目次

略号一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.2.1 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の単回 IV（ボーラス）投与用量漸増毒性試験及び TK 評価（GLP 適用試験） 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.3.1 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 5 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験） 10
2.6.6.3.2 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 28 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験） 11
2.6.6.3.3 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 30 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験） 13
2.6.6.3.4 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 26 週間 IV（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用試験） 14
2.6.6.3.5 雌ウサギを用いた TAK-755 の 2 週間 IV（ボーラス）投与毒性試験（GLP 非適用試験） 16
2.6.6.3.6 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間 IV（ボーラス）投与予備毒性試験（GLP 適用試験） 17
2.6.6.3.7 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間 IV（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験） 18
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.5 がん原性試験 21
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 21
2.6.6.6.1 雌 SD ラットを用いた TAK-755 の IV（ボーラス）投与受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用試験） 21
2.6.6.6.2 妊娠雌 SD ラットを用いた TAK-755 の IV（ボーラス）投与出生前及び出生後の発生に関する試験（GLP 適用試験） 22
2.6.6.6.3 幼若動物を用いた試験 23
2.6.6.7 局所刺激性試験 24
2.6.6.7.1 雌雄 New Zealand white ウサギを用いた TAK-755 の IV 投与局所刺激性試験（GLP 適用試験） 24
2.6.6.7.2 雄 New Zealand white ウサギを用いた TAK-755 の SC 投与局所刺激性試験（GLP 適用試験） 24
2.6.6.8 その他の毒性試験 24
2.6.6.9 考察及び結論 24
2.6.6.10 参考文献一覧 27

表

表 2.6.6.1-1 TAK-755 の毒性試験一覧 7
表 2.6.6.2-1 雌雄カニクイザルに TAK-755 を単回 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算） 9
表 2.6.6.2-2 TAK-755 に対する結合 ADA 及び中和 ADA 陽性動物数 9
表 2.6.6.3-1 雌雄 SD ラットに TAK-755 を 5 日間連日 IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値 11
表 2.6.6.3-2 雌雄 SD ラットに TAK-755 を Q3D､28 日間 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質抗原の血漿中 TK パラメータの平均値 12
表 2.6.6.3-3 経時的な結合 ADA 陽性動物数 12
表 2.6.6.3-4 雌雄 SD ラットに TAK-755 を 30 日間連日 IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算値） 14
表 2.6.6.3-5 雌雄 SD ラットに TAK-755 を 26 週間 IV 投与したときの血漿中 ADAMTS13 活性 TK パラメータの平均値 15
表 2.6.6.3-6 経時的な結合 ADA 陽性動物発現数 16
表 2.6.6.3-7 TAK-755 に対する結合 ADA 及び中和 ADA 陽性動物数 18
表 2.6.6.3-8 雌雄カニクイザルに TAK-755 を 4 週間 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算値） 19
表 2.6.6.3-9 結合 ADA 陽性動物の経時的発現数 20
表 2.6.6.3-10 中和 ADA 陽性動物の経時的発現数 20
表 2.6.6.6-1 雌 SD ラットに TAK-755 を IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値 22
表 2.6.6.9-1 TAK-755：NOAEL 並びに AUC 及び C_{max} に基づく安全域 26

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADA	antidrug antibody	抗薬物抗体
ADAMTS13	a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, number 13	トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番
AUC	area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_t	area under the concentration-time curve from time 0 to time t	投与後 0 から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{ave}	average concentration	平均血漿中濃度
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
cTTP	congenital thrombotic thrombocytopenic purpura	先天性血栓性血小板減少性紫斑病
ERT	enzyme replacement therapy	酵素補充療法
GD	Gestation Day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IA	intra-arterial	動脈内
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IV	intravenous(ly)	静脈内
LD	Lactation Day	授乳日数
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
PV	paravenous	静脈周囲
Q2W	once every 2 weeks	2 週に 1 回
Q3D	once every third day	3 日に 1 回
QD	once daily	1 日 1 回
QW	once weekly	週 1 回
rADAMTS13	recombinant a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, number 13	ADAMTS13（遺伝子組換え）
SC	subcutaneous	皮下
SD	Sprague Dawley	－
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TTP	thrombotic thrombocytopenic purpura	血栓性血小板減少性紫斑病
VWF	von Willebrand factor	フォン・ヴィレブランド因子

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番（ADAMTS13）（遺伝子組換え）（rADAMTS13、以下、TAK-755、別名 SHP655 又は BAX930）は、先天性血栓性血小板減少性紫斑病〔先天性 TTP（cTTP）、ADAMTS13 の先天性欠乏症〕患者に対する酵素補充療法（ERT）として開発中である。ADAMTS13 は、フォン・ヴィレブランド因子（VWF）の A2 ドメイン内に存在する Tyr1605-Met1606 を切断して VWF フラグメントを形成することにより、VWF マルチマーのサイズを調節する。形成された VWF フラグメントは高分子量 VWF マルチマーとは異なり、血栓症の発症を促進しない[1]。したがって、cTTP 患者では、VWF の切断作用能力が低下していることにより、微小血管系の血栓性疾患である TTP を発症しやすくなる。

TAK-755 の毒性は、TAK-755 製剤（精製白糖、マンニトール、カルシウム、ナトリウム、クロール、ヒスチジン及びポリソルベート 80 を含む製剤）を予定される臨床投与経路である静脈内（IV）投与した複数の in vivo 試験により評価した。TAK-755 の開発をサポートするすべての主要な毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。非臨床試験に用いた原薬は、製剤に用いられているものの中で代表するロットを用いた。詳細はモジュール 3（3.2.S.3.1、3.2.S.2.6 及び 3.2.S.4.4）に示す。TAK-755 の毒性評価に適切な動物種として、Sprague Dawley（SD）ラット及びカニクイザルを選択した。in vitro 及び in vivo 試験により、TAK-755 はラット及びサルの内因性超大型 VWF を切断する能力を有していること（2.6.2.2.2.7）、ラット及びサルは非臨床安全性試験で汎用され、多くの背景データがあること、また、サルはヒトと凝固系が非常に類似しており、ヒト凝固タンパク質の試験に適していると考えられることから選択した。

カニクイザルを用いた用量漸増毒性試験において、TAK-755 の単回投与毒性及びトキシコキネティクス（TK）を評価した。反復投与毒性試験として、SD ラットを用いた 5 日間連日投与試験、SD ラットを用いた 1 ヵ月間投与試験〔3 日に 1 回（Q3D）投与〕、SD ラットを用いた 30 日間連日投与試験、カニクイザルを用いた 4 週間予備試験〔週 1 回（QW）投与〕及びカニクイザルを用いた心血管系及び呼吸系に対する安全性薬理試験の評価項目を含む 4 週間反復投与毒性試験（QW 投与）を実施した。また、SD ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験を実施し、慢性毒性を評価した。

生殖発生毒性を評価するため、ラットを用いた生殖発生予備毒性試験及び胎盤通過予備試験、雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験を実施した。New Zealand white ウサギを用いた 2 週間反復投与忍容性試験も実施した。ラットを用いた慢性毒性試験では、生殖発生毒性に関する評価項目も追加した。

以下の理由により、慢性毒性及び生殖発生毒性の評価にはラットのみを使用した。

- ウサギでは、薬理活性（すなわち VWF の切断）が欠如していること、TAK-755 反復投与後に曝露量の減少を伴う結合及び中和（阻害）抗薬物抗体（ADA）が高頻度に発現すること、並びに TTP 様症状になり易いことから、ウサギはラットと異なり、反復投与による毒性評価には不適切な動物種と考えられた。
- サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（QW 投与）では、2 回目の投与後に結合 ADA、5 回目の投与後に中和 ADA の発現が認められた。中和 ADA と内因性 ADAMTS13 との交

差反応性により、サルでは、5 回目の投与後に曝露量が顕著に減少し、試験終了時に一部の個体で TTP 様症状が発現した。この結果、サルは TAK-755 の長期投与試験には適していないと考えられた。TAK-755 に対する ADA の発現は、異種タンパク質をサルに反復投与した後に引き起こされる免疫反応である。

・ラットでは、反復投与後に TAK-755 に対する結合 ADA 及び中和 ADA の用量依存的な発現が認められた。しかし、ADA 発現率はサルよりも低く（TAK-755 400 U/kg を 1 ヵ月間投与後のラットで 10 匹中 2 匹、サルでは 10 匹中 8 匹に発現）、ラットにおいて、中和 ADA は曝露量の減少及び TTP 様症状を引き起こさなかった。一般的に、ADA 交差反応性は動物種特異的であり、ADAMTS13 のヒトタンパク質との相同性は、ラットよりサルで高い。結合 ADA はラットでは ADAMTS13 の活性部位に結合しなかったが、サルでは結合した。異なる動物種の VWF を用いた in vitro 試験でも同様の差が認められた。ヒト ADAMTS13 はサルの超大型 VWF マルチマーをラットのものよりも多く切断した。ADAMTS13 の活性部位のアミノ酸配列を比較すると、アミノ酸同一性は 71%（マウス及びラット）～95%（サル）の範囲である。

非臨床毒性試験で得られたデータを以下に要約する。

・ラットに TAK-755 を 80、200 又は 400 U/kg の用量で 5 日間連日投与したところ、TAK-755 に関連した有害作用は認められず、忍容性は良好であった。無毒性量（NOAEL）は 400 U/kg であった。

・ラットに TAK-755 を 80、400 又は 800 U/kg の用量で Q3D、28 日間投与したときの忍容性は良好であった。NOAEL は 800 U/kg であった。

・高用量（800 又は 1,820 IU/kg）及び頻回投与（連日）の安全性を評価するためのラットを用いた 30 日間反復投与毒性試験では、高用量及び頻回投与による TAK-755 に関連する有害作用は認められなかった。NOAEL は 1,820 IU/kg であった。

・ラットを用いた長期投与毒性試験では、TAK-755 400 U/kg を Q3D、26 週間 IV 投与したところ、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。精子検査パラメータに影響は認められず、雄性生殖器に病理組織学的変化は認められなかった。一般毒性及び雄性生殖パラメータに対する NOAEL は、最高用量である 400 U/kg と判断された。

・ウサギを用いた 2 週間投与忍容性試験では、TAK-755 を Q3D、計 5 回投与したところ、中用量群及び高用量群（400 U/kg 及び 800 U/kg）で TTP 様の所見が認められ、無影響量は 80 U/kg であった。これらの所見は TAK-755 に直接起因するものではなく、内因性の ADAMTS13 タンパク質にも反応する結合 ADA 及び中和 ADA の発現に起因するものと考えられた。さらに、TAK-755 はラット及びサルとは異なり初回投与後又は反復投与後に内因性ウサギ超大型 VWF マルチマーを切断しなかった。したがって、TAK-755 投与時の薬理活性（すなわち VWF の切断）の欠如、抗体発現率の高さ及び TTP 様症状になり易いという点から、ウサギはラット及びサルとは異なり、胚・胎児発生に関する試験を含め、非臨床毒性評価には適さない動物種と考えられた。

・カニクイザルを用いた用量漸増試験において、TAK-755 は評価した最高用量の 1,790 U/kg で良好な忍容性を示した。

・カニクイザルに TAK-755 を 80、200 及び 400 U/kg の用量で QW、29 日間投与したときの忍容性は良好であった。200 U/kg 群の雌 5 匹中 1 匹及び 400 U/kg 群の雌 5 匹中 2 匹に

血小板の減少が認められた。その他の TTP に関連した所見が 400 U/kg 群の雌 1 匹に認められ、本所見は内因性サル ADAMTS13 に対する交差反応性中和抗体の発現に起因した ADAMTS13 欠乏によるものと考えられた。本試験の NOAEL は 400 U/kg であった。

- 異種ヒトタンパク質製剤で予想されるように、TAK-755 の反復投与により、動物モデルにおいて ADAMTS13 に特異的な中和（阻害）ADA が発現した。カニクイザルでは、これらの抗体が内因性の ADAMTS13 と交差反応し、その結果、免疫介在性（後天性）TTP 様症状を引き起こした。ラットではこのような交差反応は認められなかった。
- ラットを用いた雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験では、最高用量の 400 U/kg まで生殖毒性は認められなかった。
- New Zealand white ウサギを用いた局所刺激性試験において、311 U/mL 溶液を IV（5 mL）、動脈内（IA、5 mL）及び静脈周囲（PV、0.5 mL）投与したとき、並びに 300 IU/mL 溶液を皮下（SC、1 mL）投与したときの TAK-755 の忍容性は良好であった。

毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す。

表 2.6.6.1-1　TAK-755 の毒性試験一覧

動物種	投与経路	用量又は濃度	投与レジメン	GLP	添付資料番号／報告書番号
単回投与毒性試験					
サル	IV	200 及び 1,790 U/kg	Day 1 に 200 U/kg、Day 15 に 1,790 U/kg を単回用量漸増投与	適用	4.2.3.1-1／8234215
反復投与毒性試験					
ラット	IV	0、80、200 又は 400°U/kg	QD で 5 日間	適用	4.2.3.2-1／527739
ラット	IV	0、80、400 又は 800 U/kg	Q3D で 4 週間	適用	4.2.3.2-2／PV2511001
ラット	IV	0、800 又は 1,820 IU/kg(a)	QD で 30 日間	適用	4.2.3.2-4／504247
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で 26 週間	適用	4.2.3.2-5／523430
ウサギ	IV	0、80、400 又は 800 U/kg	Q3D で 2 週間	非適用	4.2.3.2-6／AU0112W01
サル	IV	0 又は 800 U/kg	QW で 4 週間	適用	4.2.3.1-1／8234215
サル	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	QW で 4 週間	適用	4.2.3.2-7／8243420
遺伝毒性試験					
TAK-755 の遺伝毒性試験は実施していない。					
がん原性試験					
TAK-755 のがん原性試験は実施していない。					
生殖発生毒性試験					
ラット	IV	3200 U/kg	GD 21 に単回投与	非適用	4.2.3.5.1-1／495388(b)
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で交配前 2 週間から交配期間中を経て約 GD 16 まで	適用	4.2.3.5.1-2／497081
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で GD 6 から授乳約 21 日まで	適用	4.2.3.5.3-1／496821
局所刺激性試験					
ウサギ	IV、IA 及び PV	0 又は 311 U/mL	単回投与	適用	4.2.3.6-1／PV2541101
ウサギ	SC	0 又は 300 IU/mL(a)	単回投与	適用	4.2.3.6-2／L11910M-SHP655
その他の毒性試験					
TAK-755 のその他の毒性試験は実施していない。					

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、FRETS-VWF73：VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質、GD：妊娠日数、GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IA：動脈内、IU：国際単位、IV：静脈内、PV：静脈周囲、QD：1 日 1 回、Q3D：3 日に 1 回、QW：週 1 回、SC：皮下、VWF：フォン・ヴィレブランド因子

(a)　本試験の投与量は IU に基づくものであった。2014 年に、世界保健機関（WHO）ADAMTS13 の第一国際基準（NIBSC コード：[redacted]）が確立された。その結果、遺伝子組換え二次標準品（[redacted]）を社内で製造し、ADAMTS13 の新しい WHO 標準品に対して検定し、物質の試験及び出荷のために導入した。FRETS-VWF73 を用いた ADAMTS13 の活性測定法について、正常プール血漿（単位：U）から WHO 標準品に対して検定した遺伝子組換え標準品（単位：IU）への変換により、[redacted]%の[redacted]が認められた。

(b)　単回投与時の胎盤移行性を検討する試験であり、投与 30 分後に剖検を実施した。

以上、ラット及びサルでは、検討した最高用量においても、TAK-755 に直接関連する毒性は認められなかった。ラット及びサルを用いた 4 週間反復投与毒性試験、ラットを用いた 26 週間毒性試験及び生殖発生毒性試験から得られた最も低い NOAEL である 400 U/kg は、U/kg ベースで予防治療における臨床予定用量〔cTTP に対して 40 IU/kg を 2 週に 1 回（Q2W）〕の 10 倍である。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン M3（R2）に従い、TAK-755 の独立した単回投与（急性）毒性試験は実施しなかった。急性毒性はカニクイザルを用いた用量漸増毒性試験で評価した。

