サノフィ株式会社

スチムリマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 35

目　　次

2.6.6 毒性試験の概要文 1

目　　次 2

表　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　まとめ 6

2　　単回投与毒性試験 10

3　　反復投与毒性試験 11

3.1　ヒト以外の霊長類 11

3.1.1　カニクイザルを用いたスチムリマブの 5 週間反復点滴 IV 投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 11

3.1.2　カニクイザルを用いたスチムリマブの 26 週間反復点滴 IV 投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 14

4　　遺伝毒性試験 18

5　　がん原性試験 19

6　　生殖発生毒性試験 20

6.1　カニクイザルを用いたスチムリマブの ePPND に関する毒性試験 20

7　　局所刺激性試験 25

8　　その他の毒性試験 26

8.1　スチムリマブとヒト組織パネルとの交差反応性評価 26

8.2　免疫毒性試験 26

8.2.1 反復投与毒性試験における血液学的検査及びリンパ系器官の病理組織学的検査 27
8.2.2 自己免疫の評価 28
8.2.2.1 スチムリマブ投与後の抗核抗体及び抗二本鎖 DNA 抗体の評価 28
8.2.2.2 スチムリマブ投与後の循環免疫複合体（CIC）の評価 29
8.2.3 免疫原性のリスク 30
8.2.4 薬物乱用性評価 30

9 考察及び結論 32

9.1 免疫系における所見の要約 33
9.2 総括 34

参 考 文 献 35

表　目　次

表 1 - 毒性試験プログラム 7

表 2 - サルを用いた GLP 適用反復投与試験におけるスチムリマブの曝露量 8

表 3 - カニクイザルを用いた 5 週間反復投与毒性試験： TK パラメータ 12

表 4 - 5 週間反復投与毒性試験：血清中 CP 活性 (%) 13

表 5 - カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ 15

表 6 - 26 週間反復投与毒性試験：血清中 CP 活性の平均値 (%) [a] 16

表 7 - 出生児死亡 [a] 21

表 8 - サルを用いた ePPND に関する毒性試験：母動物の TK パラメータ 21

表 9 - ePPND 試験：母動物の血清中 CP 活性 (%) 23

表 10 - スチムリマブの組織交差反応性試験：成績の要約 26

略号と用語の定義

ADA： 抗薬物抗体（Anti-drug antibody）
AUC： 濃度－時間曲線下面積（area under the concentration-time curve）
C1q： 補体第 1 成分 q サブコンポーネント（complement component 1, q subcomponent）
C1s： 補体第 1 成分 s サブコンポーネント（complement component 1, s subcomponent）
C4： 補体第 4 成分（complement component 4）
C4a： C4 の分解により生じるアナフィラトキシン（anaphylatoxin generated by the cleavage of C4）
CAD： 寒冷凝集素症（cold agglutinin disease）
CIC： 循環免疫複合体（circulating immune complexes）
CIC-C1q： 循環免疫複合体－C1q（circulating immune complex-C1q）
C_{max}： 最高血清中濃度（maximum serum concentration）
CNS： 中枢神経系（central nervous system）
CP： 古典的補体経路（classical complement pathway）
dsDNA： 二本鎖 DNA（double stranded DNA）
ECG： 心電図（electrocardiogram）
ELISA： 酵素結合免疫吸着測定法（enzyme-linked immunosorbent assay）
ENA： 可溶性核抗原（extractable nuclear antigen）
ePPND： 拡充型出生前及び出生後の発生（enhanced pre- and postnatal development）
GLP： 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practices）
IC_{50}： 50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
IC_{90}： 90%阻害濃度（concentration resulting in 90% inhibition）
ICH： 医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonisation）
IgG： 免疫グロブリン G（immunoglobulin G）
IV： 静脈内（intravenous(ly)）
NOAEL： 無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
p.c.： 交尾確認後（post coitum）
PD： 薬力学（Pharmacodynamics）
p.p.： 分娩後（postpartum）
PND： 生後の日数（postnatal day）
RBC： 赤血球（red blood cell）
TK： トキシコキネティクス（Toxicokinetics）

1　まとめ

スチムリマブ（遺伝子組換え）の毒性プログラムの概要及び実施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）適用の有無について、2.6.7 毒性試験概要表の「毒性試験一覧表」に示す。本項では、スチムリマブの別名として BIVV009 及び TNT009 も用いる。スチムリマブは、古典的補体経路（CP）特異的セリンプロテアーゼである補体第 1 成分 s サブコンポーネント（C1s；EC 3.4.21.42）を標的とする、ファースト・イン・クラスのヒト化免疫グロブリン G サブクラス 4（IgG4）モノクローナル抗体である。予定されているスチムリマブ製剤は 50 mg/mL 静注用無菌溶液である。本剤は、患者の病原性自己抗体により誘導される CP 活性化の選択的阻害により、希少疾患である寒冷凝集素症（CAD）による溶血及び CP を介するその他の疾患の治療薬として開発されている。予定投与用法及び用量として、体重 39 kg 以上 75 kg 未満の患者に対して 6.5 g、75 kg 以上の患者に対して 7.5 g を、最初の 2 回の投与は週 1 回（0 日目及び 7 日目）、その後の投与は隔週で静脈内（IV）投与する。

スチムリマブの安全性を裏付けるために実施した、一般毒性試験及び発生毒性試験を含む非臨床安全性プログラムを表 1 に示す。これらの試験はすべて、GLP 及び医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン、特に ICH M3 (R2) 及び ICH S6 (R1) に従って実施した。本項では毒性開発プログラムについてまとめる。

主な毒性試験におけるスチムリマブの投与経路は臨床で予定されている IV 投与とした。スチムリマブは、50 mg/mL のスチムリマブの他、10 mmol/L のリン酸ナトリウム緩衝液、140 mmol/L の塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート 80（Tween-80）及び注射用水を含有する pH 6.1 の無菌かつ非発熱性の等張水溶液として調製した。最高濃度は 18 mg/mL、ヒト以外の霊長類での投与液量は 10 mL/kg であることから、スチムリマブの最高投与量は 180 mg/kg/週であった。

ヒト以外の霊長類は、C1s への結合親和性及び抗体感作赤血球（RBC）における CP 介在性溶血の抑制に関する機能的交差反応性を示すことから、評価に適した唯一の動物種として選択された（Module 2.6.2 [3.1.1.2 項]参照）。スチムリマブあるいは TNT003（スチムリマブのマウス前駆抗体、すなわちマウス IgG2a 抗ヒト C1s モノクローナル抗体）はマウス、ウサギ、ミニブタ及びイヌの血清において C1s に結合せず CP 介在性溶血を抑制しなかった。ラットではスチムリマブは標的に結合するが機能活性がなかった。一方、カニクイザル（*Macaca fascicularis*）でスチムリマブはヒトと同程度の C1s 結合能を示し（いずれも 10^{-10} mol/L レベル）、血清中 CP 介在性溶血の 50%阻害濃度（IC_{50}）も同程度であった（IC_{50} はヒト、サルとも 0.21 µg/mL）（Module 2.6.2 [3.1.1.2 項]参照）。ヒト及びサルの血清を用いた TNT003 の溶血アッセイにおいて、*in vitro* での C1s 阻害及び CP 活性阻害による作用を更に検討した。実際、薬理作用による溶血抑制は同程度であり、ヒト及びサルの 80%血清における IC_{50} はそれぞれ 14.7 及び 15.6 µg/mL であった。これらの成績から、補体タンパク質及び補体経路はヒトとカニクイザルとの間で保存されていること、スチムリマブの薬理活性はこれらの種

で同程度であることが分かった。サルにおけるスチムリマブの薬理活性は本質的にヒトと同じである。毒性試験では、スチムリマブを週 1 回点滴 IV 投与した。毒性試験と同時に実施したトキシコキネティクス（TK）評価から、この投与レジメンにより、30 mg/kg/週以上の用量で、投与から次の投与までの間、全身曝露量が維持されることが確認された。サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験で 180 mg/kg/週までの用量を週 1 回投与したときの定常状態における濃度は、臨床で段階的に（75 kg 未満の患者に 6.5 g 又は 75 kg 以上の患者に 7.5 g）隔週投与したときの AUC（濃度－時間曲線下面積）のシミュレーション値に比べ最大 3.88 倍高かった。

表 1 - 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路／投与量 [a] (mg/kg/回)	動物種	GLP (適用/非適用)	試験番号
反復投与毒性試験				
5 週間	IV；30、60、**100**	サル	適用	4.2.3.2-1: [TN-[redacted]05]
26 週間	IV；60、**180**	サル	適用	4.2.3.2-2: [TN-[redacted]16]
生殖毒性試験				
拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）	IV；60、**180**	サル	適用	4.2.3.5.3-1: [T-BV009-01]
その他の試験				
組織交差反応性	*Ex vivo*	ヒト	適用	4.2.3.7.7-1: [TN-[redacted]06]
自己免疫評価 [b]	*Ex vivo*	サル	非適用	4.2.3.7.2-1: [TN-[redacted]01]
免疫原性	*In vitro*	ヒト	非適用	4.2.3.7.1-1: [TN-[redacted]02]

略号：抗 ENA=可溶性核抗原に対する抗体、抗 dsDNA=抗二本鎖 DNA、CIC=循環免疫複合体、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IV=静脈内

a 無毒性量を下線で表示する。

b 抗 ENA 抗体及び抗 dsDNA 抗体並びに CIC の評価。TN-[redacted]05 試験の検体。

スチムリマブをカニクイザルに週 1 回 26 週間投与したところ、検討した最高 180 mg/kg までの用量で忍容性は良好であった。生存時パラメータ、心電図（ECG）検査、血液生化学的検査、器官重量及び病理組織学的検査において、スチムリマブに関連する毒性作用はみられなかった。生存時の検査及び解剖学的検査において、抗スチムリマブ抗体に関連する毒性作用は発現せず、スチムリマブの持続的な全身曝露も妨げられなかった。

すべての *in vivo* 毒性試験で TK を評価した。サルを用いた GLP 適用反復投与試験の無毒性量（NOAEL）におけるスチムリマブの曝露量を表 2 に要約する。

表 2 - サルを用いた GLP 適用反復投与試験におけるスチムリマブの曝露量

	5 週間サル (TN-[redacted]05)[a]		26 週間サル (TN-[redacted]16)[b]		ePPND (T-BVT009-01)[c]
	M	F	M	F	F
NOAEL (mg/kg/週)	100		180		180
C_{max} (µg/mL)	2930	3050	14900	7800	8110
AUC (µg·h/mL)	246 000	217 000	575 000	281 000	835 000

略号：AUC=濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、F=雌、M=雄、NOAEL=無毒性量

a 29 日目；$AUC_{0\text{-}145h}$

b 176 日目；$AUC_{0\text{-}48.5h}$

c 母動物、交尾確認後 146 日の $AUC_{0\text{-}168h}$

TK 解析から、試験期間中にわたり、曝露量には用量依存性があり（最高血清中濃度［C_{max}］及び AUC）、性差はなく、曝露量が増加（蓄積）することが確認された。スチムリマブの免疫原性は軽微であり、被験物質の血清中濃度及びスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は無視できる程度であった。スチムリマブの TK プロファイルに関する詳細な考察は薬物動態試験の概要文に記載する（Module[2.6.4]参照）。

GLP 適用 5 週間及び 26 週間 IV 投与毒性試験でそれぞれ 100 及び 180 mg/kg までの用量を週 1 回投与したところ、スチムリマブに関連する毒性徴候は認められなかった。いずれの試験でも 8 週間の回復期間を設け、遅発性の影響を評価した。両毒性試験で局所刺激性を評価したが、投与部位においてスチムリマブに関連する所見は認められなかった。薬力学（PD） 解析によると、血清中 CP 活性の 90%阻害濃度 （IC_{90}）は 22.3 µg/mL であったが、毒性試験で評価した用量はこれをはるかに上回った（26 週間試験の NOAEL における C_{max} は雄で 14900 µg/mL、雌で 7800 µg/mL）。主要な試験である GLP 適用 26 週間 IV 投与毒性試験の NOAEL は、評価した最高用量である 180 mg/kg/週であった。

ICH S6 (R1) によると、バイオテクノロジー応用医薬品の遺伝毒性試験は適切なものでなく必要とされないため、スチムリマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。スチムリマブは分子量が大きい（約 145 kDa）ことから、そのままの分子として細胞膜や核膜を通過し、DNA と直接相互作用することはないと考えられる。

スチムリマブのがん原性試験は実施しなかった。ICH S6 ガイドライン及び補遺 ICH S6 (R1) に従い、科学的な重要度に基づく（weight-of-evidence）アプローチをスチムリマブの発がんリスク評価に利用した。このアプローチの一環として、スチムリマブが DNA と相互作用する可能性を評価し、薬理学的活性のある動物種に長期投与後の病理組織学的評価を精査した。その結果、スチムリマブの発がんリスクは低いと考えられた。

スチムリマブの生殖発生毒性のリスクについて、反復投与毒性試験の一部及び拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）に関する試験で評価した。ヒト以外の霊長類を用いた最長 26 週間の反復投与

