オンボー点滴静注 300mg
オンボー皮下注 100mg オートインジェクター
オンボー皮下注 100mg シリンジ

2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.6　毒性試験の概要文 1
2.6.6.1　まとめ 1
2.6.6.2　単回投与毒性試験 3
2.6.6.3　反復投与毒性試験 3
2.6.6.3.1　サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 3
2.6.6.3.2　サルを用いた週 1 回皮下投与による 6 ヵ月間反復投与毒性試験（1 回目） 4
2.6.6.3.3　サルを用いた週 2 回静脈内投与による 6 ヵ月間反復投与毒性試験（2 回目） 4
2.6.6.4　遺伝毒性試験 6
2.6.6.5　がん原性試験 6
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 6
2.6.6.6.1　サルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験 7
2.6.6.7　局所刺激性試験 8
2.6.6.8　その他の毒性試験 8
2.6.6.8.1　組織交差反応性試験 8
2.6.6.8.2　不純物の評価 8
2.6.6.9　考察及び結論 9
2.6.6.10　図表 10
2.6.6.11　参考文献 10

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

ミリキズマブ（LY3074828）は、インターロイキン-23（interleukin-23：IL-23）の p19 サブユニットに結合するヒト化免疫グロブリン G4（immunoglobulin G4：IgG4）モノクローナル抗体である。ミリキズマブの毒性を評価するため、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：ICH）S6 ガイダンスに従い、正常なヒト及びサルの組織を用いた組織交差反応性試験、サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験、2 つの 6 ヵ月間反復投与毒性試験（2 回目の 6 ヵ月試験はより高用量で実施）並びに拡充型出生前及び出生後の発生に関する（enhanced pre- and postnatal development：ePPND）試験を実施した（表 2.6.6-1）。ミリキズマブはヒト及びサルの IL-23 に結合しその機能を中和するが、げっ歯類の IL-23 には結合せずウサギ IL-23 への結合は弱いため、薬理作用を発現する動物種としてサルを選択した。投与経路は臨床と同じ投与経路である静脈内（intravenous：IV）及び皮下（subcutaneous：SC）とした。すなわち、4 週間試験では IV 及び SC 投与の群を設定し、最初の 6 ヵ月試験では SC 投与、2 回目の 6 ヵ月試験及び ePPND 試験では IV 投与とした。動物種選択、用量設定及び投与間隔の妥当性の詳細は CTD 第 2.4.1 項に記載した。4 週間反復投与毒性試験には、高用量群（100 mg/kg、IV 週 1 回投与）に回復性試験群を設定したが、被験物質関連の所見が認められなかったため、その後の試験には回復性試験群を設定しなかった。反復投与毒性試験において、安全性薬理評価項目（心血管系、呼吸系及び中枢神経系）及び局所刺激性を評価した。最初の 6 ヵ月試験では、性成熟したサルを用いて受胎能への影響を評価した。免疫毒性評価として、サルを用いたすべての試験で末梢血リンパ球イムノフェノタイピングを実施し、さらに 6 ヵ月試験の 2 試験及び ePPND 試験で T 細胞依存性抗体反応（T-cell dependent antibody response：TDAR）及びナチュラルキラー（natural killer：NK）細胞活性の検査も実施した。トキシコキネティクスはすべての試験で、抗薬物抗体（anti-drug antibodies：ADA）の解析は 6 ヵ月試験（2 回目）及び ePPND 試験で評価した。ミリキズマブのがん原性評価は、公表文献、ミリキズマブの作用機序及びミリキズマブの毒性試験結果に基づき実施した。すべての試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）に従い、経済協力開発機構（Organization for Economic Cooperation and Development：OECD）加盟国の試験施設で実施した。

4 週間試験及び 6 ヵ月間試験（1 回目）では、10 mM クエン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム、0.02%ポリソルベート 80 を含む溶媒（pH 6.0）を、6 ヵ月試験（2 回目）及び ePPND 試験では、10 mM クエン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム、0.03%ポリソルベート 80 を含む溶媒（pH 5.5）を用いた。

ミリキズマブの毒性試験の主要な結果を以下に示す。また、各試験で得られた無毒性量（NOAEL）と臨床用量との曝露量比較を CTD 第 2.4.5 項に示す。いずれの試験においても、IL-23 中和に起因すると考えられるミリキズマブ関連の毒性変化は認められなかった。

単回及び反復投与毒性試験

- 4週間試験（最高用量：100 mg/kg IV 週1回）の中で実施した安全性薬理評価（心血管系、中枢神経系及び呼吸系）において、安全性上の懸念は見られなかった。最初の 6 ヵ月試験（最高用量：100 mg/kg SC 週 1 回投与）及び 6 ヵ月試験（2 回目）（最高用量：300 mg/kg IV 週 2 回投与）において心血管系への影響は認められなかった。
- 100 mg/kg SC 週 1 回又は 300 mg/kg IV 週 2 回までの用量で最長 6 ヵ月間投与したところ、ミリキズマブ関連の免疫抑制作用（末梢血リンパ球イムノフェノタイピング、TDAR 又は NK 細胞活性により評価）は認められなかった。
- 4週間試験（最高用量：100 mg/kg IV 週1回）及び最初の6ヵ月試験（最高用量：100 mg/kg SC 週 1 回）において、ミリキズマブ関連の毒性所見は認められなかった。
- 6 ヵ月試験（2 回目）（最高用量：300 mg/kg IV 週 2 回）において、IL-23 の中和に関連すると考えられる一般状態の変化及び毒性所見は認められなかった。投与期間終了時に、300 mg/kg IV 週2回投与群の1例で、溶血性変化を反映すると考えられる一連の血液学的、血清生化学的及び病理組織学的所見が認められ、ミリキズマブ投与による免疫を介した変化と考えられた。
- 実施したいずれの試験においても、IV 及び SC 注射部位にはミリキズマブ関連の毒性変化は認められなかった。

遺伝毒性試験及びがん原性試験

- 遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。
- ミリキズマブの非臨床成績及び IL-23 に関する公表文献に基づき評価した結果、ミリキズマブががん原性を有する可能性は低いことが示唆された。

生殖発生毒性試験

- 受胎能に対するミリキズマブの影響の有無を、性成熟したサルを用いて実施した最初の 6 ヵ月試験（最高用量：100 mg/kg SC 週 1 回）での雌雄生殖器官及び組織の病理組織学的検査により評価した結果、ミリキズマブ関連の影響は認められなかった。
- ePPND 試験（用量：300 mg/kg IV 週 2 回）において、母動物、胚・胎児及び出生児（出生児における免疫系の評価を含む）にミリキズマブ関連の毒性変化は認められなかった。

組織交差反応性試験

- 正常なヒト及びサルの組織の包括的なパネルを用いて実施したミリキズマブの組織交差反応性試験において、特異的な組織染色は認められなかった。

表 2.6.6-1. ミリキズマブの毒性試験一覧

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	文書 ID
単回投与毒性試験			
なし			
反復投与毒性試験			
4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験	皮下及び静脈内	カニクイザル	20029153
6 ヵ月間反復投与毒性試験	皮下	カニクイザル	20043324
6 ヵ月間反復投与毒性試験	静脈内	カニクイザル	20119229
遺伝毒性試験			
なし			
がん原性試験			
なし			
生殖発生毒性試験			
拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験	静脈内	カニクイザル	20102344
局所刺激性試験			
なし			
その他の毒性試験			
組織交差反応性試験	Ex vivo	カニクイザル、ヒト	20029154

2.6.6.2　単回投与毒性試験

報告書 20043324 (4.2.3.2.2)、表 2.6.7.7.B；報告書 20119229 (4.2.3.2.3)、表 2.6.7.7.C

ミリキズマブの急性毒性は、反復投与毒性試験の初回投与後の毒性及び安全性薬理評価から推測した（ICH M3(R2)）。反復投与毒性試験では、SC の場合 100 mg/kg までの用量（最初の 6 ヵ月試験、報告書 20043324）、IV の場合 300 mg/kg までの用量（6 ヵ月試験［2 回目］、報告書 20119229）でミリキズマブを初回投与後に変化は認められなかった。したがって、ミリキズマブの単回投与時の概略の致死量は SC の場合 100 mg/kg 超、IV の場合 300 mg/kg 超と考えられた。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験として、サルを用いて 4 週間試験（CTD 第 2.6.6.3.1 項）及び 2 つの 6 ヵ月間試験（CTD 第 2.6.6.3.2、2.6.6.3.3 項）を実施した。3 試験で使用された投与液中のミリキズマブ濃度は 1～60 mg/mL、投与容量は 1～5 mL/kg であった。