2.6.6.2.1 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の単回 IV（ボーラス）投与用量漸増毒性試験及び TK 評価（GLP 適用試験）

：**添付資料番号 4.2.3.1-1（評価）**

本毒性試験の目的は、反復投与（2.6.6.3.6）における TAK-755 の適切な用量を決定すること、及び雌雄カニクイザル（約 4 歳、雌雄各 4 匹）に TAK-755 を Day 1 及び Day 15 に単回低速 IV ボーラス投与したときの TK プロファイルを評価することであった（2.6.7.5、4.2.3.1-1）。TAK-755 を Day 1 に 200 U/kg（0.6 mL/kg）で投与し、14 日間休薬後、Day 15 に 1,790 U/kg（5 mL/kg）を投与した。投与量は、予想される血漿中濃度が活性測定法で測定可能な最低投与量、及びサルにおける最大推奨 IV 投与容量（5 mL/kg）とした。TAK-755 投与に関連した影響を評価するため、生死、一般状態、体重、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、血液ガス分析、尿検査、VWF 解析、TK、結合 ADA 及び中和 ADA、器官重量並びに剖検所見について評価した。血漿中 TK 解析のため、Day 1 及び Day 15 に血液試料を経時的〔投与後 0（投与前）、0.083、0.5、1、6、12、20、36、48 及び 60 時間〕に採取した。

TAK-755 に関連する有害作用は認められなかった。200 U/kg 群の 8 匹中 3 匹のみで内因性 VWF マルチマーのサイズが減少したことから、低用量群ではサル VWF に対する TAK-755 の影響は軽微であることが示唆された。一方、1,790 U/kg 群では 8 匹中 7 匹で内因性 VWF マルチマーのサイズが減少した。さらに、同群の 8 匹中 5 匹で、内因性 VWF マルチマーのパターンが投与後 5 分もしくは 30 分以内に変化（低分子 VWF が増加）したことからからも、TAK-755 のサル VWF に対する切断作用が示された。

TK の結果は、表 2.6.6.2-1 及び 2.6.4.3.1.3 に示した。TK パラメータに性差は認められなかったため、雌雄合算の結果を示した。TAK-755 投与後の ADAMTS13 の活性及びタンパク質（抗原）の曝露量〔最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与後 0 から 60 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{60}）〕は用量に比例していた。

表 2.6.6.2-1　雌雄カニクイザルに TAK-755 を単回 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算）

		ADAMTS13 活性		ADAMTS13 タンパク質（抗原）	
TK パラメータ	Day	200 U/kg	1,790 U/kg	200 U/kg	1,790 U/kg
実際の投与量(a)	1	185	NA	140	NA
C_{max}(b)		4.17	NA	2.58	NA
AUC_{60} (c)		69.9	NA	39.0	NA
実際の投与量(a)	15	NA	1630	NA	1260
C_{max}(b)		NA	33.0	NA	23.4
AUC_{60}(c)		NA	654	NA	371

出典：4.2.3.1-1

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{60}：投与後 0 から 60 時間までの濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、NA：該当なし、TK：トキシコキネティクス

(a)　用量単位は、ADAMTS13 活性では U/kg、ADAMTS13 タンパク質（抗原）では μg/kg である（n=4 匹／性／群）。

(b)　C_{max} の単位は、活性では U/mL、タンパク質（抗原）では μg/mL である。

(c)　AUC_{60} の単位は、活性は h*U/mL、タンパク質（抗原）は h*μg/mL である。実際の AUC は、実際の投与量の平均値に用量補正した AUC を乗じることで概算した。

抗 TAK-755 結合 ADA 及び中和 ADA の結果を表 2.6.6.2-2 に示す。8 匹中 2 匹で結合 ADA は陽性であったが、中和 ADA は認められなかった。

表 2.6.6.2-2　TAK-755 に対する結合 ADA 及び中和 ADA 陽性動物数

	ADA 陽性動物数／総動物数	
動物種	結合 ADA 陽性動物	中和 ADA 陽性動物
カニクイザル	2/8	0/8

出典：4.2.3.1-1

ADA：抗薬物抗体

抗体価の Log2 値は、Log2=［（抗体価/20）の log2］＋1 として算出した。最小希釈倍率は 1:20 であった。抗体価が 1:20 未満の場合、log2 値は 0 とした。投与後の各試料の抗体価が投与前の各試料と比較して、log2 抗体価で 2 段階を超えて増加した場合に、陽性動物と評価した。

TAK-755 に対する ADA の発現は、カニクイザルに異種タンパク質を反復投与したときに予想される免疫反応であり、有害とはみなされない。いずれの動物及びいずれの測定時点においても、抗チャイニーズハムスター卵巣（CHO）タンパク質抗体は検出されなかった。

結論として、サルに TAK-755 を 1,790 U/kg の用量で単回投与したときの忍容性は良好であり、ADAMTS13 活性の C_{max} は 33.0 U/mL、AUC_{60} は 654 h*U/mL であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、SD ラット、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いて実施した。なお、ラット及びサルは TAK-755 が薬理活性を示す動物種である。投与レジメンは、連日投与、Q3D 投与、QW 投与など、臨床での予防治療で適用予定の様々な投与レジメンをカバーしている。

2.6.6.3.1 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 5 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-1（評価）

本試験の目的は、雌雄 SD ラット〔7～8 週齢、雌雄各 10 匹／群（主試験）及び雌雄各 5 匹／群（回復性試験）〕に TAK-755 を 1 日 1 回（QD）、5 日間連続（5 回投与）IV ボーラス投与した場合、さらに 2 週間の回復期間を設けた場合の毒性及びその回復性並びに TK プロファイルを評価することであった（2.6.7.7.1、4.2.3.2-1）。TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で投与した。投与容量は 2 mL/kg とした。TAK-755 投与に関連した影響を評価するため、生死、一般状態、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理検査（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）、生物学的解析及び TK〔血漿 ADAMTS13 活性及び結合 ADA の解析及び評価〕、剖検所見、器官重量並びに病理組織学的検査について評価した。血漿中 TK 解析のため、Day 1 及び Day 5 に血液試料を経時的〔雌雄各 3 匹／時点；投与後 0（投与前）、0.083、0.5、1、3、6、12 及び 24 時間〕に採取した。

上記評価項目において、TAK-755 に関連した有害作用は認められず、結合 ADA の発現も認められなかった。TAK-755 200 U/kg を投与した 1 匹が Day 5 に死亡した。この個体の一般状態に変化は認められなかった。また、剖検では、肝臓及び肺葉の暗色化並びに顎下リンパ節の腫大が認められた。病理組織学的検査では、死戦期変化と考えられるうっ血が肝臓及び肺の剖検所見と関連していた。顎下リンパ節に軽度の形質細胞増加が認められ、剖検時に認められた腫大と関連していた。その他の病理組織学的所見として、IV ボーラス投与手技に関連すると考えられた肺の異物性肉芽腫、偶発的と考えられる肝臓の軽微な混合型炎症性細胞浸潤、及び発情期に関連すると考えられる膣及び子宮への好中球浸潤が認められた。これらの所見はいずれも死因とは判断できなかった。よって、死因は不明であるが、中間用量群の 1 匹の所見であり TAK-755 との関連は低いと考えられた。

TAK-755 の TK パラメータを、表 2.6.6.3-1 に示した。Day 1 及び Day 5 における TAK-755 の曝露量〔C_{max} 及び投与後 0 から 24 時間までの AUC（AUC_{24}）〕は、用量の増加に伴って増加した。TAK-755 の全身曝露量に蓄積性又は性差は認められなかった。

以上、ラットに TAK-755 を 80、200 又は 400 U/kg の用量で 5 日間連続投与したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 400 U/kg であり、この用量における Day 5 の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 6.04 U/mL、雌で 4.30 U/mL、AUC_{24} は雄で 83.1 h*U/mL、雌で 63.4 h*U/mL であった。

表 2.6.6.3-1　雌雄 SD ラットに TAK-755 を 5 日間連日 IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値

		80 U/kg		200 U/kg		400 U/kg	
TK パラメータ	Day	M	F	M	F	M	F
C_{max}（U/mL）(a)	1	0.648	0.716	1.67	1.97	3.47	2.86
AUC_{24}（h*U/mL）		10.4	13.5	23.2	20.9	41.0	37.3
C_{max}（U/mL）(a)	5	1.31	1.06	2.85	2.74	6.04	4.30
AUC_{24}（h*U/mL）		19.6	14.0	41.1	37.3	83.1	63.4

出典：4.2.3.2-1

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{24}：時間 0 から時間 24 までの濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、F：雌、IV：静脈内、M：雄、TK：トキシコキネティクス

雌雄各 3 匹／時点

(a)　C_{max} は、4.2.3.2-1 では IV ボーラス投与後 0 時間の理論的濃度 C_0 とされている。最初の 2 時点で観察された血漿中濃度に基づいて投与後 0 時点の血漿中濃度を外挿できるようにするため、投与前濃度を TK 解析から除外した。外挿が不可能な場合は、C_0 を投与後の最初の時点の濃度と同じとした。

2.6.6.3.2 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 28 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-2（評価）、添付資料番号 4.2.3.2-3（参考）

本試験の目的は、雌雄 SD ラット〔8～10 週齢；雌雄各 10 匹／群（主試験）；雌雄各 5 匹／群（回復性試験）〕に TAK-755 を Q3D、28 日間（10 回投与）IV ボーラス投与した場合、さらに 2 週間の回復期間を設けた場合の毒性及びその回復性並びに TK プロファイルを評価することであった（2.6.7.7.2、4.2.3.2-2）。TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、400 又は 800 U/kg の用量で投与した。投与容量は 5 mL/kg とした。TAK-755 投与に関連した影響を評価するため、生死、体重、一般状態、臨床病理検査、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査について評価した。また、生殖器の病理組織学的検査により雌雄の受胎能を評価し、精巣のステージ評価（過ヨウ素酸シッフ染色）及び精子検査（精子数、運動性及び形態）を実施した。さらに、サテライト動物を用いて TK、ADA 発現及びラット VWF マルチマーのパターンを検討した。TK 解析用に TAK-755 群で雌雄各 9 匹／群（雌雄各 3 匹／時点）、溶媒対照群で雌雄各 3 匹／群を用いた。血漿中 TK 解析のため、Day 1 及び 28 に血液試料を経時的〔投与後 0（投与前）、0.083、1、3、6、12、24、48 及び 72 時間〕に採取した。

試験期間を通じて死亡例はみられなかった。TAK-755 投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。軽微で一過性の体重変化が認められたが、他の有害作用が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。摂餌量、眼科学的検査、精子検査、尿検査、臨床病理検査、剖検所見及び病理組織学的検査に関して、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

Day 1 及び Day 28 に実施した ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の TK 解析により、試験期間全体を通して全身曝露が確認された。ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の TK パラメータを表 2.6.6.3-2 に示す。全身曝露量〔C_{max} 及び 0 時間から 72 時間までの AUC（AUC_{72}）〕は用量の増加に伴って増加した。TAK-755 の反復投与による蓄積及び全身曝露量の性差は認められなかった（Day 1 及び Day 28 の C_{max} 及び AUC_{72} の差は 2 倍未満であった）。

表 2.6.6.3-2　雌雄 SD ラットに TAK-755 を Q3D、28 日間 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質抗原の血漿中 TK パラメータの平均値

TK パラメータ	Day	80 U/kg		400 U/kg		800 U/kg	
		M	F	M	F	M	F
ADAMTS13 活性							
C_{max}（U/mL）	1	1.40	1.19	8.84	6.90	13.6	13.8
AUC_{72}（h*U/mL）		22.0	17.1	152	126	265	215
C_{max}（U/mL）	28	1.65	1.14	8.84	8.04	15.6	13.1
AUC_{72}（h*U/mL）		32.7	22.5	217	199	313	176
ADAMTS13 タンパク質（抗原）							
C_{max}（μg/mL）	1	0.708	0.654	3.76	4.08	8.01	8.52
AUC_{72}（h*μg/mL）		10.3	10.7	69.2	56.7	139	107
C_{max}（μg/mL）	28	0.842	0.633	4.24	4.12	8.89	8.86
AUC_{72}（h*μg/mL）		14.9	10.8	79.4	72.2	148	87.0

出典：4.2.3.2-2

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{72}：0 時間から 72 時間までの濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、F：雌、IV：静脈内、M：雄、TK：トキシコキネティクス

雌雄各 3 匹／時点

酵素結合免疫吸着測定法により、血漿試料中の TAK-755 に対する ADA の相対量を解析した。ADA 陽性と判定された動物から採取した血漿試料を用いて、中和 ADA の有無を解析した。投与前、Day 29 及び Day 42（回復期間終了後）に ADA を測定した。

結合 ADA 陽性動物数の経時的発現頻度の概要を表 2.6.6.3-3 に示す。TAK-755 の反復投与により、TAK-755 に対する結合 ADA の用量依存的な発現増加傾向が認められた。結合 ADA は、80 U/kg 群の 10 匹中 1 匹（Day 29 及び Day 42）及び 400 U/kg 群の 10 匹中 3 匹（Day 29 に 2 匹、Day 42 に 3 匹）で認められた。結合 ADA 陽性動物では中和活性も認められた。800 mg/kg 群では、10 匹中 7 匹（Day 29 に 4 匹、Day 42 に 7 匹）に結合 ADA が認められ、この 7 匹中 3 匹に中和活性を有する ADA も認められた。ADA 発現に関連した有害作用は認められず、中和 ADA 発現による曝露量の減少は認められなかった。

表 2.6.6.3-3　経時的な結合 ADA 陽性動物数

Day	結合 ADA 陽性動物数／群内総動物数		
	80 U/kg	400 U/kg	800 U/kg
0（投与前）	0/10	0/10	0/10
29（最終投与後）	1/10	2/10	4/10
42（回復期間終了後）	1/10	3/10	7/10
ADA 陽性動物総計	1/10	3/10	7/10

出典：4.2.3.2-2

ADA：抗薬物抗体

ラット血漿の VWF マルチマー解析の結果、バンドパターンから TAK-755 の投与後に最も大きい VWF マルチマーの消失が認められ、この効果の頻度は用量に依存して増加した。これにより VWF 切断、すなわち in vivo でのラットにおける TAK-755 の薬理学的効果が示唆された。VWF マルチマーの解析結果については 2.6.2.2.2.7.1 で考察する。

以上より、ラットに TAK-755 を 80、400 又は 800 U/kg の用量で Q3D、28 日間投与（計 10 回投与）したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 800 U/kg であり、この用量における Day 28 の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 15.6 U/mL、雌で 13.1 U/mL、AUC_{72} は雄で 313 h*U/mL、雌で 176 h*U/mL であった。

2.6.6.3.3 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 30 日間 IV（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-4（評価）

本試験の目的は、雌雄 SD ラット〔8～9 週齢、雌雄各 10 匹／群（主試験）、雌雄各 5 匹／群（回復性試験）〕に TAK-755 を QD、30 日間（30 回投与）IV ボーラス投与し、2 週間の回復期間を設けた場合の毒性及びその回復性並びに TK プロファイルを評価することであった（2.6.7.7.3、4.2.3.2-4）。鎌状赤血球症及び免疫介在性血小板減少症の患者の治療には，cTTP の治療用量を上回る TAK-755 の用量が必要であることから、TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、800 又は 1,820 IU/kg の用量で投与した。投与容量は 5 mL/kg とした。TAK-755 投与に関連した影響を評価するため、生死、一般状態、臨床病理検査（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）、体重、摂餌量、眼科学的検査、初回投与後及び投与終了時の TK 解析〔Day 1 及び Day 30（活性アッセイを使用）〕、ADA 解析（投与前、Day 33 及び回復期終了後の Day 44）、剖検所見（器官重量を含む）及び病理組織学的検査について評価した。TK 解析用に TAK-755 群で雌雄各 2～6 匹／群／時点、溶媒対照群で雌雄各 3 匹／群を用いた。血漿中 TK 解析のため、Day 1 及び Day 30 に血液試料を経時的〔投与後 0（投与前）、0.083、0.5、1、3、6、12、18 及び 24 時間〕に採取した。