毒性試験では、病理組織学的検査でスチムリマブに関連する雌雄生殖組織への影響は認められなかった。カニクイザルを用いた ePPND 試験では、妊娠期間、流産、死産、死亡、母動物及び出生児の一般状態観察、体重、体重変化、出生児の握力並びに出生児の外表検査、形態学的検査及び神経行動学的評価において、被験物質による影響はみられなかった。約 3 か月にわたり出生児の臨床病理学的パラメータ測定を実施し、器官重量及び肉眼観察を行ったが、被験物質に関連する明らかな影響は認められなかった。以上のように、妊娠雌サルにスチムリマブを評価した最高用量である 180 mg/kg/週の用量で交尾確認後（p.c.）20 日から分娩まで（約 21 回）投与しても、スチムリマブに関連する毒性所見は認められなかった。

3 名のヒトドナーから得た標準的な組織パネル（40 組織）を用いて組織交差反応性試験を実施し、スチムリマブの組織結合性を評価した。スチムリマブ は活性化 C1s と不活性化 C1s の両方を認識するため、評価組織の大部分で C1s の特異的免疫染色が認められた 。この染色パターンは、あらゆる組織で高濃度に存在する正常かつ一般的な血漿タンパク質である C1s で予想されるパターンである。組織中で免疫染色された部位は、組織や細胞の表面ではなく主に血管系（血漿）及び細胞外間隙（マトリクス）の内部である。このパターンは交差反応性（C1s 以外のタンパク質を認識）を示すものではなく、毒性学的な懸念及び安全性上の懸念は認められない。

ヒトにおける遺伝性補体欠損症と自己免疫疾患の早期発症との関連に関する報告がある(1)ため、スチムリマブの毒性試験で自己免疫のリスクに関するマーカー（抗 dsDNA IgG 及び可溶性核抗原［ENA］に対する IgG）を評価した。また、循環免疫複合体（CIC）-補体第 1 成分 q サブコンポーネント（C1q）濃度も測定し、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路の保持について評価した。反復投与毒性試験及び ePPND 試験で最長 26 週間投与しても、スチムリマブに関連する抗 dsDNA IgG、抗 ENA IgG 及び CIC-C1q の変化は認められなかった。

スチムリマブ（ヒト IgG4 アイソタイプ）の免疫原性について、*ex vivo* T 細胞増殖アッセイ（EpiScreen™）で評価した。このアッセイは、タンパク質製剤に対する T 細胞の反応を定量することにより免疫原性を予測するものである。健康ヒトドナー20 名から得た末梢血単核細胞を用いて評価したところ、スチムリマブの免疫原性は低かった。T 細胞増殖アッセイ、自己免疫のバイオマーカー及び C1C-C1q 濃度への影響に関する評価に基づくと、スチムリマブに関連した免疫機能の毒性変化はいずれの試験でも認められなかった。

以上、スチムリマブの非臨床毒性試験プログラムでは、ヒトに予定臨床用量を投与した時の曝露量を超える曝露量において、スチムリマブに関連する CP 活性阻害が長期にわたり最大限認められたものの、毒性は認められなかった。ヒト以外の霊長類では、投与可能な最大用量である 180 mg/kg/週までの用量でスチムリマブに関連する毒性作用は認められなかった。本概要文に示す毒性試験結果は、スチムリマブを臨床で予定されている適応症で申請することを裏付けるものと考えられる。

2　単回投与毒性試験

スチムリマブの単回投与毒性試験は実施しなかった。

3　反復投与毒性試験

カニクイザルを用いた最長 26 週間の反復投与毒性試験でスチムリマブの毒性プロファイルを評価した（表 1）。ヒト以外の霊長類は、C1s への結合親和性及び抗体感作 RBC における CP 介在性溶血の抑制に関する機能的交差反応性を示すことから、毒性評価に適切な唯一の動物種として選択した（Module 2.6.2 [3.1.1.2 項]参照）。一部の試験で TK プロファイル、抗スチムリマブ抗体応答及び自己免疫パラメータの評価を実施した。安全性薬理評価に特化した試験は実施しなかったが、反復投与毒性試験に中枢神経系（CNS）、心血管系及び呼吸系の評価項目を含めた（Module 2.6.2 [5 項]参照）。

3.1　ヒト以外の霊長類

3.1.1　カニクイザルを用いたスチムリマブの 5 週間反復点滴 IV 投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

カニクイザル（5 匹／性／群）にスチムリマブを 0、30、60 又は 100 mg/kg/週の用量で週 1 回 5 週間（5 回）1 時間点滴 IV 投与した（[TN-[redacted]05]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.7A]）。最終投与 1 週間後に 3 匹／性／群を剖検した。2 匹／性／群は最終投与後 8 週間飼育し、被験物質に関連する影響の回復性を評価した。スチムリマブは 10 mmol/L リン酸ナトリウム、140 mmol/L 塩化ナトリウム、0.02%ポリソルベート 80（pH 6.1）で調製した。媒体対照としてスチムリマブを含まない調製液を投与した。

評価パラメータは生死、一般状態観察、体重、体重変化、摂餌量、パルスオキシメトリー（血中酸素飽和度）、体温、呼吸数、心拍数、眼科学的検査、神経学的評価、ECG 評価、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査）とした。TK、補体 CP 活性及び第 2 経路活性及び抗薬物抗体（ADA）評価用の血液検体を投与期間及び回復期間に採取した。PD 解析のため、補体第 4 成分（C4）の分解により生じるアナフィラトキシン（C4a）濃度測定用の血漿検体を連続的に採取した。器官重量並びに剖検及び病理組織学的検査の所見を記録した。

全例が計画剖検時まで生存した。スチムリマブに関連する一般状態所見はなく、体重、摂餌量、パルスオキシメトリー、体温、呼吸数、心拍数、眼科学的検査、神経学的評価、ECG 評価、臨床病理学的検査（血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）において変化はなかった。

投与期間の 1 日目及び 29 日目に平均好酸球数がベースライン値に比べ一時的に増加した（1.2～3.8 倍、軽微～軽度と判断）。この変化は 30 mg/kg/週以上の群の雄（1.2～2.8 倍）及び 100 mg/kg/週以上の群の雌（2.4～3.8 倍）で発現したが、関連する病理組織学的変化はみられなかった。これらの変化は投与期間の 36 日目及び回復期間の 57 日目には認められなかった。好酸球数の増加とスチムリマブ投与との関連性は不明であり、毒性ではないと考えられた。

器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、被験物質に関連する変化及び影響はなかった。

30～100 mg/kg/週の用量において、スチムリマブへの曝露量は用量依存的に増加した。平均 C_{max} の増加は用量に比例していたのに対し、$AUC_{0\text{-}145h}$ は用量比を上回って増加した。曝露量の性差は 2 倍未

満であった。60 mg/kg/週以下の用量では蓄積は認められなかったが、100 mg/kg/週では認められた。TK パラメータを表 3 に要約する。

表 3 - カニクイザルを用いた 5 週間反復投与毒性試験： TK パラメータ

投与量 (mg/kg/週)	性別	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}145h}$ (µg•hr/mL)	
		1 日目	29 日目	1 日目	29 日目
30	M	602	674 / 743[a]	23 500	20 200 / 29 800[a]
	F	708	666 / 678[a]	27 700	24 700 / 28 700[a]
60	M	1320	1710 / 1750[a]	74 600	83 100 / 99 000[a]
	F	1540	1760	72 400	96 300
100	M	2300	2930	132 000	246 000
	F	2940	3050	134 000	217 000

略号：ADA=抗薬物抗体、$AUC_{0\text{-}145h}$=145 時間の投与間隔にわたる濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、F=雌、M=雄

a ADA 陽性の個体を除外した値。

スチムリマブの免疫原性は軽微であり、ADA が検出された個体は 30 mg/kg/週群の 3 匹（雄 2 匹、雌 1 匹）及び 60 mg/kg/週群の雄 1 匹であった。ADA 存在下での血清中スチムリマブ濃度は、ADA が存在しない個体に比べ速やかに減少した。上述の個体で TK プロファイルに変化がみられたものの、これらの個体を除外しても TK に関する全体的な結論は変わらなかった。血清中 ADA が血清中スチムリマブ濃度あるいはスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は軽微であった。

血清中 CP 活性阻害は 30 mg/kg/週以上の群で最大となったが、阻害発現期間は用量依存的であった（表 4）。スチムリマブにより血漿中 C4a 濃度が減少した（C1s の阻害に一致）。CP 活性阻害は最長 5 週間（29 日目まで）持続したが、スチムリマブに関連して、免疫機能並びに CIC-C1q 濃度、抗 ENA IgG 抗体濃度及び抗 dsDNA IgG 抗体濃度のような自己免疫パラメータが予期しない変化をきたす徴候はなかった（[TN-[redacted]01]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.17A]）。スチムリマブに関連する第 2 経路活性の阻害は、いずれの用量でも認められなかった。

表 4 - 5 週間反復投与毒性試験：血清中 CP 活性 (%)

測定時点	投与量（mg/kg/週）							
	0（媒体）		30		60		100	
	M	F	M	F	M	F	M	F
投与前	120.6	122.9	112.2	116.6	127.0	116.8	125.2	113.1
1 日目（第 1 回投与）、5 分	118.3	112.9	15.0	14.1	7.0	11.0	5.0	16.5
1 日目、6 時間	120.3	123.2	14.8	14.2	10.6	11.5	14.2	14.3
1 日目、24 時間	122.0	130.1	12.5	13.3	9.3	7.8	17.2	12.0
1 日目、48 時間	121.9	126.9	12.0	11.4	7.5	7.1	11.5	14.5
1 日目、96 時間	121.2	121.3	73.3	55.4	5.8	5.4	5.5	12.9
1 日目、144 時間	120.4	123.2	112.6	113.2	14.7	16.6	5.3	7.6
8 日目、投与前	120.3	127.4	114.9	116.2	53.0	52.7	6.4	5.4
8 日目（第 2 回投与）、6 時間	121.0	126.2	12.5	11.6	8.1	8.3	12.9	15.1
15 日目、投与前	118.5	118.5	112.0	114.5	8.2	9.0	5.9	9.5
15 日目（第 3 回投与）、6 時間	119.2	121.7	12.3	10.2	8.8	11.5	13.7	12.1
22 日目、投与前	119.5	127.2	114.6	114.6	30.1	10.7	10.7	5.6
22 日目（第 4 回投与）、6 時間	123.6	129.1	10.1	11.2	10.2	10.3	17.6	19.3
29 日目、投与前	123.3	124.2	114.2	115.8	33.9	7.8	11.7	12.1
29 日目（第 5 回投与）、5 分	122.7	123.7	9.7	11.1	12.0	8.1	16.6	10.4
回復期間 8 日目	154.5	122.8	154.8	116.1	152.2	107.3	20.0	60.8
回復期間 15 日目	155.7	120.6	154.9	116.8	155.0	111.2	84.3	108.6
回復期間 22 日目	155.6	118.5	159.5	113.1	162.0	110.4	151.2	110.6
回復期間 29 日目	125.1	125.2	113.2	118.7	112.6	113.9	108.4	113.5
回復期間 36 日目	125.0	125.6	122.4	126.1	123.3	114.7	117.6	111.3
回復期間 43 日目	127.8	131.8	126.2	133.6	124.3	125.1	122.5	126.2
回復期間 50 日目	153.9	155.8	153.7	143.1	151.8	128.6	133.5	131.6
回復期間 57 日目	146.8	142.7	139.8	147.6	143.5	130.8	131.2	139.8

略号：F=雌、M=雄

スチムリマブに関連する毒性作用がなかったことから、本試験の NOAEL は、評価した最高用量である 100 mg/kg/週と考えられた。NOAEL における 29 日目の $AUC_{0\text{-}145h}$ は、雄で 246000 µg•hr/mL、雌で 217000 µg•hr/mL であった。

3.1.2 カニクイザルを用いたスチムリマブの 26 週間反復点滴 IV 投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

[TN-[redacted]16]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.7B]

カニクイザル（5 匹／性／群）にスチムリマブを 0、60 又は 180 mg/kg/週の用量で週 1 回 26 週間（26 回）30 分間点滴 IV 投与した。最終投与 2 日後に 3 匹／性／群を剖検した。2 匹／性／群は最終投与後 8 週間飼育し、被験物質に関連する影響の回復性を評価した。スチムリマブは 10 mmol/L リン酸ナトリウム、140 mmol/L 塩化ナトリウム、0.02%ポリソルベート 80（pH 6.1）で調製した。媒体対照としてスチムリマブを含まない調製液を投与した。

評価パラメータは生死、一般状態観察、体重、体重変化、摂餌量、パルスオキシメトリー（血中酸素飽和度 ）、体温、呼吸数、心拍数、眼科学的検査、神経学的評価、ECG 評価、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査）とした。TK、補体 CP 活性、ADA 及び自己免疫能（CIC-C1q、抗 ENA IgG、抗 dsDNA IgG）評価用の血液（血清）検体を投与期間及び回復期間に採取した。器官重量並びに剖検及び病理組織学的検査の所見を記録した。

全例が計画剖検時まで生存した。スチムリマブに関連する一般状態所見はなく、体重、摂餌量、パルスオキシメトリー、体温、呼吸数、心拍数、眼科学的検査、神経学的評価、ECG 評価、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）において変化はなかった。