2.6.6.3.1　サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

報告書 20029153 (4.2.3.2.1)、表 2.6.7.7.A

カニクイザル（2.3～3.8 歳）にミリキズマブを 1 及び 30 mg/kg SC 並びに 100 mg/kg IV の用量で週 1 回、4 週間（計 5 回）投与し、毒性及びトキシコキネティクスを評価した。対照群及び 100 mg/kg IV 群のみに 8 週間の休薬期間をおく回復試験群も設定した。標準的な毒性評価に加えて、安全性薬理（心血管系、呼吸系及び中枢神経系を含む）及び免疫毒性（末梢血イムノフェノタイピング）の評価を実施した。ADA 測定は実施しなかった。

トキシコキネティクスの結果は CTD 第 2.6.4.3.2 項に示す。

一般状態観察（摂餌量の定性的評価を含む）、体重、眼科学的検査、安全性薬理、心電図検査、体温、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、血液塗抹標本検査）

及び末梢血リンパ球イムノフェノタイピングでは、いずれの用量においてもミリキズマブの影響は認められなかった。

1 及び 30 mg/kg SC 週 1 回投与により、1 つ以上の注射部位で、皮下組織の血管周囲好酸球及び／又は単核細胞浸潤の発現頻度が用量依存的に増加したが、重症度に用量依存性は見られず、軽微な変化であったため毒性ではないと判断した。関連する一般状態の変化及び肉眼所見は認められなかった。なお、この投与部位所見の回復性を評価する群は設定しなかった。ミリキズマブを IV 投与した際には同様の所見は認められなかった。

100 mg/kg IV 週 1 回投与群で被験物質関連の変化が認められなかったため、回復性試験群に割り付けた動物は引き続き飼育し、一般状態観察、摂餌量、体重、眼科学的検査、安全性薬理評価（呼吸系、神経学的検査及び体温）及びトキシコキネティクス評価のみを実施した。

以上、本試験において毒性所見は認められなかったことから、各投与経路での NOAEL は、いずれも検討した最高用量、すなわち SC で 30 mg/kg 週 1 回投与、IV で 100 mg/kg 週 1 回投与であった。

2.6.6.3.2　サルを用いた週 1 回皮下投与による 6 ヵ月間反復投与毒性試験（1 回目）

報告書 20043324 (4.2.3.2.2)、表 2.6.7.7.B

性成熟したカニクイザル（雄：6.7～8.3 歳、雌：4.8～7.5 歳）にミリキズマブを 10 又は 100 mg/kg の用量で週 1 回、6 ヵ月間 SC 投与し、毒性及びトキシコキネティクスを評価した。標準的な毒性評価、心電図検査、免疫毒性（末梢血リンパ球イムノフェノタイピング、TDAR 及び NK 細胞活性）の評価に加えて、受胎能への影響の評価を生殖組織の病理組織学的検査により実施した。ADA 測定は実施しなかった。

トキシコキネティクスの結果は CTD 第 2.6.4.3.3 項に示す。

ミリキズマブのいずれの用量においても、一般状態（摂餌量の定性的評価を含む）、体重、体重増加量、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、血液塗抹標本検査）、免疫毒性評価、器官重量及び剖検時の肉眼所見に変化は認められなかった。

投与終了時の病理組織学的検査において、10 及び 100 mg/kg SC 週 1 回投与群で、1 箇所以上の注射部位の皮下組織に血管周囲好酸球及び単核細胞浸潤が認められ、発現頻度及び重症度が用量依存的に増加したが、軽微から軽度の変化であり毒性ではないと判断した。

以上、本試験において毒性変化は認められなかったことに基づき、NOAEL は検討した最高用量の 100 mg/kg SC 週 1 回であった。

2.6.6.3.3　サルを用いた週 2 回静脈内投与による 6 ヵ月間反復投与毒性試験（2 回目）

報告書 20119229 (4.2.3.2.3)、表 2.6.7.7.C

カニクイザル（2.3～2.5 歳）にミリキズマブを 100 又は 300 mg/kg の用量で週 2 回（200 又は 600 mg/kg/週）、6 ヵ月間 IV 投与し、毒性及びトキシコキネティクスを評価した。標準的な毒性評価項目並びに心電図検査に加えて、免疫毒性（末梢血リンパ球イムノフェノタイピング、TDAR 及び NK 細胞活性の評価）の評価を実施した。先に実施した反復投与毒性試験では一部の動物において曝露量減少が生じ、免疫原性が推測されたことから、ADA 抗体価測定も実施した。

高用量の 300 mg/kg IV（週 2 回）は、予定最高臨床用量の 2400 mg に対して 10 倍以上の曝露量比が得られるよう設定した。低用量の 100 mg/kg（週 2 回）は、臨床用量の 1000 mg IV に対して約 10 倍の曝露量比が得られるよう設定した。

トキシコキネティクス及び ADA 測定の結果は CTD 第 2.6.4.3.4 項に示す。

一般状態（摂餌量の定性的評価を含む）、体重、体重増加量、眼科学的検査、心電図検査、血液凝固検査及び尿検査のパラメータ及び免疫毒性評価には、ミリキズマブ関連の変化は認められなかった。

100 mg/kg/回の用量で血液学的及び血液生化学的パラメータにミリキズマブ関連の変化は認められなかった。非毒性的なミリキズマブ関連の臨床検査値の変化として、軽微なグルコース増加（雄のみ）及び軽微なコレステロール増加が、300 mg/kg IV 週 2 回投与群で 22 及び／又は 85 日目に認められたが、投与期間終了時（180 日目）までに値はほぼ投与前値まで回復した。

ミリキズマブ投与によると考えられる血液学的変化が 300 mg/kg IV 週 2 回投与群の雌 1 例（No. 3504）で 180 日目に認められた。その変化は、軽度から中等度の赤血球量指標（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）減少とそれに伴う網状赤血球数の増加、並びに血液塗抹標本検査の変化（軽度の赤血球凝集及び赤血球産生亢進に伴う軽微から軽度の形態学的変化［赤血球大小不同、小赤血球、及び多染性赤血球］）であった。さらに、軽度のビリルビン増加も認められた。いずれも免疫性溶血に一致する変化であり、関連する病理組織学所見として、骨髄の軽微な赤血球系細胞数増加、鼠径リンパ節の髄外造血、脾臓の赤血球貪食／ヘモジデリン沈着及び肝臓のクッパー細胞におけるヘモジデリン色素が認められ、脾臓重量も増加した。これらの血液学的検査における変化は 85 日目までの検査では認められず屠殺時に採取した検体で認められたため、更なる原因の検討はできなかった。発現頻度が低かったこと、投与期間の後期（180 日目）にのみ発現したこと及び全体的な変化のパターンが免疫性溶血に一致していたことから、この変化は、免疫を介した変化である可能性があり、ミリキズマブの薬理作用（IL-23 中和作用）とは関連しないと考えられた。同様の変化は、複数のバイオ医薬品においても認められ、低頻度で非用量反応性の免疫を介した変化とされている（Everds and Tarrant 2013）。この個体では ADA 陰性であったが、ミリキズマブの血清中濃度が ADA 測定を干渉する濃度を超えていた可能性がある。300 mg/kg IV 週 2 回投与群の雌 1 例で認められた一連の変化はミリキズマブ投与により生じた変化であり、当該動物に対して有害と考えられた。一般に、免疫を介した低頻度の変化や特異体質性の変化はヒトで同様の変化が生じることを予測するものではないとされており（Everds and Tarrant 2013）、このサルで見られた所見はヒトへの関連性がないと判断した。

この他、100 mg/kg IV 週 2 回投与群の雌 1 例（No.2503）で、単核細胞血管／血管周囲炎症が、多数の組織に認められたが、いずれも軽微から軽度であったことから毒性ではないと判断した。これらの変化の形態及び分布はカニクイザルに散見される偶発的な多発性動脈炎に一致していたが、この動物では高い ADA 抗体価も認められたことから、ADA による二次的な免疫複合体沈着も病因となった可能性がある（免疫複合体沈着の有無を評価する検査は実施せず）。