TAK-755 投与に関連した計画外の死亡は認められず、一般状態、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿量、尿検査、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査にも TAK-755 投与に関連した影響は認められなかった。投与期間終了時に、対照群及び 1,820 IU/kg 群の動物で認められた軽微な異物塞栓及び軽微又は軽度の肺の炎症性細胞浸潤は、反復 IV 投与に関連する所見と考えられた。

ADAMTS13 活性の雌雄合算した TK パラメータを表 2.6.6.3-4 に示す。実際の投与用量を基準にした場合、曝露量（C_{max} 及び AUC_{24}）はいずれの時点においても用量の増加に伴って増加した。反復投与による曝露量の蓄積は、800 IU/kg 群で約 2.2 倍（AUC 及び C_{max} の両方）、1,820 IU/kg 群で約 2.4 倍（AUC）及び約 2.7 倍（C_{max}）であり、性差は認められなかった。

表 2.6.6.3-4　雌雄 SD ラットに TAK-755 を 30 日間連日 IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算値）

TK パラメータ	Day	800 IU/kg (a)	1,820 IU/kg (a)
実際の投与量	1	950 IU/kg	2,935 IU/kg
C_{max}（IU/mL）		15.1	40.6
AUC_{24}（h*IU/mL）		196	483
実際の投与量	30	1,076 IU/kg	3,011 IU/kg
C_{max}（IU/mL）		33.7	109
AUC_{24}（h*IU/mL）		436	1150

出典：4.2.3.2-4

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{24}：投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、FRETS-VWF73：VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質、IU：国際単位、IV：静脈内、TK：トキシコキネティクス　雌雄各 2～6 匹／時点、VWF：フォン・ヴィレブランド因子

(a)　本試験の投与量は国際単位 IU に基づくものであった。2014 年に、世界保健機関（WHO）ADAMTS13 の第一国際基準（NIBSC コード：[redacted]）が確立された。その結果、遺伝子組換え二次標準品（[redacted]）を社内で製造し、ADAMTS13 に対する新しい WHO 標準品に対して検定し、物質の試験及び出荷のために導入した。FRETS-VWF73 を用いた ADAMTS13 の活性測定法について、正常プール血漿（単位：U）から WHO 標準品に対して検定した遺伝子組換え標準品（単位：IU）への変換により、[redacted]%の[redacted]が認められた。

回復期間終了時に、800 IU/kg 群の 10 匹中 1 匹及び 1,820 IU/kg 群の 10 匹中 3 匹が、結合 ADA 及び中和 ADA ともに陽性であった。このうち、1,820 IU/kg 群の 3 匹で、中和 ADA の明らかな高値が認められた。

以上より、ラットに TAK-755 を 800 又は 1,820 IU/kg の用量で QD、30 日間投与した結果、忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。反復投与による TAK-755 の曝露量の増加がみられた。また、1,820 IU/kg 群の少数例で結合 ADA 及び中和 ADA の発現が認められたものの、曝露量減少等の影響はなかった。NOAEL は評価した最高用量の 1,820 IU/kg であり、この用量における Day 30 の ADAMTS13 活性の雌雄合算の C_{max} 及び AUC_{24} は、109 IU/mL 及び 1,150 h*IU/mL であった。

2.6.6.3.4 雌雄 SD ラットを用いた TAK-755 の 26 週間 IV（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）

本試験の目的は、雌雄 SD ラット〔7～8 週齢、雌雄各 15 匹／群（主試験）、雌雄各 5 匹／群（回復性試験）〕に TAK-755 を Q3D で 26 週間（61 回投与）IV ボーラス投与し（投与容量 2 mL/kg）、4 週間の回復期間を設けたときの毒性及びその回復性並びに TK プロファイルを評価することであった（2.6.7.7.4、4.2.3.2-5）。TAK-755 は 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で投与した。TAK-755 に関連した影響を評価するため、生死、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理パラメータについて評価した。26 週間の投与終了時及び 4 週間の休薬期間後に、精子の運動性及び形態、器官重量、剖検所見並びに病理組織学的所見について評価した。TK（Day 1、Week 13、Week 26）並びに結合 ADA 及び中和 ADA の発現（投与前、Week 13、Week 26、回復期間後の Week 30）についても検討した。TK 解析用に TAK-755 群で雌雄各 6 匹／群、溶媒対照で雌雄各 3 匹／群を用いた。血漿中 TK 解析のため、Day 1、Day 91 及び Day 181 に血液試料を経時的〔雌雄各 3 匹／時点、投与後 0（投与前）、0.083、0.5、1、3、6、12、24、48 及び 72 時間〕に採取した。

試験期間中に雄 4 匹が計画外で安楽死もしくは死亡発見されたが、これらは TAK-755 の投与に直接関連しないと考えられた。以下この 4 匹について詳細を示す。Day 79 に雄 1 匹（400 U/kg 群）を眼病変により安楽死させた。Day 78 に、この動物は角膜に不透明な隆起部分が認められ、獣医師の検査を受けたところ、前房に混濁が認められた。Day 79 に、角膜の状態が悪化し、分泌物が認められた。獣医師は、この動物の予後は不良であると判断し、安楽死させた。病理組織学的検査では、肺に軽微なマクロファージの集簇及び多核巨細胞が認められた。眼の肉眼所見と関連する組織学的所見は認められず、この所見は TAK-755 と関連しないと判断された。Day 81 に雄 1 匹（80 U/kg 群）が死亡した。この動物では過去に一般症状の悪化は認められていなかった。本動物の病理組織学的検査は実施しなかった。Day 129 に、雄 1 匹（200 U/kg 群）が後肢の腫脹により跛行を呈したため安楽死させた。Day 127 に、獣医師は、患部を冷水に 1 日 2 回浸すよう助言した。しかし、改善は認められず、Day 129 までに膝関節に感染が認められたため、本動物を安楽死させた。病理組織学的に、後肢の軟組織に中等度の混合型炎症が認められた。Day 175 に、雄 1 匹（400 U/kg 群）が後肢の腫脹により跛行を呈したため安楽死させた。Day 172 に獣医師は、後肢を 0.05%ヒビテン（消毒薬）及び水に 1 日 1 回浸すよう助言した。しかし、改善はみられず、Day 175 までに跛行を呈し後肢は動かせなかったため、安楽死させた。後肢の腫脹は、この試験施設において、本系統のラットに時折見られるものであり、TAK-755 に関連しない所見と考えられた。

体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿量及び尿組成、精子検査（精巣上体内精子の運動性、形態及び数並びに精巣内精子細胞数）、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

ADAMTS13 活性の TK パラメータを表 2.6.6.3-5 に示した。全身曝露量は用量の増加に伴って増加した。反復投与による蓄積（蓄積比は雌雄ともに 2 倍未満）及び全身曝露量の性差は認められなかった。

表 2.6.6.3-5　雌雄 SD ラットに TAK-755 を 26 週間 IV 投与したときの血漿中 ADAMTS13 活性 TK パラメータの平均値

		80 U/kg		200 U/kg		400 U/kg	
TK パラメータ	Day	M	F	M	F	M	F
C_{max} (U/mL)	1	1.47	1.14	3.87	3.68	6.91	6.46
AUC_{72} (h*U/mL)		28.7	18.6	82.2	55.9	142	106
C_{max} (U/mL)	91	1.91	1.68	7.79	4.65	10.2	7.66
AUC_{72} (h*U/mL)		39.7	31.6	129	103	231	181
C_{max} (U/mL)	181	2.31	1.85	5.92	4.85	10.0	9.12
AUC_{72} (h*U/mL)		55.8	27.3	157	97.0	268	177

出典：4.2.3.2-5

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{72}：0 時間から 72 時間までの濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、F：雌、IV：静脈内、M：雄、TK：トキシコキネティクス

雌雄各 3 匹／時点

200 U/kg 群の 10 匹中 1 匹で、Week 13、Week 26 及び回復期間後に結合 ADA が認められた。400 U/kg 群では 10 匹中 2 匹に結合 ADA が認められた。1 匹は Week 13 及び回復後に、

他の 1 匹は Week 26 に認められた（表 2.6.6.3-6）。すべての結合 ADA 陽性動物は中和 ADA 陰性であり、TAK-755 投与後の ADAMTS13 活性に対する影響は認められなかった。

表 2.6.6.3-6　経時的な結合 ADA 陽性動物発現数

	結合 ADA 陽性動物数／群内総動物数		
Day 又は Week	80 U/kg	200 U/kg	400 U/kg
0	0/10	0/10	0/10
Week 13	0/10	1/10	1/10
Week 26（最終投与後）	0/10	1/10	1/10
Week 30（回復期間終了後）	0/10	1/10	1/10
ADA 陽性動物総計	0/10	1/10	2/10

出典：4.2.3.2-5
ADA：抗薬物抗体

以上より、TAK-755 をラットに 80、200 又は 400 U/kg の用量で Q3D、26 週間（61 回投与）投与した結果、忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。ADA は TAK-755 の曝露量に影響を及ぼさなかった。TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 400 U/kg であった。この用量における Day 181 の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 10.0 U/mL、雌で 9.12 U/mL であり、AUC_{72} は雄で 268 h*U/mL、雌で 177 h*U/mL であった。

2.6.6.3.5 雌ウサギを用いた TAK-755 の 2 週間 IV（ボーラス）投与毒性試験（GLP 非適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-6（参考）、添付資料番号 4.2.3.2-3（参考）

本試験の目的は、雌 New Zealand white ウサギ（4 匹／群）に TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、400 又は 800 U/kg の用量で Q3D、2 週間（5 回）IV ボーラス投与（投与容量：5 mL/kg）したときの毒性を評価することであった（2.6.7.6、4.2.3.2-6）。生死、臨床病理パラメータ〔血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固系検査（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）〕、体重及びフィブリノゲンに対する影響を評価した。さらに、投薬期間終了時に剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。TK、ADA の発現及びウサギ VWF マルチマーパターンも解析した。TK 解析には、TAK-755 群及び溶媒対照群とも各群 4 匹を用いた。血漿中 TK 解析用に血液試料を経時的〔Day 1 の時点：投与後 0（投与前）、1、3、24、48 及び 72 時間；Day 13 の時点：0（投与前）、投与後 1、3 及び 24 時間〕に採取した。

試験期間中に死亡は認められず、TAK-755 に関連した一般状態の変化、体重及び器官重量への影響は認められなかった。800 U/kg の 1 匹で、ヘマトクリット値の減少（38.90%から 30.30%に減少）、ヘモグロビン濃度の減少（12.30 g/dL から 9.10 g/dL に減少）及び血小板の減少（$394 \times 10^3/\mu L$ から $37 \times 10^3/\mu L$ に減少）が認められた。剖検では、皮膚、骨格筋、腋窩リンパ節及び胸腺に出血が認められた。また、TAK-755（400 又は 800 U/kg）を投与した各 4 匹中 3 匹で、病理組織学的検査において心臓の筋細胞の変性／壊死が認められ、高用量群ではその重症度がやや高かった。さらに、局所／びまん性の急性／亜急性炎症が心筋に認められた。これらの所見から TTP の発現が示唆され、これは内因性の ADAMTS13 と交差反応す

る TAK-755 に対する中和 ADA の発現に起因すると考えられた。80 U/kg 群ではこれらの変化は認められなかった。

投与期間終了時には、TAK-755 を投与したすべての動物から採取したすべての試料で結合 ADA が認められ、ADA 抗体価は概ね用量に伴って増加した。低及び中用量群（80 及び 400 U/kg）の各 4 匹中 3 匹、高用量群（800 U/kg）の 4 匹中 4 匹で中和 ADA が認められた。以上より、ADA 発現により最終投与後の曝露量は低かったため、TK 評価は初回投与後にのみ可能であった。

いずれの投与群においても、内因性ウサギ超大型 VWF マルチマーパターンの低分子化は検出されなかった。

以上、心臓の病理組織学的所見に基づく TAK-755 に関連した影響は 400 及び 800 U/kg 投与群で認められ、無影響量は 80 U/kg であった。超大型 VWF マルチマーの切断が認められないこと、結合 ADA 及び中和 ADA 陽性動物の発現率が高いこと、及び TAK-755 の反復投与後に TTP に対する感受性が亢進していることから、ウサギは、ラット及びサルと異なり、非臨床評価には適さないと考えられた。

2.6.6.3.6 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間 IV（ボーラス）投与予備毒性試験（GLP 適用試験）

：**添付資料番号 4.2.3.1-1（評価）**

本試験は、TAK-755 の毒性を評価し、雌雄カニクイザル（約 4 歳）を用いた反復投与試験に適切な用量を決定するために実施した（2.6.7.6、4.2.3.1-1）。カニクイザル〔雌雄各 2 匹／群（TAK-755 群）及び雌雄各 1 匹（溶媒対照群）〕に TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）又は 800 U/kg の用量で QW、4 週間（28 日間、計 5 回）低速 IV ボーラス投与した。投与容量は約 2 mL/kg とした。TAK-755 投与に関連した影響を評価するため、生死、一般状態、体重、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、血液ガス、尿検査、VWF 解析、結合抗体及び中和抗体、並びに器官重量について評価した。さらに、剖検及び TAK-755 を投与した動物から採取した特定の組織（副腎、脳、心臓、投与部位、腎臓、肝臓、肺、脾臓及び肉眼病変）の病理組織学的検査を最終投与後 48 時間に実施した。

死亡は認められなかった。TAK-755 投与の忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。血液学的パラメータの評価では、800 U/kg 群の雌全例で血小板の減少が認められ、総ビリルビンの増加、剖検所見及び病理組織学的変化（雌 1 匹で腎臓及び胃の赤色巣、雌 2 匹で心臓、副腎、胃、皮膚の出血／うっ血）並びに網状赤血球数の増加を伴う中等度の溶血性貧血が認められた。溶血性貧血及び貧血に関連した所見は ADAMTS13 欠乏時に臨床的にみられる影響であり、これらの所見はこれらの動物における中和 ADA 抗体価の上昇とよく相関していた。したがって、これらの所見は、試験期間終了近くでのサルの内因性 ADAMTS13 に対する交差反応性の中和抗体の発現を示唆するものであり、二次的に発現したものと考えられた。雄の 800 U/kg 群では、TAK-755 の影響は認められなかった。

結合 ADA 及び中和 ADA は 4 匹中 2 匹（いずれも雌）の動物で認められ（表 2.6.6.3-7）、上述の血液学的変化と関連していた。CHO タンパク質に対する抗体はいずれの動物及びいずれの時点においても検出されなかった。

表 2.6.6.3-7　TAK-755 に対する結合 ADA 及び中和 ADA 陽性動物数

	ADA 陽性動物数／総動物数	
動物種	結合 ADA 陽性動物	中和 ADA 陽性動物
カニクイザル	2/4	2/4

出典：4.2.3.1-1
ADA：抗薬物抗体

TAK-755 の最終投与の約 24 時間後に中和 ADA が検出されなかった 2 匹中 1 匹でカニクイザル VWF（内因性 ADAMTS13 により既に切断型を多く含む）の TAK-755 による切断亢進がみられた。

以上より、カニクイザルに TAK-755 を 800 U/kg で QW、4 週間投与したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に直接関連した有害作用は認められなかった。高用量群の雌 2 匹に認められた TTP 様症候群は、内因性 ADAMTS13 に対する交差反応性を持つ中和 ADA の発現により二次的に発現したものと考えられた。その結果、本試験後に実施する 1 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量は 400 U/kg とした（4.2.3.2-7）。TAK-755 に対する ADA の発現は、カニクイザルに異種タンパク質を反復投与したときに予想される免疫反応であり、TK 変化及び病理所見の解釈に利用される。また、動物におけるヒトタンパク質に対する抗体発現は、ヒトにおける抗体発現を予測するものではないと考えられる。したがって、この非臨床試験からヒトにおける TAK-755 の免疫原性を予測することはできなかった。

2.6.6.3.7 雌雄カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間 IV（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-7（評価）