器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、被験物質に関連する変化及び影響はなかった。

スチムリマブへの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48.5h}$）は用量依存的に増加した。曝露量に性差はみられなかった。反復投与後に蓄積がみられた。TK パラメータを表 5 に要約した。

スチムリマブの免疫原性は軽微であり、ADA 抗体価が複数回にわたり 50 を超えたのは 60 mg/kg/週群の 2 匹（雌雄各 1 匹）及び 180 mg/kg/週群の雌 1 匹であった。これら 3 匹では、ADA 抗体価は毎週の投与前に上昇し、投与 5 分後に低下した。これは、血清中の ADA が IV 投与されたスチムリマブに結合したことに一致していた。血清中 ADA が血清中スチムリマブ濃度あるいはスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は軽微であった。回復期間にはすべての個体で ADA 抗体価はベースラインレベル（10 以下）であった。ADA に関連する毒性所見はみられなかった。

60 又は 180 mg/kg の用量を毎週投与したところ、血清中 CP 活性は両用量ともに最大限阻害され、阻害期間は用量依存的であった（表 6）。血清中 CP 活性は、60 又は 180 mg/kg/週群の回復用動物で、それぞれ 197 日目又は 232 日目までにベースライン値に回復した。180 mg/kg/週群では CP 活性阻害が 31 週間後（211 日目）まで持続した。薬力学解析によると、血清中 CP 活性の 90%阻害濃度（IC_{90}）は 22.3 µg/mL であった。

表 5 - カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ

試験日	投与量 (mg/kg/週)	性別	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg•hr/mL)
1	60	M	2130	58 000
		F	1980	33 500
		MF	2050	45 800
	180	M	7220	183 000
		F	5310	133 000
		MF	6260	158 000
29	60	M	2380	54 200
		F	1530	38 600
		MF	1960	46 400
	180	M	11 600	391 000
		F	8100	266 000
		MF	9870	329 000
85	60	M	3660	130 000
		F	1550	49 700
		MF	2600	89 900
	180	M	10 800	458 000
		F	10 900	380 000
		MF	10 800	423 000
176	60	M	2320	78 400
		F	2660	67 700
		MF	2490	73 000
	180	M	14 900	575 000
		F	7800	281 000
		MF	11 700	444 000

略号：ADA=抗薬物抗体、$AUC_{0\text{-}48.5h}$=48.5 時間の投与間隔にわたる濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、F=雌、M=雄、MF=雌雄併合

注：現実的な薬物曝露量を示すため、ADA 陽性個体のデータを解析から除外した。各群・各時点で 4 匹以上の動物が確保できたため、TK の成績及び解釈への影響はなかった。

表 6 - 26 週間反復投与毒性試験：血清中 CP 活性の平均値 (%) [a]

測定時点	投与量（mg/kg/週）		
	0（媒体）	**60**	**180**
投与前	104.8	118.6	117.6
1 日目（第 1 回投与）、5 分	105.1	2.2	2.8
1 日目、4 時間	101.3	2.2	2.6
1 日目、12 時間	100.3	2.0	3.0
29 日目、投与前	100.4	36.6	2.8
29 日目（第 5 回投与）、5 分	96.2	1.4	2.9
29 日目、4 時間	106.5	1.6	2.7
29 日目、12 時間	106.5	1.8	2.8
57 日目、投与前	100.8	32.0	14.9
57 日目（第 9 回投与）、5 分	98.7	1.3	2.0
85 日目、投与前	99.7	31.8	16.1
85 日目（第 13 回投与）、5 分	102.1	1.7	2.6
85 日目、4 時間	106.6	1.9	2.7
85 日目、12 時間	107.1	2.1	2.8
113 日目、投与前	106.9	38.0	14.2
113 日目（第 17 回投与）、5 分	99.0	1.7	1.7
141 日目、投与前	95.8	30.4	13.4
141 日目（第 21 回投与）、5 分	93.8	1.9	1.8
176 日目、投与前	100.9	35.4	15.1
176 日目（第 26 回投与）、5 分	98.7	2.5	2.5
176 日目、4 時間	104.7	2.2	2.3
176 日目、12 時間	108.3	3.6	2.8
177 日目（回復期間）	111.8	5.8	3.2
178 日目（回復期間）	116.0	13.7	3.2
183 日目（回復期間）	122.1	27.4	2.8
197 日目（回復期間）	116.4	108.4	1.6
211 日目（回復期間）	117.6	106.9	27.9
232 日目（回復期間終了日）	125.5	112.0	102.1

a 雌雄の値を併合。

CIC-C1q 濃度、血清中抗 ENA IgG 抗体濃度及び血清中抗 dsDNA IgG 抗体濃度のような自己免疫パラメータにおいて、スチムリマブに関連する変化は認められなかった。

スチムリマブに関連する毒性作用がなかったことから、本試験の NOAEL は、評価した最高用量である 180 mg/kg/週と考えられた。NOAEL における 176 日目の $AUC_{0\text{-}48.5h}$ は、雄で 575000 µg•hr/mL、雌で 281000 µg•hr/mL であった。

4　遺伝毒性試験

バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価に関する ICH ガイダンス（S6(R1)）に従うと、低分子医薬品について通常実施される標準的な遺伝毒性試験は、バイオテクノロジー応用医薬品には適切なものでなく必要とされない。スチムリマブのような高分子（約 145 kDa）のモノクローナル抗体は、そのままの分子として細胞膜や核膜を通過し、DNA や他の染色体成分に直接相互作用しないと考えられる。したがって、このようなクラス／大きさ、作用機序を有する分子の遺伝毒性試験は適切でないと考えられた。

5　がん原性試験

スチムリマブのような高分子量モノクローナル抗体を患者に投与した後に遺伝子傷害が生じる可能性は極めて低い(2)。ICH S6 (R1) ガイダンスに従い、スチムリマブのがん原性について科学的な重要度に基づく（weight-of-evidence）評価を実施した（Module [4.2.3.7.7 Carcinogenicity Assessment]参照）。この評価の一環として、CP の C1s 阻害、及びこの阻害と腫瘍増殖との関連性について文献精査を行い、またスチムリマブの非臨床試験から得られた関連データの分析を実施し、次のように結論した。

- CP の阻害が及ぼす生物学的影響に関する公表文献について科学的な重要度に基づく（weight-of-evidence）評価を実施したところ、Cls 阻害とがんのリスク増加との間に、機序／標的に関連する因果関係は認められなかった。
- サルを用いた最長 26 週間の一般毒性試験において、腫瘍性病変及びスチムリマブに関連する非腫瘍性の増殖病変は認められなかった。
- サルを用いた最長 26 週間の反復投与毒性試験において、がん原性リスクを示す所見（器官重量、血液生化学的検査 、血液学的検査、病理組織学的検査の所見）は発現しなかった。これらの試験期間中における血清中スチムリマブ濃度は、CP を最大限阻害できる濃度であると予測された。
- サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験で、免疫監視の障害及び免疫抑制の徴候は認められなかった。すなわち、スチムリマブに関連する臨床感染率の増加、血液学的検査の毒性変化、リンパ系組織の変化はなかった。

以上、スチムリマブの非臨床毒性試験及び文献精査から科学的な重要度に基づく（weight-of-evidence）評価を実施したところ、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないと考えられた。

6　生殖発生毒性試験

CP の C1s 阻害に続発する生殖器系への影響を調べるため、カニクイザルの胚・胎児及び出生前／出生後の発生を評価した。

6.1　カニクイザルを用いたスチムリマブの ePPND に関する毒性試験

[T-BV009-01]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.14A]

妊娠カニクイザル（16 匹／群）にスチムリマブを週 1 回（約 21 回）30 分間点滴 IV 投与して、妊娠及び分娩、胚・胎児発生並びに出生児の生存、成長及び発達に及ぼす影響を評価した。妊娠雌（薬物未投与）カニクイザルに対し、p.c. 20 日から分娩まで 60 及び 180 mg/kg/週の用量を投与した。対照動物には媒体を点滴 IV 投与した。母動物及び出生児のモニタリングを、分娩後約 3 か月間継続した。

妊娠期間中、母動物の生死、一般状態、体重、体重変化、分娩並びに胚・胎児の発生状態（超音波検査にて）を含む妊娠状態をモニタリングした。試験期間中の様々な時点で、臨床病理学的検査、補体、サル絨毛性ゴナドトロピン、自己免疫能、TK 及び ADA 解析用の血液検体を母動物から採取した。TK 解析用の乳汁も採取した。妊娠雌を自然分娩で出産させた。母動物の評価は分娩 3 か月後まで継続した。

出生児の生死、一般状態、体重、形態、握力、神経行動学的検査及び骨格の発達を評価した。様々な時点で、臨床病理学的検査、補体、自己免疫能、TK 及び ADA 解析用の血液検体を出生児から採取した。

生後（PND）約 92 日（±1 日）に出生児を安楽殺した。外表及び内臓を検査し、詳細な剖検を実施した。一部の組織を採取し、重量を測定して保存し、所定の組織について病理組織学的検査を実施した。

スチムリマブの忍容性は良好であった。母動物の死亡はみられなかった。母動物への被験物質曝露に起因しない出生児の死亡が全群で認められた。流産、死産及び計画外死亡の発現率において、被験物質の影響はみられなかった（表 7）。背景データに基づくと、スチムリマブ投与群における流産及び死産の発現率は正常範囲内にあり、被験物質に起因しなかった。

表 7 - 出生児死亡 [a]

投与量 (mg/kg/週)	性別 (動物番号)	死亡日	死因 [b]
0	F (P0007-1)	PND 70	外傷
60	M (P0109-1)	PND 1	育児放棄
60	M (P0115-1)	GD 168	超音波検査で心音確認できず、帝王切開にて出産
60	F (P0104-1)	GD 176	死産
60	F (P0110-1)	PND 58	外傷
180	M (P0207-1)	GD 139	死産

略号：F=雌、M=雄、PND=生後の日数、GD=妊娠日数

a 群ごとの合計出生児数：0 mg/kg/週群=15、60 mg/kg/週群=13、180 mg/kg/週群=15。

b 背景データに基づくと、スチムリマブ投与群における流産及び死産の発現率は正常範囲内にあり、被験物質に起因しなかった。

スチムリマブへの曝露量は妊娠期間を通じて維持され、p.c. 20、48 及び 146 日に血清中濃度が測定可能であった（表 8）。C_{max} の増加は、p.c. 20 日には用量に比例しており、p.c. 48 及び 146 日には用量比を上回った。$AUC_{0\text{-}168h}$ の増加は、p.c. 48 及び 146 日に用量比を上回った。母動物の乳汁中及び出生児の血清中のスチムリマブ濃度は、それぞれ分娩後（p.p.）28 日（母動物）及び PND 28 日（出生児）においてすべての群で定量下限を下回った。TK の成績を表 8 に要約する。

表 8 - サルを用いた ePPND に関する毒性試験：母動物の TK パラメータ

パラメータ (単位)	交尾確認後の日数	スチムリマブの投与量 (mg/kg/週)	
		60	180
C_{max} (µg/mL)	20	1540	4100
	48	1480	7440
	146	2020	8110
$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg•h/mL)	20	40 000	118 000
	48	47 300	239 000
	146	61 500	313 000
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)	20	NA	NA
	48	96 300	620 000
	146	154 000	835 000

略号：$AUC_{0\text{-}48.5h}$=48.5 時間の投与間隔にわたる濃度－時間曲線下面積、$AUC_{0\text{-}168h}$=168 時間の投与間隔にわたる濃度－時間曲線下面積、C_{max}=最高血清中濃度、NA=該当せず

媒体対照群及びスチムリマブ投与群の母動物及び出生児では、試験期間を通じて顕著な ADA 応答は概してみられず、抗体価はおおむね 50 未満であった。母動物では、60 mg/kg/週群の 3 匹及び 180 mg/kg/週群の 1 匹で抗体価が高かった（p.c. 146 日に 250～31300）。出生児では、60 mg/kg/週群の 3 匹で抗体価が高かった（10～6250）。60 mg/kg/週群の 1 匹で曝露量が減少し、p.c. 146 日の $AUC_{0\text{-}48.5h}$ が p.c. 20 日の約 1/20 であった。

母動物では、一般状態観察、体重、体重変化、血液学的検査及び血液凝固系検査への影響はみられなかった。血液生化学的検査でみられた被験物質に関連する変化は、180 mg/kg/週群で p.c. 146 日に発現した、可逆的で毒性でない平均グロブリン濃度の増加（軽微、対照群に比べ+17%）及びこれに関連するアルブミン：グロブリン比の平均値の減少（軽微、対照群に比べ-22%）のみであった。この所見は、重症度が軽微で動物の健康状態への影響がなかったことから、毒性ではないと判断した。

妊娠期間中に超音波で 胎児を測定したところ、スチムリマブに関連する影響はみられなかった。平均妊娠期間は、対照群、60 及び 180 mg/kg/週群でそれぞれ 165 日、162 日及び 162 日であった。

出生児の一般状態観察、体重、体重変化、身体検査、握力、出生児のサイズ、神経行動学的評価、血液学的検査及び骨格評価において、スチムリマブに関連する変化はみられなかった。剖検、器官重量、器官重量比、外表検査、内臓検査及び病理組織学的検査において、被験物質に関連する所見はなかった。