以上、本試験においてミリキズマブの IL-23 中和作用に関連すると考えられる毒性変化は認められなかった。300 mg/kg IV 週 2 回投与群の 1 例でミリキズマブ投与により溶血性変化を示す血液学的、血液生化学的及び病理組織学的変化が認められた。これらは免疫反応を介した変化であ

る可能性が高く、ミリキズマブの薬理作用に基づく直接的な影響を示すものではないと考えるものの、この動物における毒性変化と判断し、NOAEL は 100 mg/kg IV 週 2 回であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ミリキズマブはモノクローナル抗体であるため、遺伝毒性試験は実施しなかった。なお、通常の遺伝毒性試験で大量のペプチド／タンパク質を投与すると、解釈不能の結果が生じる可能性がある（ICH S6(R1)）。

2.6.6.5 がん原性試験

ミリキズマブはマウス及びラットの IL-23 に結合しないため、げっ歯類を用いるミリキズマブのがん原性試験は実施しなかった。ミリキズマブのがん原性評価は、ICH S1A 及び S6(R1) ガイダンスに従い、腫瘍形成における IL-23 の関与に関する公表文献、ミリキズマブの薬効薬理試験成績、サルを用いたミリキズマブの毒性試験結果及び IL-23 標的療法に関する臨床データに基づき実施した（Mirikizumab Carcinogenicity Assessment、4.2.3.4.3.1 項）。その結果、ミリキズマブががん原性を有する可能性は低いことが示唆された。以下に要約を示す。

- 多くの公表文献において、IL-23 は腫瘍増殖及び進行を促進する方向に作用することが示唆されており、IL-23 を中和することによるがんのリスク増加はないと予想される (Chen et al. 2015, Langowski et al. 2006, Teng et al. 2010, Teng et al. 2012)。
- ミリキズマブは IL-23 に高い親和性を示す特異的なモノクローナル抗体であり、
  - in vitro において他のサイトカインへの結合のエビデンスは認めらなかった（CTD 第 2.6.2.2.1 項）。
  - 組織交差反応性試験において細胞表面標的への結合のエビデンスは認めらなかった（CTD 第 2.6.6.8.1 項）。
  - サルを用いた毒性試験においてミリキズマブのオフターゲット作用を示唆する変化は認められなかった。
- サルを用いたミリキズマブの反復投与毒性試験において、細胞増殖亢進（過形成又は前腫瘍性病変）を示す変化は認められなかった。
- サルを用いたミリキズマブの反復投与毒性試験において、腫瘍免疫監視に関与する細胞／器官（循環血中リンパ球、NK 細胞機能、一次免疫応答、リンパ組織・器官の病理組織像）への影響は認められなかった。

以上より、ミリキズマブのヒトに対するがんのリスクは低いと考えられる。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として、サルを用いた ePPND 試験を実施した（CTD 第 2.6.6.6.1 項）。

受胎能に対するミリキズマブの影響は、性成熟したサルを用いて実施した 6 ヵ月間反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3.2 項）における雌雄生殖器官及び組織の病理組織学的検査に基づいて評価した。いずれの用量においても、雌雄生殖器官／組織には、肉眼的及び病理組織学的変化並びに重量変化は認められなかった。

2.6.6.6.1　サルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験

報告書 20102344 (4.2.3.5.3.1)、表 2.6.7.14

妊娠カニクイザル（15 例/群）にミリキズマブを 300 mg/kg/回の用量で週 2 回（600 mg/kg/週）、妊娠 21 ± 1 日から分娩まで IV 投与した後、出生児の評価を生後 6 ヵ月まで実施し、出生前及び出生後の発生に対する影響の有無を評価した。母動物について、毒性、トキシコキネティクス、免疫毒性（末梢血イムノフェノタイピング）及び免疫原性を評価した。出生児について、発生・発達に関する項目、トキシコキネティクス、免疫毒性（末梢血イムノフェノタイピング、TDAR、NK 細胞活性）及び免疫原性を評価した。投与容量は 5 mL/kg とした。

トキシコキネティクス及び ADA 測定の結果は CTD 第 2.6.4.3.5 項に示す。

妊娠中及び分娩後期間中の母動物では、一般状態、摂餌量、体重、血液学的検査及び血液凝固検査において、ミリキズマブ関連の変化は認められなかった。妊娠 140 日にコレステロール値が対照群と比較し増加したが、軽微な変化であったことから毒性ではないと判断した。

妊娠期間中、超音波検査による胎児心拍数に変化は認められなかった。対照群及びミリキズマブ投与群における胚・胎児死亡の発現頻度は、対照群で 6.7%（1/15 例）、300 mg/kg IV 週 2 回投与群で 26.7%（4/15 例：うち 1 例は第 2 三半期、3 例［1 例の死産を含む］は第 3 三半期の死亡）であった。 両群とも試験施設の背景データの範囲内であったことから（349 例の妊娠動物で 76 例の胚・胎児死亡［21.8%］、6.7%～38.9%の範囲）、胚・胎児死亡にミリキズマブの影響はないと判断した。

妊娠期間の平均値及び雌雄の胎児／出生児の総数は、対照群と 300 mg/kg IV 週 2 回投与群で同程度であった。対照群及び 300 mg/kg IV 週 2 回投与群で、それぞれ合計 12 及び 11 例の出生児が自然分娩により出産された。また、対照群の 2 例の出生児は、母動物がそれぞれ妊娠 172 日又は妊娠 174 日までに児を出産しなかったため、帝王切開により得られた。出生児の評価は、自然分娩及び帝王切開で得られた児の合計（対照群及びミリキズマブ投与群でそれぞれ 14 及び 11 例）について実施した。

出生児の生存に対するミリキズマブ関連の影響は認められなかった。なお、出生児 25 例のうち 2 例（対照群と 300 mg/kg IV 週 2 回投与群で各 1 例）が、生後 7 日以内に死亡又は安楽殺に至った。いずれも母動物の育児放棄によるものであり、発現頻度は試験施設で認められた背景データの範囲内であることから、300 mg/kg IV 週 2 回投与群の出生児死亡は投与関連ではないと考えられた。胎児死亡と出生児死亡の合算の頻度は、対照群では 13%であったのに対し、300 mg/kg IV 週 2 回投与群では 33%であったが、これは試験施設での背景データの範囲内（20.0%～42.9%内）、かつ、公表文献(Jarvis et al 2010)に基づいて予想される範囲内であった。

生存児（0 及び 300 mg/kg IV 週 2 回投与群でそれぞれ 13 及び 10 例）では、一般状態、体重、神経行動検査、神経学的検査、外表検査、形態測定、眼科学的検査、呼吸数及び心拍数において、ミリキズマブ関連の変化は認められなかった。生後 183 ± 1 日までの出生児の血液学的パラメータには、ミリキズマブ関連の変化は認められなかった。

母動物及び出生児の末梢血リンパ球イムノフェノタイピング並びに出生児における NK 細胞活性及び TDAR には変化は認められなかった。

死亡胎児、死亡又は途中安楽殺された出生児及び生後 183 ± 1 日の計画最終剖検時まで生存した出生児において、胎児及び出生児の剖検、病理組織学的検査、形態測定、催奇形性検査（外表、

内臓、心臓及び骨格［出生児のみ］）並びに胎盤（評価可能な場合）において、ミリキズマブ関連の変化は認められなかった。

以上、本試験において母動物、胎児及び出生児にミリキズマブ関連の毒性変化は認められず、NOAEL は、母動物毒性、出生前及び出生後の発生のいずれについても 300 mg/kg IV 週 2 回であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ミリキズマブの SC 及び IV 注射部位における局所刺激性は反復投与毒性試験において評価した（第 2.6.6.3.1 項）。SC 注射は、4 箇所の部位をローテーションで用い、一般状態観察にて SC 注射部位の観察を実施した。病理組織学的検査は、SC 注射部位については 4 箇所すべてを、IV 注射部位については最後に用いた注射部位を採取し実施した。