本試験の目的は、雌雄カニクイザル〔4～5 歳、雌雄各 5 匹／群（全体）；雌雄各 2 匹／群（回復性試験）〕に TAK-755 を QW、4 週間（29 日間；Day 1、Day 8、Day 15、Day 22 及び Day 29 に投与で計 5 回）IV ボーラス投与した際、さらに 2 週間の回復期間を設けた際の毒性、安全性薬理評価項目に及ぼす影響及びその回復性並びに TK プロファイルを評価することであった（2.6.3.4、2.6.7.7.5、4.2.3.2-7）。TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で投与し、投与容量は低用量 0.223 mL/kg から高用量 1.117 mL/kg とした。TAK-755 に関連する影響を評価するため、生死、一般状態、体重、眼科学的検査、呼吸系検査、心血管系検査（投与前、Day 8 及び Day 22 の投与後、並びに回復期）、臨床病理検査、血液ガス、尿分析及び VWF マルチマー（切断）解析について評価した。さらに、生物学的解析及び TK 解析用〔ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）アッセイ〕の血漿試料を Day 1 及び Day 29 に、並びに結合 ADA、中和 ADA 及び CHO タンパク質に対する結合抗体用の血漿試料を投与前、Day 14（投与前）、Day 32 及び Day 46（回復期）に採取した。最終投与の 3 日後及び 17 日後に剖検、器官重量を測定し病理組織学的検査を実施した。TK 解析用に TAK-755 群及び溶媒対照群で雌雄各 3 匹／群を用いた。血漿中 TK 解析のため、Day 1 及び Day 29 に血液試料を経時的〔投与後 0（投与前）、0.083、3、6、12、22、40、56 及び 70 時間〕に採取した。

死亡は認められず、一般状態、体重、眼科学的検査、心電図検査、血圧、呼吸数、血液ガス分析、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、TAK-755 投与に直接起因

すると考えられる所見は認められなかった。投与部位における TAK-755 の忍容性は良好であった。

Day 30 に中用量群（200 U/kg）の雌 5 匹中 1 匹、及び高用量群（400 U/kg）の雌 5 匹中 2 匹に血小板の減少が認められた。高用量群の雌 1 匹では、溶血性貧血、血小板の顕著な減少、ビリルビン血症、乳酸脱水素酵素（LDH）遊離、及び病理組織学的所見として、肝臓における造血、心臓における髄外造血及び小血管中膜肥厚、並びに腎臓のタンパク円柱が認められた。これらの所見は TTP 様症状の特徴であり、投与期間終了時及び／又は回復期間に認められ、内因性の ADAMTS13 欠乏を示唆するものであった。これらの雌動物では試験終了時に中和 ADA 抗体価が顕著に増加し、病理組織学的変化が認められた雌 1 匹では最も高い抗体価を示したことから、これらの変化は内因性のサル ADAMTS13 との交差反応性を持つ中和 ADA の発現による二次的変化と考えられた。

Day 1 の初回投与後、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）を指標とした C_{max} 及び AUC は用量依存的に増加した。Day 29 までに中和 ADA が発現し、すべての TAK-755 群で ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の AUC_{70} 及び C_{max} が Day 1 と比較して低下した（表 2.6.6.3-8）。

表 2.6.6.3-8　雌雄カニクイザルに TAK-755 を 4 週間 IV 投与したときの ADAMTS13 活性及びタンパク質（抗原）の血漿中 TK パラメータの平均値（雌雄合算値）

		ADAMTS13 活性			ADAMTS13 タンパク質（抗原）		
TK パラメータ	Day	80 U/kg	200 U/kg	400 U/kg	80 µg/kg	200 µg/kg	400 µg/kg
実際の投与量(a)	1	80.7	202	404	61.2	153	307
C_{max}(b)		1.60	4.25	8.70	0.980	2.90	5.12
実際の AUC_{70}(c)		29.3	94.7	182	18.0	50.8	105
用量調整 AUC_{70}(d)		0.363	0.468	0.450	0.294	0.331	0.341
実際の投与量(a)	29	81.4	204	408	55.0	138	275
C_{max}(b)		1.08	0.768	5.35	0.798	1.49	2.22
実際の AUC_{70}(c)		6.35	1.22	19.6	7.19	3.31	1.93
用量調整 AUC_{70}(d)		0.078	0.006	0.048	0.131	0.024	0.007

出典：4.2.3.2-7

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{70}：0 時間から 70 時間までの濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、IV：静脈内、TK：トキシコキネティクス

実際の AUC は、実際の用量の平均値に用量で補正した AUC を乗じることにより事後的に概算した。

(a)　実際の投与単位は、活性では U/kg、タンパク質（抗原）では µg/kg である。

(b)　C_{max} の単位は、活性は U/mL、タンパク質（抗原）は µg/mL である。

(c)　AUC_{70} の単位は、活性は h*U/mL、タンパク質（抗原）は h*µg/mL である。

(d)　用量調整 AUC_{70} の単位は、活性は h*U/mL/U/kg、タンパク質（抗原）は h*µg/mL/µg/kg である。

結合 ADA の経時的発現例数の概要を表 2.6.6.3-9 に、中和 ADA の経時的発現率の概要を表 2.6.6.3-10 に示す。結合 ADA の発現は用量依存的な増加傾向を示した。低用量群（80 U/kg）の 10 匹中 4 匹（すべて Day 32）、中用量群の 10 匹中 7 匹（Day 14 に 3 匹、Day 32 に 7 匹）及び高用量群の 10 匹中 10 匹（Day 14 に 4 匹、Day 32 に 10 匹）で結合 ADA が陽性であった。中和 ADA については、Day 46 までに低用量群の 1 匹、中用量群の 6 匹及び高用量群の 8 匹が陽性であった。CHO タンパク質に対する抗体はいずれの時点においても検出されなかった。

表 2.6.6.3-9　結合 ADA 陽性動物の経時的発現数

	結合 ADA 陽性動物数／群内総動物数		
Day	80 U/kg	200 U/kg	400 U/kg
0（投与前）	0/10	0/10	0/10
14	0/10	3/10	4/10
32（最終投与後）	4/10	7/10	10/10
46（回復期間終了時）	1/4	3/4	4/4
ADA 陽性動物総計	4/10	7/10	10/10

出典：4.2.3.2-7
ADA：抗薬物抗体

表 2.6.6.3-10　中和 ADA 陽性動物の経時的発現数

	中和 ADA 陽性動物数／結合 ADA 陽性動物数		
Day	80 U/kg	200 U/kg	400 U/kg
0（投与前）	0/4	1/7	0/10
14	0/4	0/7	0/10
32（最終投与後）	1/4	4/7	7/10
46（回復期間終了時）	0/1	2/3	4/4
ADA 陽性動物総計	1	6	8

出典：4.2.3.2-7
ADA：抗薬物抗体

初回投与後、VWF マルチマー解析により、カニクイザル血漿中の内因性 VWF に対する TAK-755 の切断作用が 80 及び 400 U/kg のそれぞれ 1 及び 4 匹に認められた。Day 29 の最終投与後、80 U/kg 群の 1 匹に軽微な影響が認められたが、200 U/kg 以上の群では認められず、これは中和 ADA の発現によるものと考えられた。VWF マルチマーの解析結果については、2.6.2.2.2.7(2)で考察する。

以上より、サルに TAK-755 を 80、200 又は 400 U/kg の用量で QW、4 週間（29 日間、5 回）投与したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。TAK-755 に対する ADA の発現は、異種タンパク質をサルに反復投与したときに予想される免疫反応である。動物における ADA の発現はヒトにおける ADA の発現を予測するものではないと考えられるため、非臨床試験からヒトにおける TAK-755 の免疫原性を予測することはできなかった。TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 400 U/kg であり、この用量における Day 29 の ADAMTS13 活性の雌雄合算 C_{max} は 5.35 U/mL、雌雄合算 AUC_{70} は 19.6 h*U/mL であった。Day 29 で認められた ADAMTS13 活性及び AUC_{70} の曝露量の低値は中和 ADA によるものであり、中和 ADA は Day 32 には認められたが、Day 14 には認められなかった。したがって、Day 1 の曝露量を Day 8 の安全性薬理学的評価項目の解釈に用いるのは、適切と考えられる。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ICH S6（R1）「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」に従い、遺伝毒性試験は TAK-755 のようなバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため、実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

ICH S6（R1）に従い、がん原性試験は TAK-755 のようなバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため実施しなかった。TAK-755 による補充療法は内因性タンパク質に相当するタンパク質を使用するため、発癌性に関する懸念は少ない。ラットを用いた長期反復投与毒性試験において、TAK-755 のがん原性を示唆する前がん又はがん病変は認められなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

TAK-755 は分子量が 172 kDa のタンパク補充薬であり、このカテゴリーの薬剤は胎盤を通過しないことが多いため、生殖発生毒性の可能性は低いと予想される[2]。雌 SD ラットに、交配後から起算した妊娠(GD)21 日(GD 21)に TAK-755 を 3200 U/kg(臨床用量である 40 IU/kg の 80 倍の用量）の用量で単回投与したところ、投与 30 分後の胎児血清中濃度は母動物血清中濃度の 0.6%以下であり、TAK-755 に関連した所見（一般状態、体重増加量、摂餌量、妊娠状態又は剖検所見）は認められなかった（2.6.4 4.1、2.6.7.11、4.2.3.5.1-1）。

生殖発生毒性を評価するために、SD ラットを用いて、雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.1-2）及び出生前及び出生後の発生に関する試験（4.2.3.5.3-1）を実施した。New Zealand white ウサギを用いた 2 週間投与毒性試験（2.6.6.3.5、4.2.3.2-6）の結果、ウサギは中和 ADA の発現率が高く、反復投与時の評価に適さないと判断したため、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。ラットを用いた 1 ヵ月間及び 26 週間反復投与毒性試験において、雌雄の受胎能評価項目（生殖器官重量、精子検査及び病理組織学的検査）を検討した結果、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった(2.6.7.7.2、2.6.7.7.4、4.2.3.2-2、4.2.3.2-5）。

2.6.6.6.1 雌 SD ラットを用いた TAK-755 の IV（ボーラス）投与受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.5.1-2（評価）

本試験の目的は、雌の SD ラット（約 8～9 週齢、20 匹／群）に、交配前 2 週間、交配期間中及び約 GD 16 まで Q3D で IV ボーラス投与したときの、雌の受胎能及び妊娠に対する TAK-755 の影響を評価することであった（2.6.7.13、4.2.3.5.1-2）。TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で投与し、投与容量は 2 mL/kg とした。TAK-755 に関連する影響を評価するため、生死、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、受胎能及び交尾能、臨床検査パラメータ、ADA 解析及び評価、TK 評価並びに剖検について評価した。さらに、胚・胎児発生に関する試験パートとして、妊娠状態及び胎児の内臓／骨格検査を行うため、GD 20 に動物を安楽死させた。

TAK-755 を 400 U/kg まで投与したところ、投与に関連した一般状態の変化、体重又は摂餌量の変化、剖検所見は認められなかった。交尾行動、受胎能、性周期及び妊娠状態は群間で類似していた。胎児の内臓／骨格検査における異常及び変異の種類及び発現頻度、並びに骨化パラメータから、TAK-755 に関連した胚・胎児への影響（異常形態発生等）は示唆されなかった。

すべての用量で認められた血小板数の増加及び 400 U/kg で認められた LDH の減少は、対照群と比較した場合、概して軽度であり、本試験の対照群の血小板数の平均値が本試験の試験施設（[redacted]）の対照群の背景データの平均値よりも低かったことから、有害ではないと考えられた。

ADAMTS13 活性の TK パラメータは、表 2.6.6.6-1 に示した。ADAMTS13 活性解析により、TAK-755 群すべてで TAK-755 の曝露が認められた。血漿中 ADAMTS13 濃度−時間プロファイルは IV ボーラス投与経路から予想されるものであり、投与後の血漿中濃度の定常的な低下として特徴づけられる単相性のプロファイルを示した。反復投与後の全身曝露量は、Day 22 と Day 31/34 で概ね同程度であった。

表 2.6.6.6-1　雌 SD ラットに TAK-755 を IV 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値

TK パラメータ	Day	80 U/kg	200 U/kg	400 U/kg
$C_{(0)}$ (U/mL)	22	1.33	3.05	5.60
AUC_{54} (h*U/mL)		34.6	71.6	133
$C_{(0)}$ (U/mL)	31/34	1.08	2.43	4.41
AUC_{54} (h*U/mL)		30.4	56.0	97.6

出典：4.2.3.5.1-2

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{54}：0 時間から 54 時間までの濃度－時間曲線下面積、$C_{(0)}$：IV ボーラス投与後の初期濃度、IV：静脈内、TK：トキシコキネティクス

以上より、雌ラットに TAK-755 を 80、200 又は 400 U/kg の用量で、交配前 2 週間、交配期間中及び約 GD 16 まで Q3D で投与した結果、母動物に対する有害作用は認められず、受胎能、妊娠状態及び胎児の発達に投与に関連した影響は認められなかった。また、試験期間中、いずれの動物においても結合 ADA は検出されなかった。母動物及び胎児に対する TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 400 U/kg と判断された。この用量における Day 31/34 の ADAMTS13 活性の IV ボーラス投与後の初期濃度は 4.41 U/mL、投与後 0 から 54 時間までの AUC は 97.6 h*U/mL であった。

2.6.6.6.2 妊娠雌 SD ラットを用いた TAK-755 の IV（ボーラス）投与出生前及び出生後の発生に関する試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.5.3-1（評価）

本試験の目的は、雌 SD ラット（約 9～10 週齢、24 匹／群）に TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で、GD 6 から離乳又は授乳（LD）約 21 日（LD 21）まで Q3D で IV ボーラス投与（投与容量：2 mL/kg）したときの妊娠／分娩／授乳期ラット及び受胎から出生児の性成熟までの発達に対する影響を評価することであった（2.6.7.14、4.2.3.5.3-1）。F0 雌動物の一般状態及び体重を LD 21 まで、摂餌量は LD 14 まで観察又は測定した。離乳後の F1 動物の体重を、雄では試験終了まで、雌では交配開始まで週 1 回測定した。交配した F1 雌動物の体重は LD 21 まで測定したが、摂餌量は記録しなかった。交配した F0 及び F1 雌動物を正常分娩させ、分娩の困難又は延長があれば記録した。各腹の生存児数及び死亡児数、並びに外表異常を LD 21 まで確認した。出生児の体重は、LD 14 まで各

腹の雌雄別単位で測定し、LD 21 に個別に測定した。F1 出生児は LD 21 に離乳し、F0 母動物は離乳後の評価に選ばれなかった F1 離乳児と同時に安楽死させた。F0 母動物については剖検を実施し、各腹につき雌雄各 2 匹の出生児を剖検した。各腹から雌雄各 1 匹の F1 離乳児を残し、正常な成長、身体的及び機能的発達について調べた。離乳後の機能評価及び生殖機能を評価した。F1 成熟雌は、出生児が LD 14 に達した後に安楽死させた。F1 動物は剖検し、選択されなかった出生児は安楽死させ、外表検査のみを実施した。F2 児については、生死、外表異常及び平均同腹児体重を測定した。

F0 雌では、一般状態の変化や体重増加量、摂餌量及び血液学的パラメータに対する有害作用は認められなかった。400 U/kg 群では、対照群と比べて LDH が低かったが、対照群の背景値の範囲内であり、有害ではないと考えられた。TAK-755 は F0 雌及び F1 動物の生殖能に影響を及ぼさず、投与に起因する剖検所見は認められなかった。F1 の妊娠雌では 1 匹を安楽死させ、1 匹が死亡した。2 匹が分娩期に死亡した。80 U/kg 群の 1 匹は、膣の赤色液及び立毛などの分娩困難の徴候が認められたため、分娩終了前に安楽死させた。剖検時に後期吸収胚が 14、早期吸収胚が 1 つ認められた。200 U/kg 群の 1 匹が LD 0 に 2 児を出産後に死亡した。本動物にはこれまでに一般状態の変化は認められていなかった。剖検では、異常赤色胃内容物、肝葉の小葉構造明瞭化、海綿状肺葉、及び気管の液体貯留が認められた。これらの死亡は分娩時期前後に認められていること、400 U/kg 群の他の動物に同様の所見が認められていないことから、偶発的なものと考えられた。