スチムリマブ投与前の血清中 CP 活性は 77.5%～140.4%であった。スチムリマブを 60 mg/kg/週以上の用量で毎週 IV 投与したところ、血清中 CP 活性が阻害された（表 9）。投与期間を通じて阻害は持続し、p.p. 28 日までにベースライン値に回復した。出生児では血清中 CP 活性阻害は認められなかった。60 又は 180 mg/kg/週群の母動物からの出生児における CP 活性は、媒体対照群からの出生児と同程度であった。

表 9 - ePPND 試験：母動物の血清中 CP 活性 (%)

測定時点	投与量 (mg/kg/週)		
	0（媒体）	60	180
投与前	126.3	126.9	128.6
p.c.20 日（第 1 回投与）、5 分	124.3	10.3	8.3
p.c.20 日、4 時間	133.4	10.7	10.0
p.c.20 日、8 時間	136.8	11.2	14.1
p.c.20 日、24 時間	139.6	11.6	12.9
p.c.20 日、48 時間	144.9	11.2	17.0
p.c.48 日、投与前	126.8	53.1	14.3
p.c.48 日（第 5 回投与）、5 分	113.3	7.2	13.5
p.c.48 日、4 時間	132.3	8.0	16.1
p.c.48 日、8 時間	138.0	8.2	16.1
p.c.48 日、24 時間	130.0	9.0	18.0
p.c.48 日、48 時間	129.9	7.7	15.5
p.c.146 日、投与前	114.0	23.9	16.5
p.c. 146 日（第 19 回投与）、5 分	116.1	4.5	9.8
p.c.146 日、4 時間	126.5	6.5	11.3
p.c.146 日、8 時間	131.3	5.7	11.3
p.c.146 日、24 時間	127.0	11.8	9.3
p.c.146 日、48 時間	128.2	14.9	8.8
p.p.28 日	134.1	131.5	121.0
p.p.42 日	128.9	133.6	144.6
p.p.56 日	128.6	119.9	124.8
p.p.70 日	118.8	123.0	137.7
p.p.91 日	111.3	100.3	117.5

略号：ePPND=拡充型出生前／出生後の発生、p.c.=交配確認後、p.p.=分娩後

母動物にスチムリマブを 180 mg/kg/週までの用量で毎週 IV 投与しても、CIC-C1q、抗 ENA IgG 及び抗 dsDNA IgG の血清中濃度において被験物質に関連する変化は認められなかった。出生児でも、CIC-C1q、抗 ENA IgG 及び抗 dsDNA IgG の濃度においてスチムリマブに明らかに関連する変化はなかった。

結論として、p.c. 20 日から分娩まで妊娠サルにスチムリマブを 60 又は 180 mg/kg/週の用量で週 1 回 30 分間点滴 IV 投与（約 21 回投与）したときの忍容性は良好であった。妊娠期間、流産、死産、

死亡、母動物及び出生児の一般状態観察、体重及び体重変化並びに出生児の握力、外表検査、形態学的検査及び神経行動学的評価において被験物質による影響はみられなかった。また、出生児の臨床病理学的検査、器官重量及び剖検において、被験物質に起因する明らかな影響はなかった。臨床病理学的検査において 180 mg/kg/週群の母動物でみられた変化は、平均グロブリン濃度の軽微な増加及びこれに関連するアルブミン：グロブリン比の平均値の軽微な減少のみであった。この変化 は、重症度が軽度 であり動物の健康状態への影響がなかったことから、毒性ではないと判断した。これらのデータに基づくと、母動物及び発生に関する NOAEL は 180 mg/kg/週であると考えられた。交尾確認後 146 日における NOAEL での $AUC_{0\text{-}168h}$ は 835000 µg•h/mL であった。

7　局所刺激性試験

スチムリマブの局所刺激性について、5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の中で評価した（3.1.1 項及び 3.1.2 項）。これらの試験において、投与部位に被験物質に関連する所見はみられなかった。

8　その他の毒性試験

8.1　スチムリマブとヒト組織パネルとの交差反応性評価

[TN-[redacted]06]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.17B]

Ex vivo 組織交差反応性試験を実施し、CP の C1s に結合するスチムリマブの交差反応性並びに二次的あるいは C1s 以外の標的への結合について評価した。健康なヒト（3 名）の組織（40 組織）にビオチン標識スチムリマブを 0.625、1.25 及び 2.5 µg/mL の濃度で添加した。ビオチン標識スチムリマブによる免疫組織化学染色では、ヒト膀胱組織及びヒト肝臓組織の調製物を陽性対照として用いた。タンパク質濃度を一致させたビオチン標識ヒト IgG4 を陰性対照として用いた。

直接免疫ペルオキシダーゼ法で試験を実施した。組織交差反応性試験のデータから、評価した組織の大半で、ビオチン標識スチムリマブに特異的な陽性染色は血管壁及び結合組織で認められた。血管では、主に中膜、外膜、内皮及び血管腔内で特異的な陽性染色が認められた。結合組織では、概して線維血管性組織及び線維筋性組織内で特異的な陽性染色が認められた。特異的な陽性染色は、組織特異的な構造の他に、評価した多数の組織の平滑筋、散在性細胞、膠原線維性間質及び評価組織内の細網線維構築でも認められ、更に、多数の組織内、特に血管及び組織間隙内に血清が貯留した領域でも認められた。細胞構造（血管壁及び結合組織の可能性はない）が染色された部位では、主にこれらの構造内の細胞質が染色された。*In vivo* では抗体医薬品が細胞質コンパートメントに到達することは難しいため、細胞質が染色されたことの毒性学的意義はほとんどないと考えられた。

以上、活性化 C1s と不活性化 C1s の両方を認識するスチムリマブを免疫組織化学染色に用いると、評価組織の大半で C1s に特異的な免疫染色が認められた。この染色パターンは、あらゆる組織で高濃度に存在する正常かつ一般的な血漿タンパク質である C1s で予想されるパターンである。このパターンは交差反応性（C1s 以外のタンパク質を認識）を示すものではなく、毒性学的及び安全性上の懸念は認められなかった。

特記すべき所見を表 10 に要約する。

表 10 - スチムリマブの組織交差反応性試験：成績の要約

試験番号（GLP 適用の有無）	試験系／動物種	被験物質濃度	特記すべき所見
TN-[redacted]06（GLP 適用）	ヒト組織	0.625、1.25、2.5 µg/mL	評価組織の大半で血管壁及び結合組織が染色

8.2　免疫毒性試験

ICH S8 に従い、スチムリマブの免疫毒性について、得られた知見の重要性（weight-of-evidence）に基づき評価した。スチムリマブは自然免疫系である CP サブユニット C1s の特異的阻害薬であるこ

とから、免疫系の評価をいくつか実施し、薬理作用に関連する又は二次的な免疫機能への影響を評価した。薬理学的に適した動物種を用いた標的関連安全性評価の基盤として、反復投与毒性試験の血液学的検査及び病理組織学的検査で免疫系の評価を実施した。免疫系への二次的な薬理作用について、毒性試験の中で CIC-C1q 濃度を測定し、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路の保持について評価した。スチムリマブは免疫抑制性の薬理作用を発揮するが、免疫刺激の徴候（薬物ータンパク質付加体）についても評価した。ヒトにおける遺伝性補体欠損症は自己免疫疾患（全身性エリテマトーデス等）の早期発症と関連するとの報告がある(1)。自己免疫疾患発症のバイオマーカーである抗 ENA 抗体及び抗 dsDNA 抗体の濃度を反復投与毒性試験で測定した。また、ヒト血液を用いた T 細胞増殖アッセイで、スチムリマブの免疫原性（患者で中和性又は交差反応性の免疫反応が生じる可能性）をプロファイリングした。

上述の評価のいずれにおいてもスチムリマブに関連する毒性所見は認められなかったことから、ヒトにおいて免疫抑制あるいは免疫刺激による有害所見が発現するリスクは低いと考えられた。

8.2.1 反復投与毒性試験における血液学的検査及びリンパ系器官の病理組織学的検査

薬理作用に関連する免疫系への毒性作用について、ヒト以外の霊長類を用いた毒性試験の一環として評価した。ヒト以外の霊長類を用いた 5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の投与期間及び回復期間中に、スチムリマブに関連した一貫性のある血液学的検査及び病理組織学的検査の変化はなかった。また、妊娠サルを用いた ePPND 試験でもスチムリマブに関連する毒性所見 は認められなかった。

5 週間反復投与毒性試験（3.1.1 項）の血液学的検査では、投与期間の 1 日目及び 29 日目に平均好酸球数が一時的に増加した（軽微～軽度）。この変化は 30 mg/kg/週以上の群の雄（最大 1.8 倍）及び 100 mg/kg/週以上の群の雌（最大 3.2 倍）で発現した。好酸球数の変化は各群の 1～4 匹で発現し、投与前の値あるいは対照群の中の最高値に比べて増加していたが、関連する病理組織学的所見はなかった。投与期間の 36 日目及び回復期間の 57 日目には好酸球数の顕著な変化は認められなかった。したがって、好酸球数の増加とスチムリマブ投与との関連性は不明であった。

26 週間反復投与毒性試験（3.1.2 項）の血液学的検査では、統計学的有意差の有無にかかわらず、対照群とスチムリマブ投与群及び個体内での投与前と投与期間の間で認められた差はいずれも通常のばらつきに一致しており、関連する病理組織学的所見もないことから、偶発的なものと考えられた。

ヒト以外の霊長類を用いた反復投与毒性試験、及び妊娠サルへ最大 21 回毎週投与した ePPND 試験（6.1 項）のいずれにおいても、スチムリマブを免疫系への毒性作用は認められなかった。これらの試験では一般状態観察で感染率増加の徴候の評価、従来の血液学的検査 、一部のリンパ系組織の器官重量、リンパ系組織の肉眼評価を実施した。交尾確認後 146 日の計画安楽殺まで生存した母動物で、スチムリマブに関連する唯一の臨床病理学的変化として、180 mg/kg/週群で平均グロブリン濃度の軽微な増加（対照群の平均値に比べ 17%高値）及びアルブミン：グロブリン比の平均値の軽微な減少（対照群の平均値に比べ 22%低値）が発現した。180 mg/kg/週群でみられたグロブリン濃度の軽微な増加は、重症度が軽く動物の健康状態への影響がなかったことから、毒性ではないと判断した。60

及び 180 mg/kg/週群の母動物からの出生児では、計画安楽殺及び計画外安楽殺時の臨床病理学的検査においてスチムリマブに関連する変化はみられなかった。反復投与毒性試験及び ePPND 試験でスチムリマブに関連する免疫系への毒性作用がなかったことから、免疫系に有害な影響が生じるリスクは低いことが示唆される。

8.2.2 自己免疫の評価

8.2.2.1 スチムリマブ投与後の抗核抗体及び抗二本鎖 DNA 抗体の評価

[TN-[redacted]01]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.17A]

C1s などの CP コンポーネントが遺伝的に欠失しているヒトは全身性エリテマトーデスや関節リウマチのような自己免疫症候群を発症しやすい。スチムリマブが C1s を標的として CP 活性を阻害することで自己免疫状態に変化が生じるかを評価するため、毒性試験で自己免疫の指標をいくつか評価した。この中に血清中の抗 dsDNA 抗体濃度及び ANA（抗核抗体） 濃度の測定が含まれた。

5 週間反復投与毒性試験（3.1.1 項）の血清検体を用いて、スチムリマブ投与に起因する ANA 産生について GLP 非適用下で評価した。媒体対照群を含む全群のすべての個体について、投与前並びに投与期間及び回復期間のほぼ毎週、可溶性核抗原（ENA）に対するサル IgG 及び IgM 自己抗体測定用の市販の酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）キット（Alpha Diagnostics、米国）を用いて測定した。これらの試験から、投与期間及び回復期間の抗 ENA IgG 及び IgM 抗体の循環血清中濃度において、スチムリマブによる影響はないことが明らかにされた。

同様に、抗 dsDNA IgG 及び IgM 抗体の濃度を市販の ELISA キット（Alpha Diagnostics、米国）で測定した。媒体対照群を含む全群のすべての個体について、投与前並びに投与期間及び回復期間のほぼ毎週、測定を実施した。スチムリマブを投与された 30 匹のうち 29 匹では、抗 dsDNA IgG 及び IgM 抗体の循環血中濃度において被験物質に関連する影響はなかった。100 mg/kg/週群の 1 匹（個体番号 I04126）で、スチムリマブ投与後に抗 dsDNA IgG 抗体が増加した。この増加は 15 日目に初めて認められ、回復期間 22 日目に最高値（投与前の約 4.5 倍）に達した。この個体では投与期間及び回復期間を通じ、平均して約 3 倍の増加が認められた。また、同じ個体で抗 dsDNA IgM 抗体が 15 日目に一時的に増加（投与前の約 1.8 倍）した。この個体における抗 dsDNA IgM 濃度は、抗 dsDNA IgG 濃度とは対照的に、投与期間中に徐々に減少して回復期間 8 日目までにほぼ投与前の値まで回復した。