SC 注射部位に一般状態変化は認められなかった。

4 週間試験の 1 及び 10 mg/kg（SC 週 1 回）群において、1 箇所以上の注射部位で皮下組織の血管周囲好酸球及び／又は単核細胞浸潤の発現頻度が用量依存的に増加したが、重症度に用量依存性は見られず、軽微な変化であり毒性ではないと判断した。6 ヵ月試験（1 回目）の 10 及び 100 mg/kg（SC 週 1 回）群で、1 箇所以上の注射部位の皮下組織に血管周囲好酸球及び単核細胞浸潤が、用量依存的な発現頻度及び重症度で認められたが、軽微から軽度の変化であり毒性ではないと判断した。なお、これらの投与部位変化の回復性は評価しなかった。

IV 注射部位には病理組織学的所見は認められなかった。

以上、ミリキズマブを反復投与時の局所忍容性は良好であった。

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

報告書 20029154 (4.2.3.7.7.1)、表 2.6.7.17

ヒト及びカニクイザルの正常組織パネルを用いて、ミリキズマブの交差反応性を検討した。

ミリキズマブを、5 及び 25 μg/mL の濃度で、両種の 38 種類の組織の凍結切片に処理した。ビオチン標識マウス抗ヒト IgG4 二次抗体を用いて免疫組織化学的に検出し、ストレプトアビジン・ホースラディッシュペルオキシダーゼ複合体及びジアミノベンゼンクロモゲン基質を用いて可視化した。適切な対照をおくことにより、組織切片の信頼性及びミリキズマブによる染色の特異性を確認した。

ヒト及びカニクイザルの組織において特異的なミリキズマブ染色は認められず、IL-23 が可溶性の標的であると一致する結果であった。

2.6.6.8.2 不純物の評価

ミリキズマブ不純物の毒性は、ミリキズマブの毒性試験の中で評価した。毒性試験で使用した原薬の各ロットの不純物プロファイルを概要表 2.6.7.4 に要約する。

不純物に関し、毒性試験のうち投与期間が長くかつ用量及び曝露量が高かった 6 ヵ月試験（2 回目）の NOAEL での曝露量と、規格値（ 表 2.6.6-2）及び臨床投与（300 mg IV Q4W）での曝露

量を比較した結果、適切な安全域が得られていることから（ 表 2.6.6-2）、設定した規格値は妥当と考える。

表 2.6.6-2. 製剤の規格値における不純物の安全域

	LY3074828（ミリキズマブ）		[redacted] SEC	[redacted]の規格値 SEC	[redacted] CE-SDS	[redacted] CE-SDS
	規格値		NMT [redacted]%	NLT [redacted]%	NMT [redacted]%	NLT [redacted]%
	用量	$C_{av,ss}$（µg/mL）	MOS[a]	MOS[a]	MOS[a]	MOS[a]
サル 6 ヵ月試験（20119229 試験）[b]						
NOAEL	100 mg/kg IV	573[c]	–	–	–	–
ヒト						
用量	300 mg IV	19.2[d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

略号：$C_{av,ss}$ = 定常状態における平均血漿中濃度、CE-SDS = キャピラリーSDS ゲル電気泳動、IV = 静脈内、MOS = 安全域、NLT = 以上、NMT = 以下、NOAEL = 無毒性量、SEC = サイズ排除クロマトグラフィー

a [redacted]における不純物濃度について動物で算出された $C_{av,ss}$ ÷申請規格値でヒトに投与時の推定 $C_{av,ss}$。

b サル 6 ヵ月間反復投与毒性試験（20119229）で用いたミリキズマブ（ロット[redacted]）の特性：
- SEC：[redacted]%[redacted]%
- [redacted] CE-SDS：[redacted]%[redacted]
- [redacted] CE-SDS：[redacted]%

c サルにおける 176 日目の雌雄平均 $AUC_{0\text{-}96hr}$ を 96 時間で除した値。

d ヒトにおいて寛解導入期に 300 mg を IV 投与したときの $AUC_{0\text{-}28d}$ を 28 日間で除した値。

2.6.6.9　考察及び結論

ミリキズマブの毒性を、薬理学的に適切な唯一の動物種であるサルを用いた最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び ePPND 試験において評価した。標準的な毒性評価項目に加えて、安全性薬理、免疫毒性、局所刺激性、受胎能、胚・胎児並びに出生前及び出生後の変化を評価した。正常なサル及びヒト組織を用いた組織交差反応性試験も実施した。結果の要約は CTD 第 2.6.6.1 項に示した。すべての試験は GLP の基準に従って実施した。

トキシコキネティクス解析では、ePPND 試験における出生児（子宮内での曝露によると推定）を含むほとんどの動物で、ミリキズマブの持続的な曝露が確認された。ミリキズマブの反復投与により一部の動物で曝露量の減少が認められ、ADA に起因する可能性が考えられたものの、その影響は限定的であり、特に 6 ヵ月試験（2 回目）では標的を十分中和する高い曝露量で実施されていることから、ミリキズマブの毒性は適切に評価されたものと考える（CTD 第 2.4.1.2.3 項）。

ミリキズマブについて実施した毒性試験において、ミリキズマブの薬理作用である IL-23 の中和作用に関連した標的器官毒性並びに生殖及び発生に関するハザードは特定されなかった。6 ヵ月試験（2 回目）において 300 mg/kg IV を週 2 回投与した 1 例で毒性と考えられる溶血性変化が認められたが、ミリキズマブ投与による免疫を介した変化と考えられ、ヒトでのリスクを予測するものではないと考えられる（CTD 第 2.4.1.2.3 項）。

一連の毒性試験で得られた NOAEL での曝露量と臨床曝露量とを比較した結果（CTD 第 2.4.5 項）、適切な安全域が得られていることから、ミリキズマブの臨床での使用は可能と考える。

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Chen D, Li W, Liu S, Su Y, Han G, Xu C, Liu H, Zheng T, Zhou Y, Mao C. Interleukin-23 promotes the epithelial-mesenchymal transition of oesophageal carcinoma cells via the Wnt/beta-catenin pathway. *Sci Rep.* 2015; 5:8604.

Everds NE, Tarrant JM. Unexpected hematologic effects of biotherapeutics in nonclinical species and in humans. *Toxicol Pathol.* 2013 Feb; 41(2):280-302.

Jarvis P, Srivastav S, Vogelwedde E, Stewart J, Mitchard T, Weinbauer GF. The cynomolgus monkey as a model for developmental toxicity studies: variability of pregnancy losses, statistical power estimates, and group size considerations. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2010 Jun;89(3):175-187.

Langowski JL, Zhang X, Wu L, Mattson JD, Chen T, Smith K, Basham B, McClanahan T, Kastelein RA, Oft M. IL-23 promotes tumour incidence and growth. *Nature*. 2006; 442:461-465.

Teng MW, Andrews DM, McLaughlin N, von Scheidt B, Ngiow SF, Moller A, Hill GR, Iwakura Y, Oft M, Smyth MJ. IL-23 suppresses innate immune response independently of IL-17A during carcinogenesis and metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107:8328-8333.

Teng MW, Vesely MD, Duret H, McLaughlin N, Towne JE, Schreiber RD, Smyth MJ. Opposing roles for IL-23 and IL-12 in maintaining occult cancer in an equilibrium state. *Cancer Res*. 2012; 72:3987-3996.

オンボー点滴静注 300mg
オンボー皮下注 100mg オートインジェクター
オンボー皮下注 100mg シリンジ

2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 1
2.6.7.1 Toxicology: Overview 1
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 3
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 4
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance (Pivotal Studies) 5
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity 6
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies 6
2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity 7
2.6.7.7.A 4-Week Study in Monkeys with an 8-Week Recovery 7
2.6.7.7.B 6-Month Study in Monkeys Dosed Once Weekly 10
2.6.7.7.C 6-Month Study in Monkeys Dosed Twice Weekly 13
2.6.7.8 Genotoxicity: In Vitro 18
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo 18
2.6.7.10 Carcinogenicity 18
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies 18
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development 18
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development 18
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development 19
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals 24
2.6.7.16 Local Tolerance 24
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 24

2.6.7. Toxicology Tabulated Summary

Note: Mirikizumab is also known as LY3074828.