F0 雌の血漿試料の ADAMTS13 活性から、すべての用量で TAK-755 の曝露が認められた。F0 母動物の結合 ADA は陰性であった。

F1 ラットでは、生存率、一般状態、体重増加量、膣開口、包皮分離、離乳前及び離乳後における身体的及び機能的検査成績並びに生殖機能（妊娠期間及び F2 同腹児数）に影響が認められなかったことから、F0 母動物への TAK-755 投与に関連した影響は認められず、剖検所見も認められなかった。

F2 出生児では、生存児体重及び外表発達に対する影響は認められなかったことから、F0 母動物に対する TAK-755 投与に関連した影響は認められなかった。

以上より、F0 動物の血漿試料中では ADAMTS13 活性が認められ、すべての用量で TAK-755 の曝露が示されたが、ADA は検出されなかった。F1 世代では、身体的及び機能的発達並びに生殖機能への影響は認められなかった。TAK-755 の母動物及び生殖に関する NOAEL は 400 U/kg であった。

2.6.6.6.3 幼若動物を用いた試験

TAK-755 のラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、並びにラットを用いた生殖発生毒性試験において毒性所見は認められなかったことから、発達中の標的器官に対する懸念はないと考えられ、幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

新生児では、若年成人群（20～35 歳）と比較して、ADAMTS13 値は通常では著しく低い。しかしながら、生後 6 ヵ月までに若年成人群の血漿中濃度と同程度になる[3]。ADAMTS13 の既知の基質は VWF のみである[1]。さらに、正期産児の血漿中 VWF 濃度は成人より高く、生後 6 ヵ月間で徐々に低下し、生後 3 週間のうちに、典型的な成人 VWF マルチマーパターンへと成熟していく[4]。これらのことから、成人と小児で TAK-755 に対する感受性に大き

な違いがあるとは考えられない。したがって、成熟動物を用いた標準的な毒性試験により、TAK-755 の投与に関連する有害事象は予測可能であり、成人の安全性データを外挿することも可能である。以上より、幼若動物を用いた試験は、小児患者集団に対する本剤の安全性に関する情報を追加するものとは考え難かった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 雌雄 New Zealand white ウサギを用いた TAK-755 の IV 投与局所刺激性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.6-1（評価）、添付資料番号 4.2.3.2-3（参考）

本試験は GLP 適用試験であり、雌雄 New Zealand white ウサギ（雌雄各 2 匹／群／投与経路）に TAK-755 を単回 IV 投与し、TAK-755 の局所刺激性を評価した（2.6.7.16、4.2.3.6-1）。TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）及び 311 U/mL の用量で、各動物の右耳に IV 投与（2 分以内）した。投与容量は 5 mL とした。陰性対照として、同容量の等張食塩水を各動物の左耳に投与した。投与後に行動を観察し、投与後 30 分間、その後投与 6 時間後まで間欠的に、また投与 24、48 及び 72 時間後に投与部位の変化の有無を確認した。

その他の投与経路〔IA 投与（2 分以内に 5 mL の容量を投与）及び PV 投与（0.5 mL をボーラス投与）〕を評価した結果、IV 投与と同様の結果が認められた。検討したいずれの投与経路においても、TAK-755 投与後の行動変化及び投与部位の肉眼的変化は認められなかった。病理組織学的検査では、投与部位の局所組織に TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

2.6.6.7.2 雄 New Zealand white ウサギを用いた TAK-755 の SC 投与局所刺激性試験（GLP 適用試験）

：添付資料番号 4.2.3.6-2（評価）

本試験は GLP 適用試験であり、雄 New Zealand white ウサギ（8 匹）に TAK-755 を単回 SC 投与し、TAK-755 の局所刺激性を評価した（2.6.7.16、4.2.3.6-2）。ウサギの脊椎の右側に TAK-755（300 IU/mL）、左側に溶媒対照（0.9%生理食塩水）をそれぞれ 1 mL SC 投与した。曝露後 Day 2 に 4 匹を、Day 5 に 4 匹を剖検した。TAK-755 に関連した所見（一般状態観察、皮膚所見、体重、体重増加量、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査）は認められなかった。以上より、ウサギに TAK-755 を 311 又は 300 IU/mL で IV、IA、PV 及び SC 投与したときの局所に対する忍容性は良好であった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

TAK-755 のその他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.9 考察及び結論

TAK-755 を反復 IV 投与したとき、ラットでは 26 週間まで、サルでは 1 ヵ月まで、TAK-755 の忍容性は良好であった。

ADA の発現による薬理学的及び毒性学的所見の解釈を補足するため、非臨床反復投与毒性試験で ADA を解析した。ヒト rADAMTS13（TAK-755）は動物にとって異種タンパク質であ

ることから、ラット及びサルに rADAMTS13 を反復投与したとき、時間及び用量依存的なヒト ADAMTS13 に対する結合抗体及び中和抗体の発現が認められた。ラットでは、結合 ADA 及び中和 ADA の発現率は低く、曝露量への影響は認められなかった。サルでは、反復投与試験で結合 ADA 及び中和 ADA の発現率が高く、一部の動物では血小板の減少、血中ビリルビン及び LDH の増加、病理組織学的所見として肝臓における造血、心臓における髄外造血及び小血管中膜肥厚、並びに腎臓のタンパク円柱が認められた。これらの所見は ADAMTS13 欠乏症で認められる臨床所見に類似していた。これらの影響はラットでは認められなかったが、ウサギを用いた予備試験では TAK-755 の反復投与により TTP 様作用が認められた。サル及びウサギでは、これらの変化は結合 ADA 及び中和 ADA の高発現、又は抗体価の高値によるものであり、内因性 ADAMTS13 に対する交差反応性中和 ADA の発現に関連すると考えられた。上記に加え、サルは投与 4 週時点、ウサギは投与 2 週後時点までに曝露量が低くなることから、サルを 4 週より長期の反復投与毒性試験に、ウサギを生殖発生毒性試験に、それぞれ用いることは適切ではないと判断された。ラットを用いて TAK-755 の慢性毒性を評価した結果、高用量においても最長 26 週間まで忍容性は良好であった。TAK-755 に対する抗体の発現は、TAK-755 などの異種ヒト組換えタンパク質をサル及びウサギに反復投与したときに予想される免疫反応であり、有害ではないと考えられた。さらに、動物での ADA の発現は、ヒトでの抗体発現を予測するものではないと考えられている〔ICH S6（R1）〕。

遺伝毒性試験及びがん原性試験は、ICH S6（R1）「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」に基づき TAK-755 などのバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため、実施しなかった。加えて、TAK-755 による補充療法は、内因性タンパク質である ADAMTS13 と同様のタンパク質を用いるため、発癌性に関する懸念は少ない。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験では、TAK-755 のがん原性を示唆する前がん又はがん病変が認められなかった。

ウサギに IV、IA、PV 及び SC 投与したとき、TAK-755 の急性期の忍容性は良好であった。

ラットを用いた雌受胎能及び初期胚発生に関する生殖発生毒性試験で、所見は認められなかった。また、ラットを用いた慢性毒性試験では、生殖器の病理組織学的検査及び精子検査を実施したが、雌雄の受胎能に関する懸念は認められなかった。また、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験で、所見は認められなかった。ラットを用いた胎盤通過分布試験では、GD 21 の胎児血清中の TAK-755 は微量（母動物血清中濃度の最大 0.6%）であった（2.6.4.4.1）。早産児、新生児及び成人の ADAMTS13 抗原量は同程度であるため[5]、ごく少量の移行は生物学的に重要ではないと考えられた。以上より、TAK-755 は受胎能及び胚発生に影響を及ぼさないと考えられる。

主要な毒性試験の NOAEL での曝露量に基づく安全域と、TAK-755 の ERT の適用用量である 40 IU/kg IV 投与時の曝露量との比較を表 2.6.6.9-1 に示す。試験終了時に高頻度で中和 ADA が認められたサルの 1 ヵ月毒性試験を除き、非臨床試験の最終投与後の C_{max} 及び AUC を用いて安全域を算出した。

TAK-755 は、cTTP 患者に対する ERT として開発しており、予防又は急性期（一時補充）投与を目的としている。急性期治療では、初回用量を 40 IU/kg とし、Day 2 に 20 IU/kg、Day 3（及び必要に応じて回復するまでのその後の投与日）に 15 IU/kg を投与することを想定している。予防治療では、40 IU/kg を Q2W 投与し、必要に応じて QW 投与も可能とする。非

臨床試験で様々な投与レジメン（QD、Q3D 又は QW 投与）を用いたこと、及び AUC の最終定量可能時点（t_{last}）（表 2.6.6.9-1 参照）が異なることから（例：AUC_{24}、AUC_{72}）、母集団薬物動態解析（第 1 相 cTTP 試験 1 試験及び実施中の第 3 相 cTTP 試験 2 試験を用いて実施した；5.3.3.5-1 参照）で得られた 40 IU/kg を IV 投与したときの定常状態における平均血漿中濃度（C_{ave}）である 0.216 IU/mL（Q2W）を用いて、非臨床データと同等の臨床 AUC を算出した。

表 2.6.6.9-1　TAK-755：NOAEL 並びに AUC 及び C_{max} に基づく安全域

添付資料番号	動物種（試験の種類）	投与レジメン	NOAEL (U/kg)	C_{max} (U/mL)	AUC_{last} (h*U/mL)	t_{last} (h)	予防的治療の安全域(a) 用量比 (U/kg)(b)	C_{max}(c)	Q2W AUC(d)
単回漸増投与									
4.2.3.1-1	サル（用量漸増）	QD	1,790(e)	33.0	654	60	45	29	50
反復投与毒性試験									
4.2.3.2-1	ラット（5 日間）	QD	400	6.04/4.30 (M/F)	83/63 (M/F)	24	10	5.4/3.8 (M/F)	16/12 (M/F)
4.2.3.2-2	ラット（28 日間）	Q3D	800	14.3	244	72	20	13	16
4.2.3.2-4	ラット（30 日間）	QD	1,820 (IU/kg)	109	1150	24	46	97	222
4.2.3.2-5	ラット（26 週間）	Q3D	400	9.56	223	72	10	8.5	14
4.2.3.2-7	サル（1 ヵ月）	QW	400	8.70(f)	182(f)	70	10	7.8	12
生殖発生毒性試験									
4.2.3.5.1-2	ラット（雌受胎能及び胚・胎児発生）	Q3D	400	4.41(g)	97.6(g)	54	10	3.9	8.4
4.2.3.5.3-1	ラット（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）	Q3D	400	4.41(h)	97.6(h)	54(h)	10	3.9	8.4

出典：4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5、4.2.3.2-7、4.2.3.5.1-2、4.2.3.5.3-1

AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{last}：投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{ave}：平均血漿中濃度、$C_{ave,ss}$：定常状態における 1 投与間隔内の平均血漿中濃度、C_{max}：最高血漿中濃度、$C_{max,ss}$：定常状態における最高血漿中濃度、cTTP：先天性血栓性血小板減少性紫斑病、F：雌、IU：国際単位、M：雄、NOAEL：無毒性量、PK：薬物動態、Q2W：2 週に 1 回、Q3D：3 日に 1 回、QD：1 日 1 回、QW：週 1 回、t_{last}：最終定量可能時点

(a) 安全域の算出に用いた 40 IU/kg の予防投与時の臨床 PK パラメータは、第 1 相 cTTP 試験 1 試験及び進行中の第 3 相 cTTP 試験 2 試験を用いて実施した母集団 PK 解析から得られたものである（5.3.3.5-1）。定常状態における $C_{max,ss}$ のモデル平均値は 1.12 IU/mL（Q2W 投与）であった。$C_{ave,ss}$ の平均値は 0.216 IU/mL（Q2W 投与）であった。急性期投与レジメンの予備的パラメータは得られていないが、AUC は予防投与時の約 2 倍になると予想される。

(b) 安全域=NOAEL の非臨床用量（U/kg）/臨床用量（40 IU/kg）

(c) 安全域=非臨床試験における NOAEL の C_{max}/臨床 C_{max}（1.12 IU/mL）

(d) 安全域=非臨床試験における NOAEL の AUC_{last}/（Q2W レジメンの 40 IU/kg の C_{ave}（0.216 IU/mL）×非臨床試験の t_{last} 値）

(e) 1,790 U/kg の忍容性は良好であった。

(f) 週 1 回投与開始時の値を用いた。Week 4 の投与後には中和抗体の発現率が高く、曝露量は低かった。

(g) 最終投与日付近での反復投与後の値；Day 31 又は Day 34。

(h) 4.2.3.5.3-1 ではトキシコキネティクスは実施されていない。値は 4.2.3.5.1-2 から引用した。

急性期投与時のモデルパラメータは得られていないが、急性期投与時の投与レジメン（Day 1 に 40 IU/kg、Day 2 に 20 IU/kg、その後は急性 TTP エピソードの回復後 2 日まで 15 IU/kg QD）の総用量 75 IU/kg は、予防投与時の 40 IU/kg のほぼ 2 倍である。したがって、急性期投与時の AUC に基づく安全域は予防投与時よりも狭いことが予想される。ラットを用いた 30 日間

及び 26 週間毒性試験の安全域が広いことを考慮すると、急性期投与レジメンはこれまでに得られた非臨床試験の情報によって裏付けられていると考えられる。

結論として、これまでに得られた非臨床安全性データは TAK-755 の製造販売承認を十分に支持するものである。

2.6.6.10 参考文献一覧

[1] Gao W, Anderson PJ, Sadler JE. Extensive contacts between ADAMTS13 exosites and von Willebrand factor domain A2 contribute to substrate specificity. Blood. 2008;112(5):1713-9.

[2] Martin PL, Breslin W, Rocca M, Wright D, Cavagnaro J. Considerations in assessing the developmental and reproductive toxicity potential of biopharmaceuticals. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(3):176-203.

[3] Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. Blood. 2001;98(9):2730-5.

[4] Manco-Johnson MJ. Development of hemostasis in the fetus and neonate. Thromb Res. 2007;119 Suppl 1:S4-S5.

[5] Strauss T, Elisha N, Ravid B, Rosenberg N, Lubetsky A, Levy-Mendelovich S, et al. Activity of Von Willebrand factor and levels of VWF-cleaving protease (ADAMTS13) in preterm and full term neonates. Blood Cells Mol Dis. 2017;67:14-7.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表....2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表....5
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表 6
2.6.7.3.1 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の AUC....6
2.6.7.3.2 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の C_{max} 8
2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧 10
2.6.7.5 単回投与毒性試験.... 12
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 13
2.6.7.7 反復投与毒性試験.... 14
2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 5 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験.... 14
2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 28 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験 16
2.6.7.7.3 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 30 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験 19
2.6.7.7.4 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 26 週間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験 22
2.6.7.7.5 反復投与毒性試験：カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験.... 25
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 29
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 30
2.6.7.10 がん原性試験.... 31
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 32
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験.... 33
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験－ラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験.... 34
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験－ラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与出生前及び出生後の発生に関する試験.... 36
2.6.7.15 新生児を用いた試験.... 38
2.6.7.16 局所刺激性試験 39
2.6.7.17 その他の毒性試験 40

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: TAK-755

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration/ Vehicle [a]	Duration of Dosing	Dose [b]	GLP [c]	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Single-Dose Toxicity									
Escalating dose	Monkey/ cynomolgus	IV/formulation buffer	Single dose	200 U/kg on Day 1 and 1790 U/kg on Day 15 [d]	Yes	[redacted]	8234215	4.2.3.1-1	評価
Repeat-Dose Toxicity									
	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	5 days (QD)	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes		527739	4.2.3.2-1	評価
	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	4 weeks (Q3D; 10 doses)	0, 80, 400, or 800 U/kg	Yes		PV2511001	4.2.3.2-2	評価
	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	30 days (QD)	0, 800 or 1820 IU/kg [e]	Yes		504247	4.2.3.2-4	評価
	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	26 weeks (Q3D)	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes		523430	4.2.3.2-5	評価
	Rabbit/ New Zealand white	IV/formulation buffer	2 weeks (Q3D; 5 doses)	0, 80, 400 or 800 U/kg [f]	No		AU0112W01	4.2.3.2-6	参考
	Monkey/ cynomolgus	IV/formulation buffer	4 weeks (QW; 5 doses)	0 or 800 U/kg [g]	Yes		8234215	4.2.3.1-1	評価
	Monkey/ cynomolgus	IV/formulation buffer	4 weeks (QW; 5 doses)	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes		8243420	4.2.3.2-7	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: TAK-755

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration/ Vehicle [a]	Duration of Dosing	Dose [b]	GLP [c]	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Genotoxicity									
No genotoxicity studies were conducted with TAK-755.									
Carcinogenicity									
No carcinogenicity studies were conducted with TAK-755.									
Reproductive and Developmental Toxicity									
Placental transfer feasibility	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	Single dose on GD 21	3200 U/kg	No	[redacted]	495388	4.2.3.5.1-1	参考
Fertility and early embryo-fetal development	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	Q3D starting 2 weeks prior to mating up to GD 16	0, 80, 200, and 400 U/kg	Yes		497081	4.2.3.5.1-2	評価
Pre-and postnatal development	Rat/ Sprague Dawley	IV/formulation buffer	Q3D from GD 6 to weaning (~LD 21)	0, 80, 200, and 400 U/kg	Yes		496821	4.2.3.5.3-1	評価
Local Tolerance									
Local tolerance	Rabbit/ New Zealand white	IV/formulation buffer IA/formulation buffer PV/formulation buffer	Single dose	0 or 311 U/mL (5 mL within 2 min [IV and IA]; 0.5 mL bolus [PV])	Yes		PV2541101	4.2.3.6-1	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: TAK-755

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration/ Vehicle [a]	Duration of Dosing	Dose [b]	GLP [c]	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Local tolerance	Rabbit/ New Zealand white	SC/0.9% sodium chloride injection, USP	Single dose	0 or 300 IU/mL (1 mL) [e]	Yes	[redacted]	L11910M-SHP655	4.2.3.6-2	評価

Other Toxicity Studies

No other toxicity studies were conducted with TAK-755.