26 週間反復投与毒性試験（3.1.2 項）は GLP 適用試験であるが、その血液検体を用いて、GLP 非適用試験として血清中抗 ENA IgG 濃度を評価した。投与前に、0、60 又は 180 mg/kg/週群のそれぞれ 10 匹中 1 匹、1 匹又は 0 匹で抗 ENA IgG 反応が検出された。対照群では 10 匹中 9 匹で試験期間中に少なくとも 1 回抗 ENA 反応が検出された。対照群で認められた所見は非特異的な反応であることが示唆された。60 又は 180 mg/kg/週群では、それぞれ 10 匹中 8 匹又は 9 匹で試験期間中に血清中抗 ENA 反応が認められた。抗 ENA IgG 反応の発現率及び相対濃度は媒体対照群とスチムリマブ投与群

とで同程度であり、用量依存性はなかった。したがって、血清中抗 ENA IgG 濃度においてスチムリマブに関連する影響はみられなかった。

26 週間反復投与毒性試験の投与前期間中、0、60 又は 180 mg/kg/週群のそれぞれ 10 匹中 9 匹、10 匹又は 10 匹で血清中抗 dsDNA IgG 反応が検出された。対照群では全例のすべての時点（2 匹での各 1 時点を除く）で抗 dsDNA IgG 反応が検出された。対照群で認められた所見は非特異的な反応であることが示唆された。60 又は 180 mg/kg/週群では、全例（10 匹中 10 匹）及び試験期間中のすべての時点（各群 1 匹の 1 時点を除く）で血清中抗 dsDNA 反応が認められた。60 mg/kg/週群の雌 1 匹（個体番号 I10661）が投与前及び投与期間中の最高値を示した。この個体では 57 日目に抗 dsDNA 反応が最高となり、その後の投与期間及び回復期間を通じて低下した。その他の個体では、 投与最終日及び回復期間中の血清中抗 dsDNA IgG 濃度は媒体対照群とスチムリマブ投与群とで同程度であった。したがって、用量依存性がないこと及び 60 mg/kg/週群の個体間で投与期間中に一貫した又は持続的影響がないことから、血清中抗 dsDNA 反応の差はスチムリマブに関連するものではないと考えられた。

ePPND 試験で、母動物に p.c. 20 日から分娩までスチムリマブを 0、60 又は 180 mg/kg/週の用量で IV 投与したところ、母動物及び出生児において抗 ENA IgG 及び抗 dsDNA IgG の血清中濃度に明らかな変化はなかった。

以上のように、抗 dsDNA 抗体及び抗 ENA 抗体に関して、スチムリマブに関連する変化はなかった。

8.2.2.2 スチムリマブ投与後の循環免疫複合体（CIC）の評価

[TN-[redacted]01]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.17A]

免疫系への二次的な薬理作用について、毒性試験の中で CIC-C1q 濃度 を測定し、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路の保持について評価した。

5 週間反復投与毒性試験（3.1.1 項）の血清検体を用いて、スチムリマブ投与に起因する CIC の発現あるいは増加について GLP 非適用試験で評価した。ヒト及びサル両方の免疫複合体を検出できる ELISA キットを用いて CIC を測定した。媒体対照群を含む全群のすべての個体について、投与前並びに投与期間及び回復期間のほぼ毎週、測定を実施した。スチムリマブを投与された 30 匹のうち 28 匹では投与後に CIC 濃度の変化はなかった。100 mg/kg/週群の 1 匹で、回復期間 50 日目及び 57 日目に CIC が投与前のそれぞれ約 4.5 倍及び 10 倍に増加した。ただし、PD の指標として実施した *ex vivo* CP 活性測定試験の成績から示唆されるとおり、この個体で CP 活性は回復期間 11 日目までに完全に回復していた。100 mg/kg/週群の別の 1 匹では、投与前の CIC 濃度が他のすべての個体に比べ著しく高かった（約 6 倍）。興味深いことに、この個体では投与前及び投与後の抗 dsDNA 抗体濃度も高かった。CIC 濃度はスチムリマブ投与後徐々に減少し、35 日目までに投与前値の約 33%になり、回復期間を通じてこの低値を維持した。

同様に、26 週間反復投与毒性試験（3.1.2 項）の血清検体を用いて、GLP 非適用の試験で評価した。投与前に、0、60 又は 180 mg/kg/週群のそれぞれ 10 匹中 1 匹、2 匹又は 1 匹で CIC-C1q 反応が検

出された。対照群では 10 匹中 2 匹で試験期間中に少なくとも 1 回抗 ENA 反応 が検出された。対照群で認められた所見は非特異的な反応であることが示唆された。60 又は 180 mg/kg/週群ではそれぞれ 10 匹中 2 匹又は 1 匹で試験期間中に血清中 CIC-C1q 反応が認められた。CIC-C1q 反応の発現率及び相対濃度は媒体対照群とスチムリマブ投与群とで同程度であり、用量依存性はなかった。

ePPND 試験で、母動物に p.c. 20 日から分娩までスチムリマブを 0、60 又は 180 mg/kg/週の用量で IV 投与したところ、母動物の血清中 CIC-C1q 濃度に明らかな変化はなかった。出生児については、CIC-C1q が定量可能であった検体が少数であったため、結論づけることはできないと考えられた。

以上のように、スチムリマブを投与しても CIC-C1q 濃度に用量依存的及び経時的な影響は認められなかった。

8.2.3 免疫原性のリスク

[TN-[redacted]02]、Module 2.6.7 [表 2.6.7.17A]

ヒトに関連するモデルで臨床での免疫原性リスクを予測する ため、*ex vivo* T 細胞増殖アッセイ（EpiScreen™、[redacted]、英国）でスチムリマブの免疫原性を評価した。結果を、対照抗体（キメラ C1s 抗体）及び対照抗原（スカシガイ由来ヘモシアニン）に対する反応と比較した。このアッセイは、タンパク質製剤に対する CD4+ T 細胞の反応を定量することにより、免疫原性を予測するものである。健康ヒトドナー20 名から得た T 細胞を用いて、経時的 T 細胞増殖（EpiScreen™）アッセイでスチムリマブの評価を実施した。EpiScreen™ アッセイの結果、T 細胞増殖反応陽性率は、対応するキメラ抗体で 45%であったのに対しスチムリマブでは 0%であったことから、本薬の免疫原性は極めて低いことが判明した。結論として、完全ヒト化抗体であるスチムリマブで T 細胞増殖反応がみられなかったことから、本薬の免疫原性は極めて低いと考えられた。

8.2.4 薬物乱用性評価

全体として、毒性試験及び薬理試験でスチムリマブの依存性及び薬物乱用性は示唆されなかったことから、本薬の薬物乱用性評価に特化した試験は実施しなかった。理由を以下に記載する。

スチムリマブは、CP 特異的セリンプロテアーゼである C1s に結合して阻害するヒト化 IgG4 モノクローナル抗体である。スチムリマブの分子量は約 145 kDa であることから、著しい量が血液脳関門を通過する可能性は低い。一般に、治療薬分子が脂溶性で分子量が 400～600 Da 未満である場合を除き、脳移行は制限される(3)。類似したモノクローナル抗体に関する文献データを考慮すると、脳脊髄液中のスチムリマブ濃度は非常に低いと予想され、薬物乱用性がみられる可能性は極めて低いと考えられる(4)。モノクローナル抗体は活性代謝物を持たず、規制薬物の前駆物質でもない。モノクローナル抗体は一般に分解により代謝されて小さなペプチド及び各アミノ酸となり、内因性の異化を受けることが知られている。またこれらの小さなペプチドやアミノ酸にその他の重要な生物学的活性はない。したがって、スチムリマブの分解産物が薬物依存性及び薬物乱用性を示す可能性は極めて低い。

スチムリマブの非臨床反復投与毒性試験で、カニクイザルに 180 mg/kg/週までの用量を 26 週間 IV 投与したところ、CNS に機能的及び解剖学的な影響はみられなかった。一般状態観察においてスチムリマブに関連する異常な行動徴候はなく、CNS 組織の解剖病理学的検査でもスチムリマブに関連する異常所見はなかった。ePPND 試験でスチムリマブを 180 mg/kg/週までの用量で IV 投与したところ、妊娠サル及び出生児（生後 3 か月間評価）において、被験物質に関連する CNS 機能への影響、CNS 組織における病理所見は認められなかった。スチムリマブを投与された妊娠サルからの出生児に対する機能発達評価［支持握力、眼反射、姿勢緊張 （股関節の外転、膝屈曲、足先屈曲、肩の外転、肘屈曲、指屈曲 、頭部伸展）、背屈（手首、足首）、モロー反射、持ち上げ動作、正向反射、うつ伏せからの姿勢変化、抱擁／握り反射、追視、吸引反射、探索反射、口すぼめ反射、瞳孔反応、眉間軽打反射、リップスマッキング行動］の成績は対照群と同様であり、スチムリマブに関連する影響は認められなかった。26 週間反復投与毒性試験の NOAEL における C_{max}（11700 µg/mL）は *ex vivo* でのスチムリマブを介した CP 活性阻害の IC_{90}（22.3 µg/mL）を上回っていた。

9　考察及び結論

IV 投与したスチムリマブの毒性について、最長 26 週間までの期間で、ヒト以外の霊長類を用いた安全性薬理及び免疫系評価を含む包括的な一連の反復投与毒性試験で検討した。ヒトへの予定臨床用量を投与した時の曝露量を超える曝露量においても、毒性は認められなかった。

カニクイザルはスチムリマブの非臨床評価に関して薬理学的に適した動物種である（Module[2.6.2]参照）。スチムリマブの薬理活性は *in vitro* での 1.34%血清中溶血抑制に関する IC_{50} はサル、ヒトとも 0.21 µg/mL であり、*in vivo* での CP 活性阻害に関する IC_{90} はサルで 22.3 µg/mL、ヒトで 63.9 µg/mL であった。

サルを用いた毒性試験では、30 mg/kg/週以上の用量で、投与から次の投与までの間、全身曝露量が維持された（Module[2.6.4]参照）。カニクイザルを用いた GLP 適用 5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験でスチムリマブの安全性を評価した。スチムリマブを 180 mg/kg/週 までの用量で最長 26 週間週 1 回 IV 投与したときの忍容性は良好であった。安全性薬理評価項目（CNS、心血管系及び呼吸系）を含め、いずれの評価パラメータにもスチムリマブに関連する影響はなかった。スチムリマブの免疫原性は軽微であり、ADA を発現したサルは少数であり、TK パラメータ（曝露量を含む）及び PD 作用（CP 活性阻害）への影響も軽微であった。スチムリマブの血清中 CP 活性阻害はすべての用量で同程度（最大）であったが、阻害発現期間は用量依存的であった。スチムリマブは 180 mg/kg/週の用量で、曝露量及び CP 活性阻害が最長 31 週間一定であったが、CIC-C1q 濃度、抗 ENA IgG 抗体濃度及び抗 dsDNA IgG 抗体濃度を含む自己免疫パラメータにおいてスチムリマブに関連する変化はなかった。サルを用いたスチムリマブの 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL は、180 mg/kg/週の 30 分間点滴 IV 投与であると考えられた。

スチムリマブの TK の特徴は、60～180 mg/kg/週の範囲で C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48.5h}$ がほぼ用量に比例して増加し、反復投与後に蓄積することであった。TK の性差はなかった。スチムリマブの免疫原性は軽微であり、血清中 ADA が血清中スチムリマブ濃度あるいはスチムリマブを介した血清中 CP 活性阻害に及ぼす影響は軽微であった。回復期間にはすべての個体で ADA 抗体価がベースラインレベル（10 以下）であった。ADA に関連する毒性所見はみられなかった。

評価した最高用量（180 mg/kg/週）でもスチムリマブに関連する毒性所見が発現しなかったことから、本薬の良好な安全性が裏付けられた。また、薬力学解析によると血清中 CP 活性の IC_{90} は 22.3 µg/mL であり、毒性試験で評価した用量（10000 µg/mL 超）はこれをはるかに上回った。ICH S6 (R1) には「ほとんどのバイオ医薬品による毒性は、目的とする作用機序に関連している。このため、比較的高用量の投与では、明らかに過剰な薬理作用に起因する有害作用が惹起される場合がある。」と記載されている。このため、最長 31 週間（211 日目まで）にわたり CP の確実かつ特異的な阻害に関する IC_{90} を十分超えることを確認した。

ICH S6 によると、遺伝毒性試験はバイオテクノロジー応用医薬品には適切でないと考えられるため、スチムリマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。スチムリマブは分子量が大きい（約 145 kDa）

ことから、そのままの分子として細胞膜や核膜を通過したり、DNA と直接相互作用したりするとは考えにくい。

反復投与毒性試験のデータ及び CP 阻害に関して利用可能な文献から、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないことが示された。

サルを用いた ePPND に関する試験において、成熟妊娠カニクイザルに 180 mg/kg/週までの用量を IV 投与し、その出生児を生後 3 か月までモニタリングしたところ、スチムリマブの忍容性は母動物及び出生児ともに良好であった。交配確認後 146 日に母動物の平均グロブリン濃度が軽微な増加を示し、これに関連してアルブミン：グロブリン比の平均値が軽微に減少した点を除くと、いずれの評価パラメータにもスチムリマブに関連する所見（母動物、胎児及び出生児）はみられなかった。出生児を 3 か月間評価したところ、成長及び発達は正常範囲内にあった。NOAEL は母動物及び出生児ともに 180 mg/kg/週 であると考えられた。