2.6.7.1. Toxicology: Overview

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Single-Dose Toxicity								
Not applicable.								
Repeat-Dose Toxicity								
	Monkey, Cynomolgus	IV, SC	4 Weeks	0, 1, 30 mg/kg SC, 100 mg/kg IV, once weekly	Yes	[redacted] USA	20029153	4.2.3.2.1
	Monkey, Cynomolgus	SC	6 Months	0, 10, 100 mg/kg, once weekly	Yes	[redacted] USA	20043324	4.2.3.2.2
	Monkey, Cynomolgus	IV	6 Months	0, 100, 300 mg/kg, twice weekly	Yes	[redacted] USA	20119229	4.2.3.2.3
Genotoxicity, In Vitro								
Not applicable.								
Genotoxicity, In Vivo								
Not applicable.								
Carcinogenicity								
Not applicable.								

(continued)

2.6.7.1. Toxicology: Overview (Concluded)

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity								
Pre- and Postnatal Development	Monkey, Cynomolgus	IV	GD 21 ± 1 through GD 160 ± 10 for a total of approximately 42 doses/animal	0, 300 mg/kg, twice weekly	Yes	[redacted] USA	20102344	4.2.3.5.3.1
Local Tolerance								
Not applicable.								
Dependence								
Not applicable.								
Other Toxicity Studies								
Tissue Cross-Reactivity	Human and monkey, cynomolgus	Ex vivo	NA	0, 5, 25 µg/mL	Yes	[redacted] USA	20029154	4.2.3.7.7.1

Abbreviations: GD = gestation day; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

2.6.7.2. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species	Route	Doses (mg/kg)	GLP	Document ID	Location in CTD
Repeat dose, 4 week	Monkey, cynomolgus	SC, IV	1, 30, 100	Yes	20029153	4.2.3.2.1
Repeat dose, 6 month	Monkey, cynomolgus	SC	10, 100	Yes	20043324	4.2.3.2.2
Repeat dose, 6 month	Monkey, cynomolgus	IV	100, 300	Yes	20119229	4.2.3.2.3
Pre- and post-natal development	Monkey, cynomolgus	IV	300	Yes	20102344	4.2.3.5.3.1

Abbreviations: IV = intravenous; SC = subcutaneous.

2.6.7.3. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

Dose (mg/kg)	Route	Frequency of Dosing	Steady State C_{max} (μg/mL) and AUC (μg•hr/mL)			
			Monkey			
			C_{max}		AUC	
			M	F	M	F
1	SC	Weekly	3.46[a]	2.07[a]	318[a]	106[a]
10	SC	Weekly	23.2[b]	43.8[b]	1580[b]	2990[b]
30	SC	Weekly	126[a]	126[a]	8620[a]	7490[a]
100	IV	Weekly	2400[a]	2370[a]	58100[a]	44000[a]
100	SC	Weekly	417[b]	287[b]	25000[b]	17900[b]
100	IV	Twice weekly	2400[c]	2110[c]	60600[c]	49400[c]
300	IV	Twice weekly	7580[c]	8510[c]	198000[c]	175000[c]
300	IV	Twice weekly	NA	7720[d]	NA	127000[d]

Abbreviations: AUC = area under the concentration-time curve; C_0 = theoretical concentration at time zero; C_{max} = maximal observed concentration; F = female; M = male.

[a] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 29 (20029153).

[b] C_{max} and $AUC_{0\text{-}168hr}$ at Day 176 (20043324).

[c] C_{max} and $AUC_{0\text{-}96hr}$ at Day 176 (20119229).

[d] C_0 and $AUC_{0\text{-}96hr}$ at Gestation Day 70 (20102344).

2.6.7.4. Toxicology: Drug Substance (Pivotal Studies)

		Specified Impurity or Purity					
Lot Number	Purity (SEC)	[redacted] (SEC)	Total Purity ([redacted] CE-SDS)	([redacted] CE-SDS)		Document ID	Type of Study
Specification[a]:	NLT [redacted]%	NMT [redacted]%	NLT [redacted]%	NMT [redacted]%		-	-
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%		20029153	Repeat-dose, 4-week monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%		20043324	Repeat-dose, 6-month monkey
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%		20119229 and 20102344	Repeat-dose, 6-month monkey, and enhanced pre- and postnatal development, monkey

Abbreviations: CE-SDS = capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate; NA = not applicable; NDS = new drug substance; NLT = not less than; NMT = not more than; SEC = size exclusion chromatography

[a] Specifications are provided for drug product.

2.6.7.5. Single-Dose Toxicity

Not applicable.

2.6.7.6. Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies

Not applicable.

2.6.7.7. Repeat-Dose Toxicity

2.6.7.7A. 4-Week Study in Monkeys with an 8-Week Recovery

Report title: A Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys Given LY3074828 by Intravenous or Subcutaneous Injection Once Weekly for 4 Weeks with an 8-week Recovery

Species/strain: Monkey/Cynomolgus
Duration of dosing: 4 weeks
Document ID: 20029153
Location in CTD: 4.2.3.2.1

Initial age: 2.3 to 3.8 years
Duration of reversibility: 8 weeks
GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]20[redacted]
Method of Administration: IV or SC, Once Weekly
Test Article: Mirikizumab

NOAEL: 100 mg/kg
Vehicle: 10 mM sodium citrate, 150 mM sodium chloride, and 0.02% polysorbate 80, pH 6.0

Special features: Safety pharmacology (qualitative and quantitative electrocardiograms, respiratory assessments, neurological examinations, body temperature), immunophenotyping of lymphocyte populations

Mean Toxicokinetics ± SD

Sample: Serum　Analyte: Mirikizumab　Number of animals: 3 (SC) or 5 (IV)/sex/group/time point
Feeding condition: Fed　Dose frequency: Weekly　Assay/Method: ELISA/178962

Weekly Dose (mg/kg)	1 (SC)		30 (SC)		100 (IV)	
Sex	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (μg/mL)	3.43 ± 1.09	3.90 ± 0.818	147 ± 34.7	135 ± 24.4	2540 ± 191	2320 ± 204
C_0 (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	2680 ± 235	2420 ± 279
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (μg•hr/mL)	260 ± 104	259 ± 29.3	10100 ± 2930	8540 ± 3650	59400 ± 5500	46500 ± 9650
T_{max} (hr)	13.3 ± 9.24	13.3 ± 9.24	26.7 ± 20.1	13.3 ± 9.24	1.09 ± 0.0794	1.65 ± 1.31
$t_{1/2}$ (hr)	40.1 ± 7.78	39.6 ± 15.5	38.1 ± 7.69	41.7 ± 12.7	42.5 ± 6.79	41.4 ± 6.23
Bioavailability (%)	43.8	55.7	56.7	61.2	NA	NA
Day 29						
C_{max} (μg/mL)	3.46 ± 1.13	2.07 ± NC	126 ± 43.5	126 ± 48.3	2400 ± 186	2370 ± 325
C_0 (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	2530 ± 205	2500 ± 364
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (μg•hr/mL)	318 ± 142	106 ± NC	8620 ± 994	7490 ± 2920	58100 ± 10700	44000 ± 7380
T_{max} (hr)	24.0 ± 0.00	24.0 ± NC	13.3 ± 9.24	21.3 ± 23.1	1.09 ± 0.0803	1.08 ± 0.0758
$t_{1/2}$ (hr)	47.6 ± 1.73	NC	27.9 ± 21.9	24.9 ± 21.1	47.8 ± 8.45	57.1 ± 34.8
Bioavailability (%)	54.7	24.1	49.5	56.7	NA	NA

(continued)

2.6.7.7A. 4-Week Study in Monkeys with an 8-Week Recovery (Continued)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		1 (SC)		30 (SC)		100 (IV)	
Sex: Number of Animals								
Main Study	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations[a]	–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (qualitative)	–	–	–	–	–	–	–	–
Body weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–
Safety Pharmacology:								
Electrocardiography (qualitative and quantitative)	–	–	–	–	–	–	–	–
Respiratory Rate	–	–	–	–	–	–	–	–
Neurological Examinations	–	–	–	–	–	–	–	–
Body Temperature	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical chemistry	–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–
Immunophenotyping	–	–	–	–	–	–	–	–
Terminal Euthanasia, Day 36								
Gross Pathology	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weights	–	–	–	–	–	–	–	–