Additional Information:

ADA: antidrug antibody; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; EDI: Edinburgh; FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practice; IA: intra-arterial; IV: intravenous(ly); LD: Lactation Day; NIBSC: National Institute for Biological Standards and Controls; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; PCS: Preclinical Services; PV: paravenous; QD: once daily; Q3D: once every third day; QW: once weekly; SC: subcutaneous; TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura; USP: United States Pharmacopoeia; VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

a. TAK-755 was formulated in sucrose, mannitol, calcium, chloride, histidine, sodium, and polysorbate 80.

b. Unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity, the highest NOAEL is underlined.

c. GLP regulations were used as applicable; GLP regulations as outlined in German Chemical Law, annex 1 to §19a Chemikalien Gesetz, July 2008; OECD principles of Good Laboratory Practice (as revised 1997) ENV/MC/CHEM(98)17; Consensus document, “The application of the OECD Principles of GLP to the organization and management of multi-site studies” ENV/JM/MONO(2002)9; The Ordinance on Standard for Conduct of Non-Clinical Studies on Safety of Drugs, Japan Ministry of Health and Welfare, Ordinance No. 21, 26 March 1997 (revised 13 June 2008); BGB1.11 450/2006: Austrian Ordinance on GLP; BGB1.11 No. 211/2000: Austrian Ordinance on GLP; The UK Good Laboratory Practice Regulations 1999 (Statutory Instrument 1999 No. 3106, as amended by Statutory Instrument 2004 No. 994); and/or the US FDA Good Laboratory Practice Regulations (21 CFR Part 58).

d. 1790 U/kg was a well-tolerated dose; no histopathology conducted.

e. The units for dose are IU/kg. Dosing was based on International Units (IU) in this study. In 2014, the World Health Organization (WHO) 1st International Standard for ADAMTS13 (NIBSC code: [redacted]) was established. As a consequence, a recombinant secondary reference standard ([redacted]) was produced internally, calibrated versus the new WHO Standard for ADAMTS13 and introduced for testing and release of material. The change from normal pooled plasma (expressed in U) to the recombinant reference standard (expressed in IU), calibrated versus the WHO Standard, resulted in a [redacted] of [redacted]% for the activity assay FRETS-VWF73.

f. 4.2.3.2-6 was a preliminary study with neutralizing ADAs noted. Histopathology related changes at >80 U/kg had TTP-like effects from ADA formation.

g. 800 U/kg QW for 4 weeks was a well-tolerated dose.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表

Test Article: TAK-755

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration/Vehicle [a]	Dose	GLP	Report	添付資料番号
Single-dose toxicity	Monkey/cynomolgus	IV/formulation buffer	200 U/kg on Day 1 and 1790 U/kg on Day 15	Yes	8234215 [b]	4.2.3.1-1
Repeat dose, 5 days	Rat/Sprague Dawley	IV/formulation buffer	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes	527739	4.2.3.2-1
Repeat dose, 4 weeks	Rat/Sprague Dawley	IV/formulation buffer	0, 80, 400, or 800 U/kg	Yes	PV2511001	4.2.3.2-2
Repeat dose, 30 days	Rat/Sprague Dawley	IV/formulation buffer	0, 800 or 1820 IU/kg [c]	Yes	504247	4.2.3.2-4
Repeat dose, 26 weeks	Rat/Sprague Dawley	IV/formulation buffer	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes	523430 [d]	4.2.3.2-5
Repeat dose, 2 weeks	Rabbit/New Zealand white	IV/formulation buffer	0, 80, 400, or 800 U/kg	No	AU0112W01	4.2.3.2-6
Repeat dose, 4 weeks	Monkey/cynomolgus	IV/formulation buffer	0 or 800 U/kg	Yes	8234215 [b]	4.2.3.1-1
Repeat dose, 4 weeks	Monkey/cynomolgus	IV/formulation buffer	0, 80, 200, or 400 U/kg	Yes	8243420	4.2.3.2-7

Additional Information:

ADA: antidrug antibody; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); NIBSC: National Institute for Biological Standards and Controls; PK: pharmacokinetic; QW: once weekly; TK: toxicokinetics; VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

a. TAK-755 was formulated in sucrose, mannitol, calcium, chloride, histidine, sodium and polysorbate 80.

b. 4.2.3.1-1 PK parameters following escalating doses of TAK-755 were included in Module 2.6.4.3.1.3. In this pilot study, in the repeat dose toxicity phase, plasma TK was not evaluated. TAK-755 at 800 U/kg QW for 4 weeks was well tolerated; however, neutralizing ADAs formed with cross-reactivity to endogenous ADAMTS13.

c. The units for dose are IU/kg. Dosing was based on International Units (IU) in this study. In 2014, the World Health Organization (WHO) 1st International Standard for ADAMTS13 (NIBSC code: [redacted]) was established. As a consequence, a recombinant secondary reference standard ([redacted]) was produced internally, calibrated versus the new WHO Standard for ADAMTS13 and introduced for testing and release of material. The change from normal pooled plasma (expressed in U) to the recombinant reference standard (expressed in IU), calibrated versus the WHO Standard, resulted in a [redacted] of [redacted]% for the activity assay FRETS-VWF73.

d. 4.2.3.2-5 TK parameters are included in Module 2.6.6.3.4.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表

2.6.7.3.1 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の AUC

		Rat		Rabbit	Monkey	
Daily Dose (U/kg)	**Day**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
			ADAMTS13 Activity AUC_{last} (h*U/mL)			
80	1	10.4 [a]	13.5 [a]	NA	22.4 (0.281) [b]	38.4 (0.469) [b]
	5	19.6 [a]	14.0 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	6.90 (0.084) [b]	5.89 (0.073) [b]
200	1	23.2 [a]	20.9 [a]	NA	93.4 (0.468) [b]	95.9 (0.467) [b]
	5	41.1 [a]	37.3 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	2.68 (0.013) [b]	0.607 (0.003) [b]
400	1	41.0 [a]	37.3 [a]	NA	175 (0.439) [b]	189 (0.461) [b]
	5	83.1 [a]	63.4 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	21.0 (0.051) [b]	18.2 (0.045) [b]
80	1	22.0 [c]	17.1 [c]	40.8 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	NA	NA	NA
	28	32.7 [c]	22.5 [c]	NC [d]	NA	NA
400	1	152 [c]	126 [c]	193.1 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	NA	NA	NA
	28	217 [c]	199 [c]	NC [d]	NA	NA
800	1	265 [c]	215 [c]	341.9 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	NA	NA	NA
	28	313 [c]	176 [c]	NC [d]	NA	NA
800 [e]	1	195.8 [f,g]		NA	NA	NA
	30	436.1 [f,g]		NA	NA	NA
1820 [e]	1	482.6 [f,g]		NA	NA	NA
	30	1153 [f,g]		NA	NA	NA

2.6.7.3.1 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の AUC（続き）

Daily Dose (U/kg)	Day	Rat		Rabbit	Monkey	
		M	F	F	M	F
		ADAMTS13 Protein AUC_{last} (h*µg/mL)				
80	1	10.3 [c]	10.7 [c]	NA	NA	NA
	28	14.9 [c]	10.8 [c]	NA	NA	NA
400	1	69.2 [c]	56.7 [c]	NA	NA	NA
	28	79.4 [c]	72.2 [c]	NA	NA	NA
800	1	139 [c]	107 [c]	NA	NA	NA
	28	148 [c]	87.0 [c]	NA	NA	NA
80	1	NA	NA	NA	16.4 (0.255) [b]	19.7 (0.339) [b]
	29	NA	NA	NA	5.25 (0.097) [b]	10.0 (0.179) [b]
200	1	NA	NA	NA	52.1 (0.323) [b]	49.5 (0.340) [b]
	29	NA	NA	NA	0.814(0.006) [b]	52.8 (0.377) [b]
400	1	NA	NA	NA	102 (0.316) [b]	107 (0.368) [b]
	29	NA	NA	NA	9.22 (0.034) [b]	0.560 (0.002) [b]

Additional Information:

ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC: area under concentration-time curve; AUC_{last}: area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last quantifiable concentration; F: female(s); FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NC: not calculated; NIBSC: National Institute for Biological Standards and Controls; QD: once daily; Q3D: once every third day; QW: once weekly; TK: toxicokinetic(s); t_{last}: time of last observed quantifiable concentration;VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

a. 4.2.3.2-1; Sprague Dawley rat (n = 3/sex/group for TK); QD for 5 days repeat-dose study; IV; t_{last} = 24 hours.

b. 4.2.3.2-7; cynomolgus monkey (n = 3/sex/group for TK); QW for 4 weeks repeat-dose study; IV; t_{last} = 70 hours. Actual AUC (dose-adjusted AUC) is shown. Actual AUCs were approximated post hoc by multiplying the mean of the actual doses with the dose-adjusted AUCs. The dose-adjusted AUC is reported with units of h*U/mL/U/kg for ADAMTS13 activity and h*µg/mL/ug/kg for ADAMTS13 protein.

c. 4.2.3.2-2; Sprague Dawley rat (n = 3/sex/group for TK); Q3D for 4 weeks repeat-dose study; IV; t_{last} = 72 hours.

d. 4.2.3.2-6; New Zealand white rabbit (n = 4/group for TK); Q3D for 2 weeks repeat-dose study; IV. The values are from Day 1 (t_{last} = 72 hours) in the study conducted in rabbits. On Day 13 (t_{last} = 24 hours), the mean AUC_{last} was NC.

e. The units for dose are IU/kg. Dosing was based on International Units (IU) in this study. In 2014, the World Health Organization (WHO) 1st International Standard for ADAMTS13 (NIBSC code: [redacted]) was established. As a consequence, a recombinant secondary reference standard ([redacted]) was produced internally, calibrated versus the new WHO Standard for ADAMTS13 and introduced for testing and release of material. The change from normal pooled plasma (expressed in U) to the recombinant reference standard (expressed in IU), calibrated versus the WHO Standard, resulted in a [redacted] of [redacted]% for the activity assay FRETS-VWF73.

f. 4.2.3.2-4; Sprague Dawley rat (n = 3-6/sex/group for TK), QD for 30 days repeat-dose study; IV; t_{last} = 24 hours.

g. The units for AUC are h*IU/mL. Sex-combined data are presented.

2.6.7.3.2 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の C_{max}

		Rat		Rabbit	Monkey	
Daily Dose (U/kg)	**Day**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
		ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL)				
80	1	0.648 [a]	0.716 [a]	NA	1.590 [b]	1.614 [b]
	5	1.31 [a]	1.06 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	1.020 [b]	1.134 [b]
200	1	1.67 [a]	1.97 [a]	NA	4.766 [b]	3.791 [b]
	5	2.85 [a]	2.74 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	1.095 [b]	0.538 [b]
400	1	3.47 [a]	2.86 [a]	NA	8.067 [b]	9.377 [b]
	5	6.04 [a]	4.30 [a]	NA	NA	NA
	29	NA	NA	NA	5.527 [b]	5.184 [b]
80	1	1.40 [c]	1.19 [c]	1.30 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	0.44 [d]	NA	NA
	28	1.65 [c]	1.14 [c]	NA	NA	NA
400	1	8.84 [c]	6.90 [c]	6.45 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	NC [d]	NA	NA
	28	8.84 [c]	8.04 [c]	NA	NA	NA
800	1	13.6 [c]	13.8 [c]	11.15 [d]	NA	NA
	13	NA	NA	NC [d]	NA	NA
	28	15.6 [c]	13.1 [c]	NA	NA	NA
800 [e]	1	15.08 [f,g]		NA	NA	NA
	30	33.74 [f,g]		NA	NA	NA
1820 [e]	1	40.62 [f,g]		NA	NA	NA
	30	108.5 [f,g]		NA	NA	NA

2.6.7.3.2 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表－TAK-755 投与後の定常状態における ADAMTS13 活性又は ADAMTS13 タンパク質の Cmax（続き）

Daily Dose (U/kg)	Day	Rat		Rabbit	Monkey	
		M	F	F	M	F
		ADAMTS13 Protein C_{max} (µg/mL)				
80	1	0.708 [c]	0.654 [c]	NA	NA	NA
	28	0.842 [c]	0.633 [c]	NA	NA	NA
400	1	3.76 [c]	4.08 [c]	NA	NA	NA
	28	4.24 [c]	4.12 [c]	NA	NA	NA
800	1	8.01 [c]	8.52 [c]	NA	NA	NA
	28	8.89 [c]	8.86 [c]	NA	NA	NA
80	1	NA	NA	NA	1.040 [b]	0.923 [b]
	29	NA	NA	NA	0.650 [b]	0.979 [b]
200	1	NA	NA	NA	3.054 [b]	2.750 [b]
	29	NA	NA	NA	1.052 [b]	2.621 [b]
400	1	NA	NA	NA	4.492 [b]	5.828 [b]
	29	NA	NA	NA	2.426 [b]	2.031 [b]

Additional Information:

ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NC: not calculated; NIBSC: National Institute for Biological Standards and Controls; QD: once daily; Q3D: once every third day; QW: once weekly; TK: toxicokinetic(s); VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

a. 4.2.3.2-1; Sprague Dawley rat (n = 3/sex/group for TK), QD for 5 days repeat-dose study; IV. C_{max} was identified in 4.2.3.2-1 as C_0, the theoretical concentration at time zero after IV bolus dosing. Predose concentrations were excluded from toxicokinetic analysis to allow plasma concentrations at time zero to be back-extrapolated based on the first 2 observed plasma concentrations for parameter estimation purposes. Where back extrapolation was not possible, C_0 was set to the concentration at the first time point postdose.

b. 4.2.3.2-7; cynomolgus monkey (n = 3/sex/group for TK); QW for 4 weeks repeat-dose study; IV.

c. 4.2.3.2-2; Sprague Dawley rat (n = 3/sex/group for TK); Q3D for 4 weeks repeat-dose study; IV.

d. 4.2.3.2-6; New Zealand white rabbit (n = 4/group for TK); Q3D for 2 weeks repeat-dose study; IV.

e. The units for dose are IU/kg. Dosing was based on International Units (IU) in this study. In 2014, the World Health Organization (WHO) 1st International Standard for ADAMTS13 (NIBSC code: [redacted]) was established. As a consequence, a recombinant secondary reference standard ([redacted]) was produced internally, calibrated versus the new WHO Standard for ADAMTS13 and introduced for testing and release of material. The change from normal pooled plasma (expressed in U) to the recombinant reference standard (expressed in IU), calibrated versus the WHO Standard, resulted in a [redacted] of [redacted]% for the activity assay FRETS-VWF73.

f. 4.2.3.2-4; Sprague Dawley rat (n = 3-6/sex/group for TK), QD for 30 days repeat-dose study; IV.

g. The units for C_{max} are IU/mL. Sex-combined data are presented.