3 名のヒトドナーから得た標準的な組織パネル（40 組織）を用いて組織交差反応性試験を実施し、スチムリマブの結合能を評価した。この結果、評価組織の大部分で C1s の特異的免疫染色がみられ、この染色パターンは C1s で予想されるものであった。組織中で免疫染色された部位は、組織や細胞の表面ではなく主に血管系（血漿）及び細胞外間隙（マトリクス）の内部である。このパターンは交差反応性（C1s 以外のタンパク質を認識）を示すものではなく、毒性学的及び安全性上の懸念は認められない。

スチムリマブは自然免疫系である CP サブユニット C1s の特異的阻害薬であることから、薬理作用に関連する、二次的な免疫機能への影響を特徴づけるため免疫系の評価をいくつか実施した。免疫系について、利用可能な非臨床安全性データの総合評価を実施した（9.1 項）。

9.1　免疫系における所見の要約

スチムリマブは自然免疫系の特異的阻害薬であることから、この抗体の免疫学的安全性プロファイル評価にあたり 3 点の懸念を特定した。第一に、CP の抑制に直接関連して、過度の薬理作用による毒性所見が免疫系に発現しないかを評価した。第二に、ヒトにおける遺伝性補体欠損症は自己免疫疾患（全身性エリテマトーデス等）の早期発症と関連するとの文献報告(1)があった。第三に、スチムリマブの免疫原性（患者で中和性又は交差反応性の免疫反応が生じる可能性）をプロファイリングした。

薬理作用に関連する免疫系への毒性作用について、ヒト以外の霊長類にスチムリマブを 180 mg/kg/週までの用量で投与する毒性試験の一部として評価した。ヒト以外の霊長類を用いた反復投与毒性試験及び妊娠サルを用いた ePPND 試験でスチムリマブを最長 26 週間投与しても免疫学的毒性作用は認められなかった。これらの評価として、感染率増加の徴候を示す一般状態観察、従来の血液学的検査 、一部のリンパ系組織の器官重量並びに免疫細胞及びリンパ系組織の病理組織学的評価を実施した。スチムリマブに関連した免疫系への毒性作用はなかったことから、免疫系に有害な影響が生じるリスクは低いと考えられる。

スチムリマブが直接関連する免疫系への阻害作用の他に、免疫反応亢進の徴候（薬物ータンパク質付加体）についても評価した。ヒトにおける遺伝性補体欠損症は自己免疫疾患の早期発症と関連するとの報告がある(1)。薬理学的な C1s 活性抑制作用によるリスクを直接評価するため、スチムリマブの毒性試験で自己免疫のリスクに関するマーカー（抗 dsDNA IgG 及び抗 ENA IgG）を測定した。また、CIC-C1q 濃度も測定し、補体を介したオプソニン作用及び免疫複合体クリアランス経路の保持について評価した。ヒト以外の霊長類を用いた毒性試験及び ePPND 試験でスチムリマブを最長 26 週間投与したところ、いずれの用量でもこれらのパラメータへの影響はなかった。

ヒト T 細胞増殖アッセイで陽性反応がみられなかったことから、スチムリマブ（ヒト IgG4 アイソタイプ）の免疫原性は低いことが明らかにされた。

以上のように、スチムリマブは直接的（C1s の阻害を介して）又は間接的（全身の免疫機能に影響を及ぼすことで）のいずれによっても免疫系に関連する毒性作用をきたす可能性が極めて低いと考えられた。

9.2　総括

結論として、スチムリマブをサルに週 1 回、最長 26 週間投与しても薬理学的及び毒性学的な有害作用は認められなかった。サルを用いた ePPND に関する試験において、胎児の成長及び発生に関する毒性作用は認められなかった。CP に関する利用可能な文献の科学的な重要度（weight-of-evidence）に基づく評価、スチムリマブの非臨床試験の成績から、スチムリマブを長期投与してもがんのリスクは増加しないと考えられた。

サルに 30 mg/kg/週以上の用量を投与しても抗スチムリマブ 抗体に関連する毒性作用は発現せず、持続的な全身曝露の低下はみられなかった。

スチムリマブの分子量の大きさ、反復投与毒性試験及び生殖毒性試験の NOAEL における C_{max} は血清中 CP 活性の IC_{90}（22.3µg/mL）を上回っていたが、神経系に変化がなかったことから、スチムリマブにより薬物乱用性がみられる可能性は極めて低いことが示唆された。

サルを用いた反復投与毒性試験及び生殖毒性試験の NOAEL での曝露量（AUC）は、ヒトへの最大推奨投与レジメン（75 kg 未満の患者に 6.5 g 又は 75 kg 以上の患者に 7.5 g）での曝露量（AUC）のそれぞれ 2.6～3.6 倍及び 2.1～2.9 倍 であった（Module 2.4 の[表 8] 参照）。

参 考 文 献

1. Dragon-Durey MA, Quartier P, Fremeaux-Bacchi V, Blouin J, de Barace C, Prieur AM, et al. Molecular basis of a selective C1s deficiency associated with early onset multiple autoimmune diseases. J. Immol/Lunol. 2001; 166:7612-6.
2. Gocke E, Albertini S, Brendler-Schwaab S, Muller L, Suter W, Wurgler FE. Genotoxicity testing of biotechnology-derived products. Report of a GUM task force. Gesellschaft fur Umweltmutationsforschung. Mutat. Res. 1999; 436:137-56.
3. Jones AR and Shusta EV. Blood –brain barrier transport of therapeutics via receptor mediation. Pharm. Res. 2007; 24:1759-71.
4. Tabrizi M, Bornstein GG, Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. AAPS J. 2010; 12: 33-43.

サノフィ株式会社

スチムリマブ（遺伝子組換え）

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 30

目　　次

2.6.7 毒性試験概要表 1

目　　次 2

表　目　次 3

1　　毒性試験一覧表 4

2　　トキシコキネティクス試験の一覧表 6

3　　トキシコキネティクス試験成績の一覧 7

4　　毒性試験使用ロット 10

5　　単回投与毒性試験 11

6　　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 11

7　　反復投与毒性試験 12

8　　*In Vitro* 遺伝毒性試験 19

9　　*In Vivo* 遺伝毒性試験 19

10　　がん原性試験 19

11　　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 19

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 20

13　　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 20

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 21

15　　幼若動物を用いた試験 27

16　　局所刺激性試験 28

17　　その他の毒性試験 29

表　目　次

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary – overview - study program 4
表 2.6.7.2 - Overview of Toxicokinetics Studies 6
表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data 7
表 2.6.7.4 - Toxicology Drug Substance 10
表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery 12
表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 26-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery 15
表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function 21
表 2.6.7.17A - Other Toxicity Studies- Nonpivotal Studies 29
表 2.6.7.17B - Other Toxicity Studies- Tissue Cross Reactivity Study 30

1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary – overview - study program

Test Article: Sutimlimab

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – Not applicable							
Repeat-Dose Toxicity							
Cynomolgus monkey	IV	5-weeks	0, 30, 60, <u>100</u>	Yes	[redacted], USA	[TN-[redacted]05]	4.2.3.2-1
Cynomolgus monkey	IV	26-weeks	0, 60, <u>180</u>	Yes	[redacted], USA	[TN-[redacted]16]	4.2.3.2-2
Genotoxicity – Not applicable							
Carcinogenicity – Not applicable							
Fertility and Early Embryonic Development – Not applicable							
Embryo-fetal Development – Not applicable							
Enhanced Pre- and Postnatal Development Study							
Cynomolgus monkey	IV	Day 20 PC through delivery, approximately 21 doses	0, 60, <u>180</u>	Yes	[redacted], USA	[T-BV009-01]	4.2.3.5.3-1

Abbreviations: GLP: Good Laboratory Practices, IV: intravenous, PC: post coitum

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

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary – overview - study program (continued)

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Juvenile Studies – Not applicable							
Local Tolerance – Not applicable							
Other Toxicity Studies							
Human Peripheral blood mononuclear cells (CD4+ T cell proliferation immunogenicity assay)	In vitro	NA	50 µg/mL	No	[redacted],[redacted]UK	[TN-[redacted]02]	4.2.3.7.1-1
Evaluation of CIC, anti-ENA antibodies, and anti-dsDNA antibodies in serum [a]	Ex vivo	5 weeks (once weekly)	30, 60, 100	No	True North Therapeutics San Francisco, CA	[TN-[redacted]01]	4.2.3.7.2-1
Human tissues (tissue cross-reactivity study)	Ex vivo	NA	0.625, 1.25, and 2.5 µg/mL	Yes	[redacted],[redacted]. [redacted],[redacted]UK	[TN-[redacted]06]	4.2.3.7.7-1

Abbreviations: anti-ENA: anti-extractable nuclear antigens; anti-dsDNA: anti-double stranded DNA; CIC: circulating immune complexes; GLP: Good Laboratory Practices, NA: not applicable, PC: post coitum

[a] Serum samples obtained from Study Number TN-[redacted]05.

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2 - Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: Sutimlimab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/week)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity – Not applicable							
Repeat-Dose Toxicity							
5-week study	Cynomolgus monkey	IV	0, 30, 60, 100	Yes	[redacted],[redacted]. [redacted],[redacted],USA	[TN-[redacted]05]	4.2.3.2-1
26-week study	Cynomolgus monkey	IV	0, 60, 180	Yes	[redacted],[redacted]. [redacted],[redacted],USA	[TN-[redacted]16]	4.2.3.2-2
Genotoxicity – Not applicable							
Carcinogenicity – Not applicable							
Reproductive and Developmental Toxicity							
Enhanced pre- and postnatal development study	Cynomolgus monkey	IV	0, 60, 180	Yes	[redacted],[redacted]. [redacted],[redacted],USA	[T-BV009-01]	4.2.3.5.3-1
Juvenile Studies – Not applicable							
Local Tolerance – Not applicable							
Other Toxicity Studies – Not applicable							

Abbreviations: GLP: Good Laboratory Practices, IV: intravenous

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data

Test Article: Sutimlimab

Species/Strain [Study No.]	**Monkey/Cynomolgus (TN-[redacted]05)**			
Dose (IV) (mg/kg/week)	**Dose 1 (Day 1)**		**Dose 5 (Day 29)**	
	M	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}145h}$ (µg.h/mL)				
30	23500	27700	20 200 / 29 800 [a]	24 700 / 28 700 [a]
60	74600	72400	83 100 / 99 000 [a]	96 300
100	132000	134000	246000	217000
C_{max} (µg/mL)				
30	602	708	674 / 743 [a]	666 / 678 [a]
60	1320	1540	1710 / 1750 [a]	1760
100	2300	2940	2930	3050

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}145h}$: area under the time concentration curve; C_{max}: maximum concentration; F: female; M: male
N = 5/sex/group
[a] Mean AUC for all animals in the group / mean AUC in which the ADA-positive animals were excluded.

表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Sutimlimab

Species/Strain [Study No.]	**Monkey/Cynomolgus (TN-[redacted]16)**							
Dose (IV) (mg/kg/week)	**Dose 1 (Day 1)**		**Dose 5 (Day 29)**		**Dose 13 (Day 85)**		**Dose 26 (Day 176)**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg.h/mL)								
60	58 000	33 500	54 200	38 600	130 000	49 700	78 400	67 700
180	183 000	133 000	391 000	266 000	458 000	380 000	575 000	281 000
C_{max} (µg/mL)								
60	2130	1980	2380	1530	3660	1550	2320	2660
180	7220	5310	11 600	8100	10 800	10 900	14 900	7800

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}48.5h}$: area under the time concentration curve; C_{max}: maximum concentration; F: female; M: male
N = 5/sex/group

表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Sutimlimab

Species/Strain (Study No.)	**Monkey/Cynomolgus (T-BV009-1)**		
Dose (IV) (mg/kg/week)	**Dose 1** [a]	**Dose 5** [a]	**Dose 19** [a]
	F	**F**	**F**
	$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg.h/mL)		
60	40 000	47 300	61 500
180	118 000	239 000	313 000
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL)			
60	NA	96 300	154 000
180	NA	620 000	835 000
C_{max} (µg/mL)			
60	1540	1480	2020
180	4100	7440	8110

Abbreviations: AUC: area under the time concentration curve; C_{max}: maximum concentration; F: female; NA: not applicable; p.c.: post coitum

N = 16/group

[a] Dose 1: Day 20 p.c.; Dose 5: Day 48 p.c.; Dose 19: Day 146 p.c.

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 - Toxicology Drug Substance

Test Article: Sutimlimab

Lot No.	Total Protein Content (mg/mL)	% Purity			Study No.	Type of Study	Location
		By [redacted]	By [redacted]	By [redacted]			
Repeat-Dose Toxicity							
[redacted][a]	9.9	99.2 [b]	92.6 [b]	NP	[TN-[redacted]05]	5-Week IV monkey	4.2.3.2-1
[redacted][c]	17.0	97.8 [d]	90.8 [b]	97.0 / 88.0 [e]	[TN-[redacted]16]	26-Week IV monkey	4.2.3.2-2
Reproductive and Developmental Toxicity							
[redacted][f]	18.2	98.1 [d]	90.1 [b]	96.6 / 92.5 [e]	[T-BV009-01]	Enhanced pre- and postnatal development study IV monkey	4.2.3.5.3-1

Abbreviations: IV: intravenous infusion; [redacted]; NP: not performed

[a] Values are from Certificate of Analysis of batch lot #[redacted]20[redacted] signed [redacted] 20[redacted].
[b] [redacted]%
[c] Values are from Certificate of Analysis of batch lot #[redacted] signed [redacted] 20[redacted].
[d] [redacted]%
[e] [redacted] main peak %
[f] Values are from Certificate of Analysis of batch lot #[redacted] signed [redacted] 20[redacted].