(continued)

2.6.7.7A. 4-Week Study in Monkeys with an 8-Week Recovery (Concluded)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		1 (SC)		30 (SC)		100 (IV)	
Sex: Number of Animals								
Main Study	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Histopathology[b]								
Subcutaneous Administration Site 1								
Infiltrate, Mononuclear cell, Perivascular								
Minimal	0	0	0	3	2	1	NA	NA
Subcutaneous Administration Site 2								
Infiltrate, Mononuclear cell, Perivascular								
Minimal	0	0	1	1	2	0	NA	NA
Subcutaneous Administration Site 3								
Infiltrate, Mononuclear cell, Perivascular								
Minimal	0	0	0	2	2	2	NA	NA
Subcutaneous Administration Site 4								
Infiltrate, Mononuclear cell, Perivascular								
Minimal	0	0	0	1	2	1	NA	NA
Postdose Evaluation (Recovery)	– [c]	– [c]	NA	NA	NA	NA	– [c]	– [c]

Abbreviations: – = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}168hr}$ = the area under the concentration versus time curve from the start of dose administration to 168 hours postdose; C_0 = theoretical concentration at time zero; C_{max} = maximum observed concentration; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; F = female; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NOAEL = no-observed-adverse effect level; NR = not reported; SC = subcutaneous; $t_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to C_{max}.

[a] Observations included once daily cageside and weekly detailed evaluations. Postdose observations were performed continuously for at least 15 minutes after each dose.

[b] Number of animals with finding is shown.

[c] Due to the lack of test article-related findings during the dosing phase, animals were maintained after the dosing phase to track exposure parameters (toxicokinetics) and only minimal in vivo evaluations were conducted which included clinical observations and evaluation of food consumption, body weights, ophthalmology, and safety pharmacology. Recovery phase assessments of electrocardiology, clinical pathology, immunophenotyping, and histology were not performed.

2.6.7.7B. 6-Month Study in Monkeys Dosed Once Weekly

Report Title: A Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys Given LY3074828 by Once Weekly Subcutaneous Injection for 6 Months

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: 6 Months	Study No. 20043324	Location in CTD: 4.2.3.2.2
Initial Age: 6.7 to 8.3 years (males)/ 4.8 to 7.5 years (females)	Duration of Postdose: None	GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted] NOAEL: 100 mg/kg	Method of Administration: SC, Once Weekly Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, 150 mM sodium chloride, and 0.02% polysorbate 80 at pH 6.0	Test Article: Mirikizumab	

Special Features: Sexually mature males and females were assigned to study. Prestudy evaluations of semen analysis (concentration and motility), testosterone analysis, testicular measurements, and menstrual cycles were conducted for study assignment. Reproductive tissues were evaluated at the end of dosing phase. Cardiovascular telemetry evaluation (qualitative and quantitative), immunophenotyping of lymphocyte populations and natural-killer cells, natural killer cell activity, T-cell-dependent antibody response (TDAR) to keyhole limpet hemocyanin (KLH) challenge (anti-KLH IgM and IgG analysis)

Mean Toxicokinetics ± SD

Sample: Serum	Analyte: Mirikizumab		Number of animals: 4/sex/group/time point	
Feeding condition: Fed	Dose frequency: Weekly		Assay/Method: ELISA/178962	
Weekly Dose (mg/kg)	10		100	
Sex	M	F	M	F
Day 1				
C_{max} (µg/mL)	35.7 ± 11.8	38.5 ± 8.53	329 ± 96.3	288 ± 103
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	2420 ± 733	2310 ± 632	21900 ± 1300	16300 ± 6590
T_{max} (hr)	16.0 ± 9.24	16.0 ± 9.24	24.0 ± 0.00	20.0 ± 8.00
$t_{1/2}$ (hr)	34.6 ± 7.00	30.8 ± 7.19	45.3 ± 12.1	32.6 ± 5.27
Day 176				
C_{max} (µg/mL)	23.2[a] ± NC	43.8 ± 9.78	417 ± 252	287[b] ± 216
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg•hr/mL)	1580[a] ± NC	2990 ± 744	25000 ± 11500	17900[b] ± 15200
T_{max} (hr)	24.0[a] ± NC	16.0 ± 9.24	36.0 ± 24.0	24.0[b] ± 0.00
$t_{1/2}$ (hr)	30.6[a] ± NC	32.7 ± 4.22	31.5 ± 10.6	31.6[b] ± NC

(continued)

2.6.7.7B. 6-Month Study in Monkeys (Continued)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100	
Sex: Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[c]	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (qualitative)	–	–	–	–	–	–
Body Weight	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography (qualitative and quantitative)	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–
Coagulation	–	–	–	–	–	–
Clinical Chemistry	–	–	–	–	–	–
Urinalysis	–	–	–	–	–	–
Immunophenotyping	–	–	–	–	–	–
Natural Killer Cell Activity	–	–	–	–	–	–
T-cell Dependent Antibody Response (TDAR) to KLH	–	–	–	–	–	–
Terminal Necropsy, Day 183:						
Gross Pathology	–	–	–	–	–	–
Organ Weights	–	–	–	–	–	–

(continued)

2.6.7.7B. 6-Month Study in Monkeys (Concluded)

Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100	
Sex: Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Histopathology[d]						
Subcutaneous Administration Site 1						
Infiltration, mixed cell, focal						
Minimal	1	1	2	2	4	4
Subcutaneous Administration Site 2						
Infiltration, mixed cell, focal						
Minimal	1	1	3	1	3	2
Mild	0	0	0	0	0	2
Subcutaneous Administration Site 3						
Infiltration, mixed cell, focal						
Minimal	0	0	3	1	3	2
Mild	0	0	0	0	0	2
Subcutaneous Administration Site 4						
Infiltration, mixed cell, focal						
Minimal	1	1	2	1	4	3
Mild	0	0	0	0	0	1

Abbreviations: – = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}168hr}$ = area under the concentration versus time curve from the start of dose administration to 168 hours postdose; C_{max} = the maximum observed concentration; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; F = female; KLH = keyhole limpet hemocyanin; M = male; NC = not calculated; NOAEL = no-observed-adverse effect level; SC = subcutaneous; $t_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to C_{max}.

[a] n = 2; TK parameters were not calculated for Animal Nos. 2002 and 2004 because mirikizumab serum concentrations were below the LOQ (0.2 μg/mL) at all time points on Day 176.

[b] n = 3; TK parameters were not calculated for Animal No. 3502 because mirikizumab serum concentrations were below the LOQ (0.2 μg/mL) at all time points on Day 176.

[c] Observations included once daily cageside and weekly detailed evaluations.

[d] Number of animals with finding is shown.

2.6.7.7C. 6-Month Study in Monkeys Dosed Twice Weekly

Report Title: A Repeat-Dose Toxicity, Immunotoxicity, and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys Given LY3074828 by Twice Weekly Intravenous Injection for 6 Months

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 2.3 to 2.5 years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
NOAEL: 100 mg/kg

Duration of Dosing: 6 Months
Duration of Postdose: None
Method of Administration: IV, Twice Weekly
Vehicle: 10 mM sodium citrate buffer, 150 mM sodium chloride, and 0.03% polysorbate 80, pH 5.5

Study No. 20119229 Location in CTD: 4.2.3.2.3
GLP Compliance: Yes
Test Article: Mirikizumab

Special Features: Cardiovascular telemetry evaluation (qualitative and quantitative), Immunogenicity (anti-drug antibody), immunophenotyping of lymphocyte populations and natural killer cells, natural killer cell activity, T-cell-dependent antibody response (TDAR) to keyhole limpet hemocyanin (KLH) challenge (anti-KLH IgM and IgG analysis)

Mean Toxicokinetics ± SD

Sample: Serum | Analyte: Mirikizumab | Number of animals: 4/sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Twice weekly | Assay/Method: Mirikizumab concentrations: ELISA/178962
Anti-drug antibody: ACE/[redacted]-17-061-480-REP