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧

Test Article: TAK-755

Batch Number	Purity			Specified Impurities			Report	Type of Study	添付資料番号
	TAK-755 Protein (ELISA)	TAK-755 Activity (FRETS-VWF73)	Specific TAK-755 Activity [a]	Dimers (%)	Aggregates (%)	Others (%)			
					TAK-755				
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	216 µg/mL	311 U/mL	1160 U/mg	1.3	0.3	NA	PV2511001	Repeat-dose	4.2.3.2-2 (4.2.3.2-3)
							AU0112W01	Repeat-dose	4.2.3.2-6 (4.2.3.2-3)
							PV2541101	Local tolerance	4.2.3.6-1 (4.2.3.2-3)
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	4259 µg/mL [b]	3002 U/mL	705 U/mg	NA (Monomer: 94.2%)	NA	NA	495388 [b]	Placental transfer feasibility	4.2.3.5.1-1
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	299 µg/mL	358 U/mL	1394 U/mg	1.9	0.4	NA	8234215	Escalating dose and repeat-dose	4.2.3.1-1
							8243420	Repeat-dose	4.2.3.2-7
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	232.25 µg/mL	354 U/mL	1520 U/mg	2 (Dimers and aggregates combined)		NA	523430	Repeat-dose	4.2.3.2-5
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	221 µg/mL	294 U/mL	1375 U/mg	1 (Monomer: 98.6)	0.4	NA	523430	Repeat-dose	4.2.3.2-5
							496821	Pre- and postnatal development	4.2.3.5.3-1
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	200 µg/mL	252 U/mL	1246 U/mg	2.1 (Monomer: 97.2)	0.6	NA	497081	Female fertility and embryo-fetal development	4.2.3.5.1-2
							527739	Repeat-dose	4.2.3.2-1

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧（続き）

Test Article: TAK-755

Batch Number	Purity: TAK-755 Protein (ELISA)	Purity: TAK-755 Activity (FRETS-VWF73)	Purity: Specific TAK-755 Activity [a]	Specified Impurities: Dimers (%)	Specified Impurities: Aggregates (%)	Specified Impurities: Others (%)	Report	Type of Study	添付資料番号
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	211 µg/mL	364 IU/mL	1726 IU/mg	0.7	<0.1	NA	504247	Repeat-dose	4.2.3.2-4
[redacted] COA dated [redacted] 20[redacted]	177 µg/mL	316 IU/mL	1363 IU/mg	1.6	<1	NA	L11910M-SHP655	Local tolerance	4.2.3.6-2

Additional Information:

COA: certificate of analysis; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; FVII: factor VII; NA: not applicable; UV: ultraviolet; VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

[a] Specific TAK-755 activity (ratio FVII activity [FRETS-VWF73]): Total protein by UV_{280}.

[b] The protein (antigen) concentration was lower than expected following a revision in the method of measurement, in which purified rADAMTS13 reference preparation was used instead of [redacted]. 4.2.3.5.1-1 is a single-dose placental transfer feasibility study with necropsy 30 minutes post-injection.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: TAK-755

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (U/kg)	Number and Sex/Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (U/kg)	Approximate Lethal Dose (U/kg)	Noteworthy Findings [a]	Report	添付資料番号
Monkey/ cynomolgus	IV/ Sucrose, mannitol, calcium, sodium, chloride, histidine, polysorbate 80	200 U/kg on Day 1 and 1790 U/kg on Day 15	4M, 4F	NA	NA	All doses were well tolerated, with no TAK-755-related findings noted throughout the escalating dose phase of the study.	8234215	4.2.3.1-1

Additional Information:

F: female(s); IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable.

4.2.3.1-1 included an escalating dose phase of the study and a repeat-dose toxicity phase of the study. No separate single-dose (acute) toxicity study was conducted with TAK-755.

Specific TAK-755 activity (ratio FVII activity [FRETS-VWF73]): Total protein by UV_{280}.

Observed for both sexes, unless specified otherwise.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: TAK-755

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration	Dose (U/kg)	Number and Sex/Group (Tox + TK)	NOAEL (U/kg)	Noteworthy Findings [a]	Report	添付資料番号
Rabbit/New Zealand white	IV/ Sucrose, mannitol, calcium, sodium, chloride, histidine, polysorbate 80	2 weeks (Q3D; 5 doses)	0, 80, 400, or 800	4F	80 [b]	No evidence of rabbit VWF cleavage was observed. As a consequence of ADA/neutralizing antibodies, TTP-like findings (decreases in hematocrit, hemoglobin and platelets, myocyte degeneration/necrosis, myocardium inflammation) were observed in the mid- and high-dose groups (400 and 800 U/kg, respectively).	AU0112W01	4.2.3.2-6 (4.2.3.2-3)
Monkey/ cynomolgus	IV/ Sucrose, mannitol, calcium, sodium, chloride, histidine, polysorbate 80	4 weeks (QW; 5 doses)	0 or 800	Vehicle control: 1M, 1F; TAK-755: 2M, 2F	800 [c]	TAK-755 was well tolerated and did not reveal any adverse treatment-related changes in general. The formation of antibodies against TAK-755 is an expected immune response after repeated application of heterologous proteins to cynomolgus monkeys and is not regarded as adverse.	8234215	4.2.3.1-1

Additional Information:

ADA: antidrug antibody; F: female(s); IV: intravenous(ly); M: male(s); NOAEL: no-observed-adverse-effect level; Q3D: once every third day; QW: once weekly; TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura; TK: toxicokinetic(s); Tox: toxicology; VWF: von Willebrand factor.

a. Observed for both sexes, unless specified otherwise.

b. 4.2.3.2-6 was a preliminary study with neutralizing ADAs noted. Histopathology related changes at >80 U/kg had TTP-like effects from ADA formation.

c. 800 U/kg QW for 4 weeks was a well-tolerated dose.

2.6.7 反復投与毒性試験

2.6.7.1 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 5 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Initial Age: 7-8 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Method of Administration: IV
Vehicle/Formulation: Formulation buffer
Special Features: None
Study Endpoint: NOAEL (400 U/kg)

Duration of Dosing: 5 days QD
Duration of Postdose: 2 weeks
Day of First Dose (Day 0 or Day 1): Day 1

Test Article: TAK-755
Report: 527739
GLP: Yes
Location in eCTD: 4.2.3.2-1

A 5 Day Toxicity Study of BAX930 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats With a 2 Week Recovery Period

Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**200**		**400**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Toxicokinetic)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics (n = 3/sex/time point)								
ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL) [a]								
Day 1	NA	NA	0.648	0.716	1.67	1.97	3.47	2.86
Day 5	NA	NA	1.31	1.06	2.85	2.74	6.04	4.30
ADAMTS13 Activity AUC_{24} (h*U/mL)								
Day 1	NA	NA	10.4	13.5	23.2	20.9	41.0	37.3
Day 5	NA	NA	19.6	14.0	41.1	37.3	83.1	63.4
			Main					
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 5 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（続き）

A 5 Day Toxicity Study of BAX930 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats With a 2 Week Recovery Period

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		200		400	
Number of Animals (Main)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Number of Animals (Recovery)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery								
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	1	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunology								
Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Died or Euthanized Moribund	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
Animals With Binding Antibodies	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5
Animals With Neutralizing Antibodies [b]	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BAX930: TAK-755; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; QD: once daily.

a. C_{max} was identified in 4.2.3.2-1 as C_0, the theoretical concentration at time zero after IV bolus dosing. Predose concentrations were excluded from toxicokinetic analysis to allow plasma concentrations at time zero to be back-extrapolated based on the first 2 observed plasma concentrations for parameter estimation purposes. Where back extrapolation was not possible, C_0 was set to the concentration at the first time point postdose.

b. Only samples with binding antibodies were measured for neutralizing antibodies.

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 28 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Duration of Dosing: 4 weeks (Q3D; 10 doses)
Test Article: TAK-755
Initial Age: 8-10 weeks
Duration of Postdose: 2 weeks
Report: PV2511001
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Day of First Dose (Day 0 or Day 1): Day 1
GLP: Yes
Method of Administration: IV
Location in eCTD: 4.2.3.2-2 (4.2.3.2-3)
Vehicle/Formulation: Formulation buffer
Special Features: VWF multimer analysis [a]
Study Endpoint: NOAEL (800 U/kg)

28-Days Repeated Dose Toxicity of BAX930 After Intravenous Application With a Two-Week Recovery Phase in Rats

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		400		800	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Toxicokinetic)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F:3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics (n = 3/sex/time point)								
ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL)								
Day 1	NA	NA	1.40	1.19	8.84	6.90	13.6	13.8
Day 28	NA	NA	1.65	1.14	8.84	8.04	15.6	13.1
Ratio of C_{max} (Day 28/Day 1)	NA	NA	1.179	0.957	1.000	1.164	1.146	0.951
ADAMTS13 Activity AUC_{72} (h*U/mL)								
Day 1	NA	NA	22.0	17.1	152	126	265	215
Day 28	NA	NA	32.7	22.5	217	199	313	176
Ratio of AUC_{72} (Day 28/Day 1)	NA	NA	1.483	1.317	1.427	1.585	1.181	0.817
ADAMTS13 Protein C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA	NA	0.708	0.654	3.76	4.08	8.01	8.52
Day 28	NA	NA	0.842	0.633	4.24	4.12	8.89	8.86

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 28 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（続き）

28-Days Repeated Dose Toxicity of BAX930 After Intravenous Application With a Two-Week Recovery Phase in Rats

Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**400**		**800**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Ratio of C_{max} (Day 28/Day 1)	NA	NA	1.191	0.968	1.129	1.009	1.110	1.040
ADAMTS13 Protein AUC_{72} (h*µg/mL)								
Day 1	NA	NA	10.3	10.7	69.2	56.7	139	107
Day 28	NA	NA	14.9	10.8	79.4	72.2	148	87.0
Ratio of AUC_{72} (Day 28/Day 1)	NA	NA	1.445	1.006	1.147	1.275	1.063	0.811
			Main					
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm Motility and Morphology	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 28 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（続き）

28-Days Repeated Dose Toxicity of BAX930 After Intravenous Application With a Two-Week Recovery Phase in Rats

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		400		800	
Number of Animals (Main)	M: 10	F: 10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Number of Animals (Recovery)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery								
Noteworthy Findings								
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm Motility and Morphology	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunology								
Number of Animals	M: 5	F: 5	M:5	F:5	M:5	F: 5	M:5	F:5
Died or Euthanized Moribund	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Animals With Binding Antibodies	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	1/5	2/5	5/5
Animals With Neutralizing Antibodies [b]	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	1/5	1/5	2/5

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC_{72}: area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; BAX930: TAK-755; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; Q3D: once every third day; VWF: von Willebrand factor.

[a.] Analysis of VWF multimers was conducted in rats (described in Tabulated Summary 2.6.3.2.2).

[b.] Only samples with binding antibodies were measured for neutralizing antibodies.

2.6.7.7.3 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 30 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Initial Age: 8-9 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Method of Administration: IV
Vehicle/Formulation: Formulation buffer
Special Features: None
Study Endpoint: NOAEL (1820 IU/kg)

Duration of Dosing: 30 days QD
Duration of Postdose: 2 weeks
Day of First Dose (Day 0 or Day 1): Day 1

Test Article: TAK-755
Report: 504247
GLP: Yes
Location in eCTD: 4.2.3.2-4

A 30 Day Toxicity Study of SHP655 by Intravenous Administration in Rats With a 2 Week Recovery Period						
Daily Dose (IU/kg) [a]	**0 (Control)**		**800**		**1820**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**
Number of Animals (Toxicokinetic)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics (n = 2-6/sex/time point) [c]						
ADAMTS13 Activity C_{max} (IU/mL)						
Day 1	NA	NA	15.08		40.62	
Day 30	NA	NA	33.74		108.5	
Ratio of C_{max} (Day 30/Day 1)	NA	NA	2.238		2.672	
ADAMTS13 Activity AUC_{24} (h*IU/mL)						
Day 1	NA	NA	195.8		482.6	
Day 30	NA	NA	436.1		1153	
Ratio of AUC_{24} (Day 30/Day 1)	NA	NA	2.227		2.390	

2.6.7.7.3 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 30 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（続き）

A 30 Day Toxicity Study of SHP655 by Intravenous Administration in Rats With a 2 Week Recovery Period						
Daily Dose (IU/kg) [a]	**0 (Control)**		**800**		**1820**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/animal/day)	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluations						
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 30 日間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 2 週間回復性試験（続き）

A 30 Day Toxicity Study of SHP655 by Intravenous Administration in Rats With a 2 Week Recovery Period

Daily Dose (IU/kg) [a]	**0 (Control)**		**800**		**1820**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**	**M: 5 [b]**	**F: 5 [b]**
			Immunology			
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Died or Euthanized Moribund	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Animals With Binding Antibodies	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	1/5
Animals With Neutralizing Antibodies [d]	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	1/5

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); FRETS: fluorescence resonance energy transfer substrate; GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NIBSC: National Institute for Biological Standards and Controls; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; QD: once daily; SHP655: TAK-755; VWF73: von Willebrand factor peptide substrate composed of 73 amino acid residues.

a. The units for dose are IU/kg. Dosing was based on International Units (IU) in this study. In 2014, the World Health Organization (WHO) 1st International Standard for ADAMTS13 (NIBSC code: [redacted]) was established. As a consequence, a recombinant secondary reference standard ([redacted]) was produced internally, calibrated versus the new WHO Standard for ADAMTS13 and introduced for testing and release of material. The change from normal pooled plasma (expressed in U) to the recombinant reference standard (expressed in IU), calibrated versus the WHO Standard, resulted in a [redacted] of [redacted]% for the activity assay FRETS-VWF73.

b. N = 3 to 5 for the mean of some parameters in the recovery group.

c. Sex-combined data are presented.

d. Only samples with binding antibodies were measured for neutralizing antibodies.

2.6.7.7.4 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 26 週間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Initial Age: 7-8 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Method of Administration: IV
Vehicle/Formulation: Formulation buffer
Special Features: None
Study Endpoint: NOAEL (400 U/kg)

Duration of Dosing: 26 weeks (Q3D)
Duration of Postdose: 4 weeks
Day of First Dose (Day 0 or Day 1): Day 1

Test Article: TAK-755
Report: 523430
GLP: Yes
Location in eCTD: 4.2.3.2-5

A 26 Week Toxicity Study of BAX930 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats With a 4 Week Recovery Period

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		200		400	
Number of Animals (Main)	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Toxicokinetic)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics (n = 3/sex/time point)								
ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL)								
Day 1	NA	NA	1.47	1.14	3.87	3.68	6.91	6.46
Day 91	NA	NA	1.91	1.68	7.79	4.65	10.2	7.66
Day 181	NA	NA	2.31	1.85	5.92	4.85	10.0	9.12
Ratio of C_{max} (Day 91/Day 1)	NA	NA	1.300	1.479	2.013	1.264	1.468	1.186
Ratio of C_{max} (Day 181/Day 1)	NA	NA	1.576	1.629	1.529	1.317	1.446	1.412
ADAMTS13 Activity AUC_{72} (h*U/mL)								
Day 1	NA	NA	28.7	18.6	82.2	55.9	142	106
Day 91	NA	NA	39.7	31.6	129	103	231	181
Day 181	NA	NA	55.8	27.3	157	97.0	268	177
Ratio of AUC_{72} (Day 91/Day 1)	NA	NA	1.384	1.704	1.571	1.84	1.628	1.708
Ratio of AUC_{72} (Day 181/Day 1)	NA	NA	1.948	1.468	1.908	1.735	1.886	1.670

2.6.7.7.4 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 26 週間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験（続き）

A 26 Week Toxicity Study of BAX930 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats With a 4 Week Recovery Period								
Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**200**		**400**	
Number of Animals (Main)	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Main								
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund [a]	0	0	1	0	1	0	2	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/animal/day)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm Motility and Morphology	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery								
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund [a]	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 反復投与毒性試験：ラットを用いた TAK-755 の 26 週間静脈内（ボーラス）投与毒性及び 4 週間回復性試験（続き）

A 26 Week Toxicity Study of BAX930 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats With a 4 Week Recovery Period

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		200		400	
Number of Animals (Main)	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Number of Animals (Recovery)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Sperm Motility and Morphology	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Toxicokinetics								
Died or Euthanized Moribund [a]	0/3	0/3	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Immunology								
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Died or Euthanized Moribund [a]	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5
Animals With Binding Antibodies	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	0/5
Animals With Neutralizing Antibodies [b]	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC_{72}: area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; BAX930: TAK-755; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; Q3D: once every third day.

a. Four unscheduled deaths of male animals occurred during the study; these were not considered to be directly related to TAK-755 administration.

b. Only samples with binding antibodies were measured for neutralizing antibodies.