5　単回投与毒性試験

該当なし

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

該当なし

7　反復投与毒性試験

表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity - 5-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery

Report Title: 5-Week Intravenous Infusion Toxicity Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase									
Species/Strain: Monkey / cynomolgus			**Duration of Dosing:** 5 weeks (once weekly)				**Test Article:** Sutimlimab		
Initial Age: 28 to 36 months			**Duration of Recovery Period:** 8 weeks				**Study No. [TN-[redacted]05]**		
Date of First Dose: M: [redacted] 20[redacted], F: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** IV infusion (~1 hour)				**Location:** 4.2.3.2-1		
Vehicle/Formulation: 10 mM sodium phosphate buffer, 140 mM NaCl, and 0.02% polysorbate 80 (Tween 80) at pH 6.1							**GLP Compliance:** Yes		
Special Features: 3 animals/sex/group were euthanized one week following 5 weeks of once weekly dose administration, the remaining 2 animals/sex/group were euthanized following an approximate 8-week non-dosing (recovery) period. Study evaluated safety pharmacology (CNS, cardiovascular, respiratory) endpoints.									
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/week, IV									
Dose (mg/kg/week)		**0 (Vehicle)**		**30**		**60**		**100**	
Number of Animals (Main study)		**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics									
$AUC_{0\text{-}145h}$ (µg.h/mL)	Dose 1(Day 1)	BLQ	BLQ	23 500	27 700	74 600	72 400	132 000	134 000
	Dose 5(Day 29)	BLQ	BLQ	20 200	24 700	83 100	96 300	246 000	217 000
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) [a]	Dose 1	BLQ	BLQ	23 500	27 700	76 200	73 500	141 000	146 000
	Dose 5	BLQ	BLQ	24 100	28 800	75 200	100 000	286 000	238 000
C_{max} (µg/mL)	Dose 1	BLQ	BLQ	602	708	1320	1540	2300	2940
	Dose 5	BLQ	BLQ	674	666	1710	1760	2930	3050
$t_{½}$ (hr)	Dose 1	NA	NA	12.2	14.2	26.4	19.5	NA	67.7
	Dose 5	NA	NA	20.1	16.0	15.5	52.1	110	75.1

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}145h}$: area under the concentration curve from 0 to 145h; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the concentration curve from 0 to 168h; BLQ: below the limit of quantitation; C_{max}: maximum concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; IV: intravenous infusion; M: male; NA: not applicable; $t_{1/2}$: half life; TNT009: sutimlimab

[a] The $AUC_{0\text{-}168}$ values were determined by extrapolation or interpolation

表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with an 8-week Recovery (continued)

Report Title: 5-Week Intravenous Infusion Toxicity Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase (continued)								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**30**		**60**		**100**	
Number of Animals (Main study)	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics (continued)								
Anti-sutimlimab antibody (+/total) Day 29	0/5	0/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Additional information: N = 5/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of TNT009; lower limit of quantitation was 4.7 ng/mL								
Classical complement pathway activity (%)								
Predose	120.6	122.9	112.2	116.6	127.0	116.8	125.2	113.1
Day 1 (Dose 1), 5 min	118.3	112.9	15.0*	14.1*	7.0*	11.0*	5.0*	16.5*
Day 1, 6 hr	120.3	123.2	14.8*	14.2*	10.6*	11.5*	14.2*	14.3*
Day 1, 24 hr	122.0	130.1	12.5*	13.3*	9.3*	7.8*	17.2*	12.0*
Day 1, 48 hr	121.9	126.9	12.0*	11.4*	7.5*	7.1*	11.5*	14.5*
Day 1, 96 hr	121.2	121.3	73.3*	55.4*	5.8*	5.4*	5.5*	12.9*
Day 1, 144 hr	120.4	123.2	112.6	113.2	14.7*	16.6*	5.3*	7.6*
Day 8, predose	120.3	127.4	114.9	116.2*	53.0*	52.7*	6.4*	5.4*
Day 8 (Dose 2), 6 hr	121.0	126.2	12.5*	11.6*	8.1*	8.3*	12.9*	15.1*
Day 15, predose	118.5	118.5	112.0	114.5	8.2*	9.0*	5.9*	9.5*
Day 15 (Dose 3), 6 hr	119.2	121.7	12.3*	10.2*	8.8*	11.5*	13.7*	12.1*
Day 22, predose	119.5	127.2	114.6	114.6	30.1*	10.7*	10.7*	5.6*
Day 22 (Dose 4), 6 hr	123.6	129.1	10.1*	11.2*	10.2*	10.3*	17.6*	19.3*
Day 29, predose	123.3	124.2	114.2	115.8	33.9*	7.8*	11.7*	12.1*
Day 29 (Dose 5), 5 min	122.7	123.7	9.7*	11.1*	12.0*	8.1*	16.6*	10.4*

Abbreviations: F: female; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab, *P ≤ 0.05

表 2.6.7.7A - Repeat-Dose Toxicity – 5-Week IV Monkey Study with an 8-week Recovery (continued)

Report Title: 5-Week Intravenous Infusion Toxicity Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase (continued)								
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**30**		**60**		**100**	
Number of Animals (Main study)	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Classical complement pathway activity (%)								
Recovery Day 8	154.5	122.8	154.8	116.1	152.2	107.3	20.0	60.8
Recovery Day 15	155.7	120.6	154.9	116.8	155.0	111.2	84.3	108.6
Recovery Day 22	155.6	118.5	159.5	113.1	162.0	110.4	151.2	110.6
Recovery Day 29	125.1	125.2	113.2	118.7	112.6	113.9	108.4	113.5
Recovery Day 36	125.0	125.6	122.4	126.1	123.3	114.7	117.6	111.3
Recovery Day 43	127.8	131.8	126.2	133.6	124.3	125.1	122.5	126.2
Recovery Day 50	153.9	155.8	153.7	143.1	151.8	128.6	133.5	131.6
Recovery Day 57	146.8	142.7	139.8	147.6	143.5	130.8	131.2	139.8
Additional information: There were no test article-related findings noted for the following parameters: mortality, clinical observations, body weight or body weight gain, food consumption (qualitative), pulse oximetry [blood oxygen content], body temperature, ophthalmic observations, respiratory and heart rates, neurological and electrocardiographic (wave form and rhythm) evaluations, hematology, serum chemistry, coagulation or urinalysis parameters, AP activity, C4a concentration, autoimmune parameters (CIC, anti-ENA and anti-dsDNA antibodies; evaluated in Study TN-[redacted]01 (see 2.6.7, 17), organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings.								
Conclusion: The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for this study was 100 mg/kg/week (IV).								

Abbreviations: anti-ENA: anti-dsDNA: anti-double stranded DNA; anti-extruded nuclear antigens; AP: alternative complement pathway; CIC: circulating immune complexes; F: female; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab

表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 26-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery

Report Title: 26-Week Intravenous Infusion Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase						
Species/Strain: Monkey / cynomolgus	**Duration of Dosing:** 26 weeks (once weekly)			**Test Article:** Sutimlimab		
Initial Age: 24 to 36 months	**Duration of Recovery Period:** 8 weeks			**Study No. [**TN-[redacted]16**]**		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** IV infusion (~30 minutes)			**Location:** 4.2.3.2-2		
Vehicle/Formulation: 10 mM sodium phosphate buffer, 140 mM NaCl, and 0.02% polysorbate 80 (Tween 80) at pH 6.1				**GLP Compliance:** Yes		
Special Features: 3 animals/sex/groups were euthanized one week following 26 weeks of once weekly dose administration, the remaining 2 animals/sex/group were euthanized following an approximate 8-week non-dosing (recovery) period. Study evaluated safety pharmacology (CNS, cardiovascular, respiratory) endpoints.						
No Observed Adverse Effect Level: 180 mg/kg/week, IV						
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**60**		**180**	
Number of Animals (Main study)	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics						
$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg.h/mL) Dose 1 (Day 1)	BLQ	BLQ	58 000	33 500	183 000	133 000
Dose 5 (Day 29)	BLQ	BLQ	54 200	38 600	391 000	266 000
Dose 13 (Day 85)	BLQ	BLQ	130 000	49 700	458 000	380 000
Dose 26 (Day176)	BLQ	BLQ	78 400	67 700	575 000	281 000
C_{max} (µg/mL) Dose 1 (Day 1)	BLQ	BLQ	2130	1980	7220	5310
Dose 5 (Day 29)	BLQ	BLQ	2380	1530	11 600	8100
Dose 13 (Day 85)	BLQ	BLQ	3660	1550	10 800	10 900
Dose 26 (Day176)	BLQ	BLQ	2320	2660	14 900	7800

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}48.5h}$: area under the concentration curve from 0 to 48.5h; BLQ: below the limit of quantitation; C_{max}: maximum concentration; CNS: central nervous system; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab

表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 26-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery (continued)

Report Title: 26-Week Intravenous Infusion Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase (continued)						
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**		**60**		**180**	
Number of Animals (Main study)	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Anti-sutimlimab antibody (+/total)						
Day 29	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Day 57	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Day 85	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Day 113	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Day 141	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Day 176	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Recovery Day 6	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Recovery Day 20	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Recovery Day 34	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Recovery Day 55	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Additional information: N = 5/sex/group/timepoint for toxicokinetic analyses of TNT009; lower limit of quantitation was 4.7 ng/mL						

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}48.5}$: area under the concentration curve from 0 to 48.5h; BLQ: below the limit of quantitation; C_{max}: maximum concentration; CNS: central nervous system; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab

表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 26-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery (continued)

Report Title: 26-Week Intravenous Infusion Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase (continued)			
Dose (mg/kg/week)	**0 (Vehicle)**	**60**	**180**
Number of Animals (Main study)	**M:5 / F:5**	**M:5 / F:5**	**M:5 / F:5**
Classical complement pathway activity (%) [a]			
Predose	104.8	118.6	117.6
Day 1 (Dose 1), 5 min	105.1	2.2	2.8
Day 1, 4 hr	101.3	2.2	2.6
Day 1, 12 hr	100.3	2.0	3.0
Day 29, predose	100.4	36.6	2.8
Day 29 (Dose 5), 5 min	96.2	1.4	2.9
Day 29, 4 hr	106.5	1.6	2.7
Day 29, 12 hr	106.5	1.8	2.8
Day 57, predose	100.8	32.0	14.9
Day 57 (Dose 9), 5 min	98.7	1.3	2.0
Day 85, predose	99.7	31.8	16.1
Day 85 (Dose 13), 5 min	102.1	1.7	2.6
Day 85, 4 hr	106.6	1.9	2.7
Day 85, 12 hr	107.1	2.1	2.8
Day 113, predose	106.9	38.0	14.2
Day 113 (Dose 17), 5 min	99.0	1.7	1.7
Day 141, predose	95.8	30.4	13.4
Day 141 (Dose 21), 5 min	93.8	1.9	1.8
Day 176, predose	100.9	35.4	15.1
Day 176 (Dose 26), 5 min	98.7	2.5	2.5
Day 176, 4 hr	104.7	2.2	2.3
Day 176, 12 hr	108.3	3.6	2.8
Day 232 (end of recovery)	125.5	112.0	102.1
[a] Serum TNT009 concentrations for 0 mg/kg/week (all time points) and all Day 232 samples were BLQ.			

Abbreviations: F: female; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab

表 2.6.7.7B - Repeat-Dose Toxicity – 26-Week IV Monkey Study with an 8-Week Recovery (continued)

Report Title: 26-Week Intravenous Infusion Study in Cynomolgus Monkey of TNT009 with an 8-Week Recovery Phase (continued)
Additional information: There were no test article-related findings noted for the following parameters: mortality, clinical observations, body weight or body weight gain, food consumption (qualitative), pulse oximetry [blood oxygen content], body temperature, ophthalmic observations, respiratory and heart rates, neurological and electrocardiographic (wave form and rhythm) evaluations, hematology, serum chemistry, coagulation or urinalysis parameters, autoimmune parameters (anti-ENA IgG, anti-dsDNA IgG, CIC-C1q), organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings.
Conclusion: The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for this study was 180 mg/kg/week (IV).