Twice Weekly Dose (mg/kg)	100		300	
Sex	M	F	M	F
Day 1				
C_{max} (µg/mL)	2810 ± 515	2990 ± 491	6610 ± 1450	6470 ± 843
C_0 (µg/mL)	2980 ± 626	3260 ± 635	7070 ± 1750	6900 ± 1030
$AUC_{0\text{-}96hr}$ (µg•hr/mL)	55000 ± 4500	48900 ± 7930	139000 ± 9610	126000 ± 21500
T_{max} (hr)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Day 176				
C_{max} (µg/mL)	2400 ± 563	2110 ± 406	7580 ± 585	8510 ± 2460
C_0 (µg/mL)	2540 ± 687	2230 ± 415	7880 ± 522	9290 ± 3180
$AUC_{0\text{-}96hr}$ (µg•hr/mL)	60600 ± 4330	49400 ± 2110	198000 ± 12900	175000 ± 24300
T_{max} (hr)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00

(continued)

2.6.7.7C. 6-Month Study in Monkeys (Continued)

Twice Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300	
Sex: Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Anti-drug Antibody (ADA)[a] (Day 85, Day 180)	0, 0	0, 0	2, 2	2, 1	3, 2	0, 0
Clinical Observations[b]	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (qualitative)	–	–	–	–	–	–
Body Weight	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography (qualitative and quantitative)	–	–	–	–	–	–
Hematology, Day 180[c]						
Red Blood Cell Count (10^6/μL)	–	–	–	–	–	[-37]
Hemoglobin (g/dL)	–	–	–	–	–	[-23]
Hematocrit (%)	–	–	–	–	–	[-26]
Reticulocytes (10^9/L)	–	–	–	–	–	[+264]
Mean Corpuscular Volume (fL)	–	–	–	–	–	[+17]
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	–	–	–	–	–	[+21]
Red Cell Distribution Width (%)	–	–	–	–	–	[+66]
Coagulation	–	–	–	–	–	–

(continued)

2.6.7.7C. 6-Month Study in Monkeys (Continued)

Twice Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300	
Sex: Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Clinical Chemistry[d]						
Glucose (mg/dL), Day 85	–	–	–	–	[+61, +49, +68, +33]	–
Cholesterol (mg/dL)						
Day 22	–	–	–	–	[+20, +23, +38]	[+29, +36, +27, +31]
Day 85	–	–	–	–	[+33, +26, +31]	[+29, +33, +31, +30]
Total Bilirubin						
Day 180						[+232]
Urinalysis	–	–	–	–	–	–
Immunophenotyping	–	–	–	–	–	–
Natural Killer Cell Activity	–	–	–	–	–	–
T-cell Dependent Antibody Response (TDAR) to KLH						
Primary immunization response (IgM and IgG)	–	–	–	–	–	–
Secondary immunization response (IgM and IgG)	–	–	–	–	–	–
Terminal Necropsy, Day 180:						
Gross Pathology	–	–	–	–	–	–
Organ Weights[e]						
Spleen						
Absolute weight (g)	–	2.372 g	–	–	–	[+170]
Relative (% body weight)	–	0.0829%	–	–	–	[+157]
Relative (% brain weight)	–	3.6484%	–	–	–	[+165]

(continued)

2.6.7.7C. 6-Month Study in Monkeys (Continued)

Twice Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300	
Sex: Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Terminal Necropsy, Day 180: Histopathology[f]	-	-	-	-	-	
Bone Marrow, Sternum						
Increased cellularity, erythroid, minimal	-	-	-	-	-	1
Liver						
Pigment; kupffer cell, minimal	-	-	-	-	-	1
Lymph Node, Inguinal						
Extramedullary hematopoiesis, minimal	-	-	-	-	-	1
Spleen						
Congestion; red pulp, mild	-	-	-	-	-	1
Pigment; red pulp, minimal	-	-	-	-	-	1
Erythrophagocytosis, minimal	-	-	-	-	-	1

(continued)

2.6.7.7C. 6-Month Study in Monkeys (Concluded)

Abbreviations: – = no noteworthy findings; ACE = affinity capture elution; ADA = anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}96hr}$ = area under the concentration versus time curve from the start of dose administration to 96 hours postdose using the linear trapezoidal method; C_0 = theoretical concentration at time zero; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; F = female; IV = intravenous; KLH = keyhole limpet hemocyanin; M = male; NOAEL = no-observed-adverse effect level; T_{max} = time to C_{max}.

[a] Number of animals confirmed positive for ADA (per number evaluated) is shown.

[b] Observations included daily cageside, weekly detailed, and postdose (observed for 15 minutes after each dose, and at 24 hours postdose).

[c] Percent difference from prestudy (Day -7) is shown in brackets for an individual noteworthy animal (3504). Corresponding changes on blood smear examination for this animal consisted of mild red blood cell agglutination and minimal to mild anisocytosis, microcytosis, and polychromasia. This animal had hematologic, clinical chemistry, and morphologic changes indicative of an idiosyncratic (i.e., low-incidence, non-dose responsive) immune-mediated hemolytic effect of LY3074828 administration. Although these effects may not have represented a direct effect of the test article, they were considered adverse to this animal.

[d] Percent differences from prestudy (Day -7) is shown in brackets for individual noteworthy animals. Increased bilirubin was considered to be most likely secondary to hemolysis because of the concomitant changes in red blood cell parameters.

[e] Group means are shown for controls. Percent difference from controls are shown for an individual noteworthy animal (3504) as described in footnote c above.

[f] Histopathology changes for an individual noteworthy animal (3504) as described in footnote c above. In addition, one female (2503) in the 100 mg/kg/dose group with a decrease in LY3074828 exposure had mononuclear cell vascular/perivascular inflammation in numerous tissues possibly secondary to anti-drug antibody immune complex deposition. The morphology and distribution of these changes were consistent with incidental polyarteritis occasionally observed in cynomolgus macaques, however, because this animal also had a reduction in systemic exposure, the possibility of immune complex deposition secondary to anti-drug antibody could not be completely ruled out.

2.6.7.8. Genotoxicity: In Vitro

Not applicable.

2.6.7.9. Genotoxicity: In Vivo

Not applicable.

2.6.7.10. Carcinogenicity

Not applicable.

2.6.7.11. Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies

Not applicable.

2.6.7.12. Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development

Not applicable.

2.6.7.13. Reproductive and Developmental Toxicity: Embryo-Fetal Development

Not applicable.

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development

Report title: An Assessment of the Effect of LY3074828 on Pre- and Postnatal Development When Administered by Intravenous Injection Twice Weekly to Pregnant Cynomolgus Monkeys

Design similar to ICH S6(R1): Yes

Duration of dosing: GD 21 ± 1 (based on the day of pregnancy confirmation by ultrasound), GD 25, GD 28, then twice every 7 days (every 4 then 3 days, GD 32, GD 35, GD 39, GD 42, etc) until parturition (GD 160 ± 10) for a total of approximately 42 doses/animal

Document ID: 20102344

Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

Species/strain: Monkey/Cynomolgus

Day of mating: GD0

GLP compliance: Yes

Initial age: 4.4-8.0 years

Date of first dose: [redacted]20[redacted]

Test Article: Mirikizumab

Vehicle: 10 mM sodium citrate, 150 mM sodium chloride, and 0.03% polysorbate 80, pH 5.5

Route: Intravenous Injection (slow bolus, 4-5 mL/minute)

Special features: Adult female and infant lymphocyte immunophenotyping (flow cytometry); infant natural-killer cell activity and T-cell-dependent antibody response (TDAR) (anti KLH antibodies, IgM and IgG); toxicokinetics of LY3074828 and anti-drug antibodies (ADA) in infant and adult female serum

No-observed-adverse-effect level: 300 mg/kg

Mean Toxicokinetics ± SD		
Sample: Serum	Analyte: Mirikizumab	Number of animals: 15/group/time point
Feeding condition: Fed	Dose frequency: GD21 ± 1, 25, 28, then twice every 7 days	Assay/Method: Mirikizumab concentrations: ELISA/178962 Anti-drug antibody: ACE/[redacted]-17-061-480-REP
	Dose (mg/kg):	300
F_0 females		
	GD70	
	C_0 (µg/mL)	7720 ± 1660
	$AUC_{0\text{-}96hr}$ (µg•hr/mL)	127000 ± 33700
Mean Serum Infant/Adult Ratio[a]		
	Infant BD14 to Adult PPD14	1.09 to 19.2
	Infant BD28 to Adult PPD28	0.696 to 18.0
Mean Concentration ± SD (at 1 hr post dose)		
F_0 females		
	GD21 ± 1	7810 ± 972
	GD70	7270 ± 1490
	GD140	7170 ± 1120

