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES

投与量(mg/kg/day)	0（溶媒対照）	1	25
投与開始時生存児数	13	10	11
一般状態	-	-	-
体重	-	-	-
骨格検査	-	-	-
外表検査	-	-	-
機能検査	-	-	-
行動検査	-	-	-
血液学的検査	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-
心電図検査	-	-	-
剖検	-	-	-
器官重量測定	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-
ADA検査			
ADA産生	0	2	0
中和活性	0	2	0
T細胞依存性抗体産生	-	-	-
末梢血イムノフェノタイピング	-	-	-

-：特記すべき所見なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

2.6.7.16.1 ウサギ単回皮下刺激性

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：Local Tolerance Study of CIM331-100 by Subcutaneous Administration in Rabbits

動物種/系統：ウサギ/NZW
性別/週齢：雄/投与時12～13週齢
投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
投与期間：1回
投与方法：皮下投与
溶媒/投与形態：[redacted] mmol/L Tris-HCl buffer containing [redacted] mmol/L arginine and [redacted] mg/mL [redacted] (pH [redacted])
試験番号：TOX[redacted]-0024
CTDにおける記載箇所：4.2.3.6-1
GLP適用：適

投与量：被験物質（100 mg/mL）及び生理食塩液、各0.9 mL
特記事項：左側腹部皮下にnemolizumab溶液を、右側腹部皮下に生理食塩液をそれぞれ投与

被験物質	生理食塩液		Nemolizumab	
動物数	M：3	M：3	M：3	M：3
投与後日数	3 days	14 days	3 days	14 days
外観検査	-	-	-	-
剖検				
肉眼的観察（皮下）	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 組織交差反応性試験

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：A Tissue Cross-Reactivity Study of CH5427227 with Normal Human and Cynomolgus Monkey Tissues

動物種/系統：ヒト及びカニクイザル　　性別/週齢：不明　　試験番号：[redacted]

1組織あたりの試料数：3例　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.7.7-1

投与量：2 μg/mL及び10 μg/mL　　GLP適用：適

試験項目	評価方法	特記すべき所見
組織交差反応性試験	ヒト及びカニクイザルにおける、それぞれ35種類の正常組織の凍結切片（各3例／組織）を用いて検討した。	Nemolizumabの特異的反応性がみられたヒト組織は、上皮組織として眼（角膜重層扁平上皮）、消化管・食道（重層扁平上皮）、肺（肺細胞／細気管支）、唾液腺（導管）、皮膚（重層扁平上皮、汗腺）、胸腺（重層扁平上皮のハッサル小体）、扁桃腺（重層扁平上皮、粘膜、陰窩）、前立腺（腺上皮、前立腺部尿道の移行上皮）、尿管、膀胱（移行上皮）、子宮（子宮内膜の腺上皮、頚部の重層扁平上皮）と、非上皮組織として筋細胞（骨格筋、眼周囲）、毛嚢根鞘、肺胞マクロファージであった。このうち、眼及び子宮はヒト組織でのみ特異的反応性が認められた。その他の組織では、カニクイザル組織においても、ヒト組織と概ね同様の特異的反応性がみられた。

2.6.7.17.2 サイトカイン放出症候群の*in vitro*でのリスク予測

被験物質：Nemolizumab

報告書の題名：Whole blood cytokine assay for in vitro cytokine release from human whole blood after treatment with CH5427227

試験方法：Human Whole blood cytokine assay　　試験番号：TOX[redacted]-0135S

動物種/系統：健康成人の全血　　試料数：10　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.7.7-2

処理年月日：-　　溶媒：PBS　　GLP適用：非

処理：終濃度が0.1、1、10及び100 µg/mLとなるように被験物質を全血と混合し、インキュベートした後、上清（血清）を回収してサイトカインを測定

評価項目：IL-8、IL-6、TNF

特記事項：Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in human clinical trials with investigational medicinal products(EMEA/CHMP/SWP/294648/2007)に準拠して実施した。

			Number of donors with a positive response	
	Antibodies	Cytokine	Each cytokine	Total
High Risk Reference Article	Campath（Alemtuzumab）	TNF	9/10	10/10
		IL-6	8/10	
		IL-8	9/10	
	TGN1412a	TNF	1/10	5/10
		IL-6	3/10	
		IL-8	4/10	
Low Risk Reference Article	Vectibix（Panitumumab）	TNF	1/10	1/10
		IL-6	1/10	
		IL-8	1/10	
Test Article	CH5427227（Nemolizumab）	TNF	1/10	2/10
		IL-6	1/10	
		IL-8	0/10	