Abbreviations: anti-dsDNA: anti-double stranded DNA; anti-ENA: anti-extruded nuclear antigens; CIC-C1q: circulating immune complexes-C1q; F: female; IV: intravenous infusion; M: male; TNT009: sutimlimab

8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

該当なし

9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

該当なし

10　がん原性試験

該当なし

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

該当なし

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

該当なし

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

該当なし

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

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys			
Species/Strain: Monkey / cynomolgus	**Duration of Dosing:** up to 21 doses (~P.C.20 through parturition)		**Test Article (Lot):** Sutimlimab
Initial Age: 3.9 to 6.7 years old	**Date of Mating:** Day 0		**Study No.:** [T-BV009-01]
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** IV infusion		**Location:** 4.2.3.5.3-1
Litters Culled/Not Culled: Not culled	**Vehicle/Formulation:** 10 mM sodium phosphate buffer, 140 mM NaCl, and 0.02% polysorbate 80 at pH 6.1		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Date of Last Necropsy:** [redacted] 20[redacted]		
No Observed Adverse Effect Level: 180 mg/kg/week, IV in F0 maternal and F1 infant development			
Dose - mg/kg/week (once weekly)	**0 (Control)**	**60**	**180**
Number of Animals	**16**	**16**	**16**
F_0 Females	**Toxicokinetics**		
$AUC_{0\text{-}48.5h}$ (µg.h/mL) Day 20 p.c.(Dose 1)	BLQ	40 000	118 000
Day 48 p.c. (Dose 5)	BLQ	47 300	239 000
Day 146 p.c. (Dose 19)	BLQ	61 500	313 000
$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg.h/mL) Day 20 p.c. (Dose 1)	BLQ	NA	NA
Day 48 p.c. (Dose 5)	BLQ	96 300	620 000
Day 146 p.c. (Dose 19)	BLQ	154 000	835 000
C_{max} (µg/mL) Day 20 p.c. (Dose 1)	BLQ	1540	4100
Day 48 p.c. (Dose 5)	BLQ	1480	7440
Day 146 p.c. (Dose 19)	BLQ	2020	8110
Additional information: Lower limit of quantitation was 4.7 ng/mL			

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}48.5h}$: area under the concentration curve from 0 to 48.5h; $AUC_{0\text{-}168h}$: area under the curve from 0 to 48.5h; BLQ: below the limit of quantitation; C_{max}: maximum concentration; F_0: maternal females; F1: infants; GLP: Good Laboratory Practices: IV: intravenous infusion; NA: not applicable; p.c.: post coitum

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Control)**	**60**	**180**
F_0 Females	**Milk concentration of sutimlimab (μg/mL)**			
	Day 28 p.p.	BLQ	BLQ	BLQ
	Anti-sutimlimab antibody (+ / total number analyzed)			
	Day 20 p.c. (Dose 1)	0/16	0/16	0/16
	Day 48 p.c. (Dose 5)	1/15 [a]	3/13 [c]	1/14 [g]
	Day 146 p.c. (Dose 19)	3/15 [a]	3/12 [d]	0/14 [h]
	Day 28 p.p.	5/15 [a]	8/10 [e]	5/14 [h]
	Day 42 p.p.	3/15 [a]	7/10 [d]	7/14 [h]
	Day 56 p.p.	5/15 [a]	6/10 [d]	7/14 [h]
	Day 70 p.p.	6/15 [a]	7/9 [f]	10/14 [h]
	Day 91 p.p.	1/14 [b]	6/9 [f]	6/14 [h]
	Serum CP activity (%)			
	Predose	126.3	126.9	128.6
	Day 20 p.c. (Dose 1), 5 min	124.3	10.3	8.3
	Day 20 p.c., 4 hr	133.4	10.7	10.0
	Day 20 p.c., 8 hr	136.8	11.2	14.1
	Day 20 p.c. 24 hr	139.6	11.6	12.9
	Day 20 p.c. 48 hr	144.9	11.2	17.0
Additional information: Lower limit of quantitation of sutimlimab in milk was 6.3 ng/mL				

Abbreviations: BLQ: below the limit of quantitation (<6.3 ng/mL); F_0: maternal females; p.c.: post coitum; p.p.: post-partum

[a] No sample collected for Animal No. P0009. [b] No sample collected for Animal No. P0007 and P0009 [c] No sample collected for Animal No. P0107, P0108, and P0111.

[d] No sample collected for Animal No. P0102, P0107, P0108, and P0111. [e] No sample collected for Animal No. P0104, P0107, P0108, P0109, P0111, P0115.

[f] No sample collected for Animal No. P0104, P0107, P0108, P0109, P0110, P0111, P0115 [g] No sample collected for Animal No. P0208 and P0212.

[h] No sample collected for Animal No. P0207 and P0212.

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Control)**	**60**	**180**
F_0 Females	**Serum CP activity (%)**			
	Day 48 p.c., predose	126.8	53.1	14.3
	Day 48 p.c. (Dose 5), 5 min	113.3	7.2	13.5
	Day 48 p.c., 4 hr	132.3	8.0	16.1
	Day 48 p.c., 8 hr	138.0	8.2	16.1
	Day 48 p.c. 24 hr	130.0	9.0	18.0
	Day 48 p.c. 48 hr	129.9	7.7	15.5
	Day 146 p.c., Predose	114.0	23.9	16.5
	Day 146 p.c. (Dose 19), 5 min	116.1	4.5	9.8
	Day 146 p.c., 4 hr	126.5	6.5	11.3
	Day 146 p.c., 8 hr	131.3	5.7	11.3
	Day 146 p.c. 24 hr	127.0	11.8	9.3
	Day 146 p.c. 48 hr	128.2	14.9	8.8
	Day 28 p.p.	134.1	131.5	121.0
	Day 42 p.p.	128.9	133.6	144.6
	Day 56 p.p.	128.6	119.9	124.8
	Day 70 p.p.	118.8	123.0	137.7
	Day 91 p.p.	111.3	100.3	117.5

Abbreviations: F_0: maternal females; p.c.: post coitum; p.p.: post-partum

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Control)**	**60**	**180**
F_0 Females	**No. Pregnant**	16	16	16
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
	Mean Duration of Gestation (Days ± SD)	165 ± 3.3	162 ± 8.0	162 ± 7.8
	No. Infants delivered by natural birth	15	13	15
	No. Abortions / in utero death (percent)	1/16 (6%)	3/16 (19%)	2/16 (13%)
	No. Stillbirths (percent)	0	2/16 (13%)	0
	No. Total Pregnancy Loss (percent)	0	0	0
	No. with Premature / Preterm birth	0	0	0
	Clinical observations	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-
F_1 Infants	**Serum concentration of sutimlimab (μg/mL)**			
	PND28	BLQ	BLQ	BLQ
	PND56	BLQ	BLQ	BLQ
	PND77	BLQ	BLQ	BLQ
	Anti-sutimlimab antibody (+ / total number analyzed)			
	PND28	6/15	7/9 [c]	11/14
	PND56	11/15	8/9 [d]	10/14
	PND77	8/13 [ab]	4/9 [e]	5/14
	Serum CP activity (%)			
	PND 28	118.2	126.2	121.6
	PND 56	126.7	109.8	101.7
	PND 77	120.8	135.9	135.1

Abbreviations: BLQ: below limit of quantitation (< 4.7 ng/mL); F_0: maternal females; F_1: infants; PND: postnatal day; -: no sutimlimab-related findings

Note: Fetal loss prior to gestation day (GD) 144 were considered abortions and loses after GD144 were considered stillbirths. [a] No sample collected for Infant No. P0007-1. [b] Sample unable to be obtained for Infant No. P0012-1. [c] Sample unable to be obtained for Infant No. P0114-1. [d] Sample unable to be obtained for Infant No. P0102-1. [e] No sample collected for Infant No. P0110-1.

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Control)**	**60**	**180**
F_1 Infants	**No. Neonate Death Post Birth**	1	2	0
	Infant sex ratio (M/F)	6/9	7/6	8/7
	Infants Surviving to Scheduled Necropsy (PND91-93)	14	9	14
	Neurobehavorial assessment (including grasp support, eye reflexes, elicited postural tones (hip abduction, knee flexed, toes flexed, shoulder abducted, elbow flexed, finger flexed, head extended), elicited dorsiflexion (wrist; ankle),moro reflex, build-up, righting reflex, prone progression, clasp/grasp reflex, visual following, sucking, rooting, snout reflex, pupil response, glabellar tap, lipsmack orient)			
	PND1	-	-	-
	PND7	-	-	-
	Mean Body weight (g) (M/F)			
	PND1	361 / 327	341 / 285	322 / 306
	PND7	375 / 347	364 / 305	341 / 327
	PND14	386 / 371	388 / 331	368 / 357
	PND21	405 / 391	408 / 353	397 / 380
	PND28	430 / 414	429 / 380	426 / 409
	PND35	455 / 434	447 / 403	455 / 437
	PND42	485 / 462	468 / 426	485 / 469
	PND49	513 / 487	495 / 451	516 / 497
	PND56	538 / 515	523 / 470	543 / 529
	PND63	567 / 540	547 / 486	575 / 559
	PND70	594 / 570	579 / 519	603 / 589

Abbreviations: F_1: Infants; PND: postnatal day; -: no sutimlimab-related findings

表 2.6.7.14A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal, Development, Including Maternal Function (continued)

Report Title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with BIVV009 in Cynomolgus Monkeys (continued)				
Dose - mg/kg/week (once weekly)		**0 (Control)**	**60**	**180**
F_1 Infants	**Mean Body weight (g) (M/F)**			
	PND77	632 / 604	608 / 551	632 / 622
	PND84	669 / 629	642 / 584	657 / 655
	PND91	704 / 667	669 / 619	692 / 687
	PND92	686 / 635	665 / 565*	797* / 668
	PND93	590 / 750	- / 676	642 / 706
	Mean Body weight change (g) (M/F)			
	Birth to PND91	343 / 337	326 / 345	370 / 381
	Birth to PND92	342 / 329	322 / 303	433* / 366
	Birth to PND93	249 / 348	- / 390	317 / 396
Additional information: F_0 females: No sutimlimab-related changes to the autoimmune parameters (anti-ENA IgG, anti-dsDNA IgG, CIC-C1q) were observed. F_1 infants: There were no sutimlimab-related findings noted for the following parameters: clinical observations, neonatal muscle tone (PND28 grip strength), hematology, serum chemistry, coagulation, autoimmune parameters (anti-ENA IgG, anti-dsDNA IgG) and morphological development parameters (arm length, crown-rump length, crown-heal length, distance between eyes, head circumference, leg length, tail comment, tail length, male and female anogenictal distance, thorax circumference). Test article-related changes in CIC-C1q concentration were inconclusive. No test article-related external abnormalities, visceral abnormalities, skeletal abnormalities, organ weights, macroscopic observations, and microscopic findings were observed.				
Conclusion: No sutimlimab-related adverse effects (maternal, fetal, or infants) when 60 or 180 mg/kg of sutimlimab was administered via weekly intravenous infusion to female cynomolgus monkeys from the start of organogenesis (Day 20 p.c.) through parturition (approximately 21 doses). Under the conditions of this study the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for maternal and developmental toxicity was considered to be 180 mg/kg/week, the highest administered dose.				

Abbreviations: anti-dsDNA: anti-double stranded DNA; anti-ENA: anti-extruded nuclear antigens; CIC-C1q: circulating immune complexes-C1q; F_0: maternal females; F_1: infants; PND: postnatal day * $P \leq 0.05$ versus control.

15　幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験は実施していないが、出生前及び出生後胚胎児及び出生児に対する、母動物へのスチムリマブの週 1 回静脈内持続投与による影響は生殖発生毒性試験－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において評価した（14項）。

16　局所刺激性試験

反復投与毒性試験により評価した（7項）。

17　その他の毒性試験

表 2.6.7.17A - Other Toxicity Studies- Nonpivotal Studies

Test article: Sutimlimab

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Report Title: EpiScreen™ Time Course Assay of Fully Humanized Anti-C1s Antibody							
Human peripheral blood mononuclear cells	In vitro	NA	50 µg/mL	20 donors	Assay evaluating T-cell immunogenicity by quantifying CD4+ T-cell proliferation responses. No positive T-cell proliferation response was observed in response to sutimlimab; this Indicates it has a very low potential for immunogenicity	[TN-[redacted]02]	4.2.3.7.1-1
Report Title: Evaluation of Circulating Immune Complexes, Anti-Nuclear Antibodies, and Anti-Double Stranded DNA Antibodies in Serum Samples from Cynomolgus Monkey Dosed with TNT009							
Monkey/ cynomolgus	IV infusion (1 hour)	5 weeks (once weekly)	30, 60, 100	5 (M) / 5 (F)	Serum samples obtained from TN-[redacted]05. No sutimlimab-related dose- or time-dependent increase in serum CIC, anti-nuclear antibodies (IgG/IgM), and anti-dsDNA antibodies (IgG/IgM) were observed.	[TN-[redacted]01]	4.2.3.7.2-1

Abbreviations: dsDNA: double stranded DNA; CIC: circulating immune complexes; F: female; M: male; NA: not applicable; TNT009: sutimlimab

表 2.6.7.17B - Other Toxicity Studies- Tissue Cross Reactivity Study

Test article: Sutimlimab

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg/mL)	Gender and No. Of Group	NOAEL	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Human tissues	Ex vivo	NA	0.625, 1.25, and 2.5	3 donors per tissue	NA	Majority of tissues demonstrated specific positive staining in blood vessel walls and connective tissue. In blood vessels, staining was observed within the tunica media, tunica adventitia, endothelium and and within the lumen of the vessel. In the connective tissue, staining was observed within the fibrovascular/fibromuscular tissue, adipose tissue, fibrocollagenous stroma and reticular network. Staining was either cell associated (predominantly cytoplasmic) or located to extra-cellular matrices such as collagen.	[TN-[redacted]06]	4.2.3.7.7-1

Abbreviations: NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level