(continued)

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

Dose (mg/kg)	0 (Control)	300
F_0 adult females		
# pregnant[b]	15	15
# died or euthanized moribund	0	0
Anti-drug Antibody (ADA)[c] (adult female, infant)	1/15, 0/13	12/15, 5/10
Fetal Losses/Pregnancy		
Overall Loss (GD 20–term)	1/15 (6.7%)	4/15 (26.7%)
Second Trimester (GD 51-100)	0/15 (0%)	1/15 (6.7%)
Third Trimester (>GD 100)[d]	1/15 (6.7%)	3/15 (20.0%)
No. Live Births[e] male, female	6,8	4,7
Mean Gestation Length of Live Births[e] (Days ± SD)	162 ± 7	160 ± 8
Gestation through PPD184		
Maternal death	–	–
Clinical Observations (cageside) and Food Consumption	–	–
Body Weight and Body Weight Gain	–	–
Embryo/Fetal viability by ultrasound (fetal heart rate)	–	–
Cesarean Sections[f]	2	–
Postpartum and lactation checks (PPD 1 and PPD 2)	–	–
Aborted[g,h]	1	3
Stillbirth/*in utero* death[g,i]	0	1
Hematology	–	–
Coagulation	–	–
Clinical Chemistry (No. Evaluated)	(14)	(12)
Cholesterol (mg/dL)		
GD 140	70.9	91.2*
Immunophenotyping (Flow Cytometry)	–	–

(continued)

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

Dose (mg/kg)	0 (Control)	300
Fetal Evaluations		
Number evaluated: male, female, unknown	1, 0, 0	0, 3, 1
Abortions, stillbirths[g]	1, 0	3, 1
Placenta evaluation (when available)	–	–
Fetal measurements	–	–
Fetal external and visceral evaluations	–	–
Fetal Heart Evaluations	–	–
Gross Pathology	–	–
Histopathology	–	–
Infant Mortality (early death)[j]		
Number evaluated: male, female	0, 1	1, 0
Infant measurements	–	–
External and Visceral Evaluations	–	–
Heart Evaluations	–	–
Gross Pathology and Histopathology	–	–
Skeletal Radiograph Evaluations	–	–
Infants (BD 1 through BD 183 ± 1)		
No. Live Births[e] male, female	6, 8	4, 7
BD1/BD2 Evaluations[k]	–	–
Clinical Observations (cageside and detailed)	–	–
Body Weight and Body Weight Gain	–	–
Heart Rates and Respiration Rates	–	–
External Assessments[l]	–	–
Morphometric measurements[m]	–	–
Neurobehavioral and Neurological Assessments[n]	–	–
Ophthalmology (indirect and slit lamp)	–	–
Hematology	–	–
Immunophenotyping (Flow Cytometry)	–	–
Natural-killer cell activity	–	–
T-cell Dependent Antibody Response (TDAR)[o]	–	–

(continued)

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

Dose (mg/kg)	0 (Control)	300
Infants (BD 1 through BD 183 ±1) (continued)		
External and visceral evaluations	–	–
Gross Pathology and Histopathology	–	–
Organ weights	–	–
Heart evaluations	–	–
Skeletal radiograph evaluations	–	–

Abbreviations: – = no noteworthy findings; ACE = affinity capture elution; ADA = anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}96hr}$ = area under the concentration versus time curve from the start of dose administration to 96 hours postdose using the linear trapezoidal method; BD = birth day; BQL = below quantitation limit; C_0 = theoretical concentration at time zero; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; GD = gestation day; mCG = monkey chorionic gonadotropin; PPD = postpartum day; SD = standard deviation.

[a] LY3074828 serum concentrations were quantifiable on BD28 for a Group 2 female infant and on BD56 for a Group 2 male infant born to mothers with LY3074828 serum concentrations below LLOQ at PPD 14 and subsequent occasions (PPD 28, PPD 56, PPD 84, PPD 112, and PPD 140).

[b] One female in each group was determined to be not pregnant based on mCG analysis; all data excluded from table for these 2 animals.

[c] Number of animals positive for ADA per number evaluated is shown. Animals that were confirmed ADA positive had similar LY3074828 exposure (C0 and $AUC_{(0\text{-}96)}$) compared to those that were not ADA positive as determined by an antigen (IL23) capture ELISA. Since the assay measures active LY3074828 (capable of binding IL23), the presence of ADA in adult females or infants had no apparent neutralizing impact on LY3074828 serum concentrations during pregnancy or post pregnancy. None of the infants from control animals were ADA positive on any sampling occasion. None of the pretreatment samples from animals in the LY3074828 treatment group were confirmed positive for ADA.

[d] Pregnancy losses from GD 100 include abortions (GD 100-139) and stillbirths (≥GD 140).

[e] Number of live births and mean gestation lengths includes C-section deliveries (2 in Group 1), but excludes abortions (<GD 140) and stillbirths (≥GD 140). When abortions/stillbirths were included, gestation lengths were: 160 ± 11 and 150 ± 21 for Groups 1 and 2, respectively.

[f] Two control group infants were delivered by C-section because the adult females had not delivered their infants by GD172 or GD174.

[g] Fetal losses occurring prior to GD 140 were considered abortions and those occurring on or after GD 140 were considered stillbirths.

[h] One control group female aborted on GD 127 and three abortions in the 300 mg/kg/dose group occurred on GD 90, GD 127, and GD 133.

[i] One stillbirth occurred in the 300 mg/kg/dose group on GD 146. The fetus was in breech position at ultrasound on GD 144 and at the time of delivery on GD 146.

[j] Both infant losses, including control, resulted from circumstances unrelated to treatment (i.e., maternal neglect). Therefore, these deaths were not attributed to maternal treatment with LY3074828.

[k] BD 1 evaluation was limited to evidence of nursing behavior; BD 2 evaluations included evidence of nursing behavior, body weight, and a veterinary physical examination (including inspection of the hard palate, spinal cord closure, digits, limbs, and joint angles for normal structural morphology, lymph node palpation), heart rate, and respiration rate.

(continued)

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Concluded)

l External assessments included evaluation of shape and symmetry of the head and body.

m Morphometric measurements included crown-rump length, femur length (bilateral), foot length (bilateral), horizontal head circumference, biparietal diameter, occipitofrontal diameter, chest circumference, and anogenital distance.

n Neurobehavioral testing included evaluation of righting, palmar grasp, clasp-grasp, visual following, prone progression, lipsmack orient, oral reflexes (rooting, sucking, and snout reflex), eye reflexes (pupil constriction, nystagmus, and glabellar tap), moro reflex, negative geotaxis, and buildup (increasing arousal levels in response to manipulation) at BD 7 and BD 14. Adult-based neurological examinations were performed and scored on alert infants by a staff veterinarian on BD 91 and BD 175, including assessment of general attitude and behavior, postural reactions (assessments of proprioceptive positioning, visual and tactile placing reactions), cranial nerve function (assessments of head movement/symmetry, head muscle tone, eye reactions, eye symmetry, vestibular nystagmus, eye position, corneal reflex, and pupillary light reflex), and spinal nerve function (assessments of muscle tone, flexor reflex, and perineal reflex).

o No LY3074828-related changes were observed after immunization of infants with keyhole limpet hemocyanin (KLH) antigen, via detection of primary and secondary anti-KLH IgM or IgG center point titer (CPT) values, an evaluation of the humoral immunity.

* $p \leq 0.01$ ANOVA & Dunnett.

2.6.7.15. Studies in Juvenile Animals

Not applicable.

2.6.7.16. Local Tolerance

Not applicable.

2.6.7.17. Other Toxicity Studies

Species, Strain	Route	Concentrations	Noteworthy Findings	Document ID	Location in CTD
Tissue Cross Reactivity					
Human and monkey/cynomolgus,	Ex vivo	0, 5, 25 µg/mL	No specific mirikizumab staining was observed in any human or cynomolgus monkey tissues	20029154	4.2.3.7.7.1