2.6.7.7.5 反復投与毒性試験：カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験

Species/Strain:	Monkey/cynomolgus	**Duration of Dosing:**	4 weeks (QW; 5 doses)	**Test Article:**	TAK-755
Initial Age:	4-5 years	**Duration of Postdose:**	2 weeks	**Report:**	8243420
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Day of First Dose (Day 0 or Day 1):**	Day 1	**GLP:**	Yes
Method of Administration:	IV (bolus)			**Location in eCTD:**	4.2.3.2-7
Vehicle/Formulation:	Formulation buffer				
Special Features:	VWF multimer analysis [a]				
Study Endpoint:	NOAEL (400 U/kg)				

BAX930 4-Week Intravenous Administration Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey, Including Cardiovascular Investigations, With a 2-Week Recovery Phase

Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**200**		**400**	
Number of Animals (Main)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Recovery)	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Number of Animals (Toxicokinetic)	**NA**	**NA**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics (n = 3/sex/time point)								
Actual dose on Day 1 (U/kg)	NA	NA	79.6	81.88	199.52	205.26	398.69	410.16
Actual dose on Day 29 (U/kg)	NA	NA	82.1	80.68	205.82	202.25	411.28	404.13
ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL)								
Day 1	NA	NA	1.590	1.614	4.766	3.791	8.067	9.377
Day 29	NA	NA	1.020	1.134	1.095	0.538	5.527	5.184
Ratio of C_{max} (Day 29/Day 1)	NA	NA	0.641	0.703	0.230	0.142	0.685	0.553
ADAMTS13 Activity AUC_{70} (h*U/mL)								
Day 1	NA	NA	22.37	38.40	93.38	95.86	175.02	189.08
Day 29	NA	NA	6.90	5.89	2.68	0.61	20.98	18.19

2.6.7.7.5 反復投与毒性試験：カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験（続き）

BAX930 4-Week Intravenous Administration Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey, Including Cardiovascular Investigations, With a 2-Week Recovery Phase								
Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**200**		**400**	
Number of Animals (Main)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Recovery)	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
ADAMTS13 Activity Dose-Adjusted AUC_{70} (h*U/mL/U/kg)								
Day 1	NA	NA	0.281	0.469	0.468	0.467	0.439	0.461
Day 29	NA	NA	0.084	0.073	0.013	0.003	0.051	0.045
Ratio of AUC_{70} (Day 29/Day 1)	NA	NA	0.300	0.155	0.027	0.007	0.115	0.097
ADAMTS13 Protein C_{max} (µg/mL)								
Actual Dose on Day 1 (µg/kg)	NA	NA	64.37	58.03	161.35	145.47	322.41	290.68
Actual Dose on Day 29 (µg/kg)	NA	NA	54.12	55.85	135.67	140.01	271.09	279.76
Day 1	NA	NA	1.040	0.923	3.054	2.750	4.492	5.828
Day 29	NA	NA	0.650	0.979	1.052	2.621	2.426	2.031
Ratio of C_{max} (Day 29/Day 1)	NA	NA	0.625	1.061	0.339	0.859	0.540	0.349
ADAMTS13 Protein AUC_{70} (h*µg/mL)								
Day 1	NA	NA	16.41	19.67	52.12	49.46	101.88	106.97
Day 29	NA	NA	5.25	10.00	0.81	52.78	9.22	0.56
Ratio of AUC_{70} (Day 29/Day 1)	NA	NA	0.379	0.526	0.019	0.880	0.107	0.004
ADAMTS13 Protein Dose-Adjusted AUC_{70} (h*µg/mL/µg/kg)								
Day 1	NA	NA	0.255	0.339	0.323	0.340	0.316	0.368
Day 29	NA	NA	0.097	0.179	0.006	0.377	0.034	0.002
Ratio of AUC_{70} (Day 29/Day 1)	NA	NA	0.379	0.526	0.019	0.880	0.107	0.004

2.6.7.7.5 反復投与毒性試験：カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験（続き）

BAX930 4-Week Intravenous Administration Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey, Including Cardiovascular Investigations, With a 2-Week Recovery Phase								
Daily Dose (U/kg)	**0 (Control)**		**80**		**200**		**400**	
Number of Animals (Main)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number of Animals (Recovery)	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
				Main				
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory Rate	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights Absolute (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
				Recovery				
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.5 反復投与毒性試験：カニクイザルを用いた TAK-755 の 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性（心血管系及び呼吸系の評価を含む）及び 2 週間回復性試験（続き）

BAX930 4-Week Intravenous Administration Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey, Including Cardiovascular Investigations, With a 2-Week Recovery Phase

Daily Dose (U/kg)	0 (Control)		80		200		400	
Number of Animals (Main)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Number of Animals (Recovery)	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Respiratory Rate	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Mean)	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunology								
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Died or Euthanized Moribund	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Animals With Binding Antibodies (After 32 Days)	0/5	0/5	2/5	2/5	4/5	3/5	5/5	5/5
Animals With Neutralizing Antibodies (After 32 Days) [a]	0/5	0/5	1/5	0/5	3/5	3/5	4/5	4/5
Animals With Binding Antibodies (After Recovery)	0/2	0/2	0/2	1/2	2/2	1/2	2/2	2/2
Animals With Neutralizing Antibodies (After Recovery) [b]	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2	2/2

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; ; AUC_{70}: area under the concentration-time curve from time 0 to 70 hours; BAX930: TAK-755; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous(ly); M: male(s); NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; QW: once weekly; VWF: von Willebrand factor.

a. Analysis of VWF multimers was conducted in cynomolgus monkeys (described in Tabulated Summary 2.6.3.2.2).

b. Only samples with binding antibodies were measured for neutralizing antibodies.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: TAK-755

Species/ Strain	Method of Administration/ (Vehicle/Formulation)	Duration	Dose (U/kg)	Number and Sex/Group	Noteworthy Findings	Report	添付資料番号	GLP
Rat/Sprague Dawley	IV/ Formulation buffer	Single dose on GD 21	0 and 3200	6F/group	A single administration of TAK-755 at a dose level of 3200 U/kg produced no clinical observations or necropsy findings that were related to treatment. ADAMTS13 protein (antigen) was not detected in the adult or fetal serum samples from the Controls (<0.0031 µg/mL). After receiving a single administration of TAK-755 at a dose level of 3200 U/kg, the adult protein (antigen) concentration in the serum samples was 19.62 to 37.09 µg/mL and in the fetus the range was 0.01 to 0.12 µg/mL (<1% of the maternal levels). Therefore, there was only minimal (and not considered biologically relevant) exposure to the fetus observed after single administration.	495388 [a]	4.2.3.5.1-1	No

Additional Information:

ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; F: female(s); GD: Gestational Day; IV: intravenous(ly).

[a] 4.2.3.5.1-1 is a single-dose placental transfer feasibility study with necropsy 30 minutes post-injection (see Tabulated Summary 2.6.5.7).

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

反復毒性試験の中で精子検査及び生殖器官の病理組織学的検査を実施した（2.6.7.7.2 及び 2.6.7.7.4 を参照）。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験－ラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験

Design Similar to ICH S5 4.1.1?:	Yes	**Duration of Dosing:**	Q3D for 2 weeks prior to mating, during mating, and up to ~GD 16	**Test Article:**	TAK-755
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley	**Day of Mating:**	GD 0	**Report:**	497081
Initial Age:	8-9 weeks	**Day of C-section:**	GD 20	**GLP:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Day of First Dose (Day 0 or Day 1)**	Day 1	**Location in eCTD:**	4.2.3.5.1-2
Method of Administration:	IV	**Vehicle/Formulation:**	Formulation buffer		
Special Features:	Hematology and Clinical chemistry (LDH)				
No-observed-adverse-effect level:					
Maternal	400 U/kg				
Fetal:	400 U/kg				

A Female Fertility and Embryo-Fetal Development Study of TAK-755 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats

Daily Dose (U/kg)		**0 (Control)**	**80**	**200**	**400**
Number of Females		**20**	**20**	**20**	**20**
Maternal	**Toxicokinetics (n = 2-3/group/time point)**				
	ADAMTS13 Activity C_{max} (U/mL) [a]				
	Day 22	NA	1.33	3.05	5.60
	Day 31/34	NA	1.08	2.43	4.41
	ADAMTS13 Activity AUC_{54} (h*U/mL)				
	Day 22	NA	34.6	71.6	133
	Day 31/34	NA	30.4	56.0	97.6
	Number Pregnant	17	18	18	17
	Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
	Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験－ラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（続き）

A Female Fertility and Embryo-Fetal Development Study of TAK-755 by Intravenous (Bolus) Injection in Rats					
Daily Dose (U/kg)		**0 (Control)**	**80**	**200**	**400**
Number of Females		**20**	**20**	**20**	**20**
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Mating Performance, Fertility, Estrous Cycles	-	-	-	-
	Mean Number Corpora Lutea	13.6	14.5	14.1	14.4
	Mean Number Implantations	13.5	14.5	14.1	14.1
	Hematology	-	-	-	-
	Clinical Chemistry				
	LDH (U/L)	-	-	-	-
	Mean Total Uterus Weight (g)	77	79	80	80
	Macroscopic Observations	-	-	-	-
	Animals With Binding Antibodies	0/20	0/20	0/20	0/20
Litters	**Number Litters Evaluated**	17	18	18	17
	Number Live Fetuses (% of Total)	226 (99%)	249 (95%)	247 (98%)	236 (98%)
	Mean Live Implants	13.3	13.8	13.7	13.9
	Mean Dead Implants	0.2	0.7	0.3	0.2
	Mean Early Embryonic Deaths	0.2	0.7	0.3	0.2
	Mean Late Embryonic Deaths	0	0	0	0
	Mean Fetal Deaths	0	0	0	0
	Mean Fetal Body Weight (g)	3.67	3.61	3.66	3.60
	Fetal Sex Ratios (M:F)	1:0.88	1:1.09	1:1.13	1:1.07
	Major Fetal Anomalies	1	0	0	1
	Minor Visceral Fetal Abnormalities [b]	37	42	24	32
	Minor Skeletal Fetal Abnormalities [b]	23	22	15	22

Additional Information:

-: no noteworthy findings; ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; AUC_{54}: area under the concentration-time curve from time 0 to 54 hours; BAX 930: TAK-755; C_{max}: maximum observed concentration; F: female(s); GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practice; ICH: International Council for Harmonisation; IV: intravenous(ly); LDH: lactate dehydrogenase; M: male(s); NA: not applicable; Q3D: once every third day.

[a.] C_{max} was identified in 4.2.3.5.1-2 as $C_{(0)}$, the theoretical concentration at time zero after IV bolus dosing. Group 1 animals (control item – BAX 930 buffer) showed an endogenous ADAMTS13 baseline activity between 0.071 and 0.287 U/mL.

[b.] The type and distribution of major fetal abnormalities, minor fetal abnormalities and variants, and skeletal ossification parameters did not indicate any association with treatment with TAK-755.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験ーラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与 出生前及び出生後の発生に関する試験

Design Similar to ICH 4.1.2?	Yes	**Duration of Dosing:**	Q3D from GD 6 to weaning or ~LD 21	**Test Article:**	TAK-755
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley	**Day of Mating:**	GD 0	**Report:**	496821
Initial Age:	9-10 weeks	**Method of Administration:**	IV (bolus)	**GLP:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	Formulation buffer	**Location in eCTD:**	4.2.3.5.3-1
Special Features:	Clinical chemistry (LDH)	**Litters Culled/Not culled**	F1 was not culled; F2 was culled at ~Day 14 of lactation.		
No-observed-adverse-effect level:					
F0 Females:	400 U/kg				
F1 Males and Females:	400 U/kg				

A Pre and Postnatal Study of BAX930 by Intravenous Administration in Rats

Daily Dose (U/kg)		**0 (Control)**	**80**	**200**	**400**
Number of F0 Females		**24**	**24**	**24**	**24**
F0 Females	**Number Pregnant**	24	22	24	24
	Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
	Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations and Necropsy	-	-	-	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Hematology	-	-	-	-
	Clinical Chemistry				
	LDH (U/L)	-	-	-	-
	Mean Duration of Gestation (Days)	21.5	21.5	21.5	21.5
	Number of Females Producing a Live Litter	24	22	23	23
	Animals With Binding Antibodies	0	0	0	0

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験－ラットを用いた TAK-755 の静脈内（ボーラス）投与
出生前及び出生後の発生に関する試験（続き）

A Pre and Postnatal Study of BAX930 by Intravenous Administration in Rats

Daily Dose (U/kg)		0 (Control)	80	200	400
Number of F0 Females		24	24	24	24
F1 Pups/Animals	Litter Size and Pup Survival	-	-	-	-
	Viable Pups at Birth	12.1	12.9	12.2	13.9
	Litter and Pup Weights	-	-	-	-
	Postnatal Physical and Functional Development	-	-	-	-
	Pup Observations and Necropsy Findings	-	-	-	-
	Clinical Observations and Necropsy Findings	-	(see additional information) [a]	(see additional information) [b]	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Assessment of Sexual Maturation	-	-	-	-
	Postweaning Functional Development	-	-	-	-
	Reproductive Performance and Litter Size	-	-	-	-
	Postweaning Survival	-	-	-	-
F2 Fetuses	Viability	-	-	-	-
	Fetal Weights				
	Abnormalities	-	-	-	-

Additional Information:

-: no noteworthy findings; BAX930: TAK-755; GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practice; ICH: International Council for Harmonization; IV: intravenous(ly); LD: Lactation Day; LDH: lactate dehydrogenase; Q3D: once every third day.

a. One animal in the 80 U/kg group was killed prematurely after showing signs of difficulty with parturition, which included red fluid at vagina and piloerection. At necropsy, the animal had 14 late embryonic deaths and one early embryonic death.

b. One animal in the 200 U/kg group was found dead on LD 0 after giving birth to 2 pups. The animal had no previous clinical observations. At necropsy, findings for the animal included abnormal red contents of the stomach, prominent lobular architecture on the liver lobes, spongy lung lobes, and fluid accumulation in the trachea.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: TAK-755

Species/ Strain	Method of Administration/ (vehicle/formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/mL)	Number and Sex per Group	Noteworthy Findings	Report	添付資料番号	GLP
Rabbit/ New Zealand white	IV, intra-arterial, and paravenous/ Formulation buffer	Single	0 or 311 U/mL (5 mL within 2 min [IV and intra-arterial]; 0.5 mL bolus [paravenous])	2/sex/group/ route	No changes in behavior and no macroscopic changes at the injection sites were observed after administration of TAK-755 for any of the administration routes tested. Histopathological examination showed no treatment-related adverse effects on the local tissue at the injection sites.	PV2541101	4.2.3.6-1 (4.2.3.2-3)	Yes
Rabbit/ New Zealand white	SC/ 0.9% sodium chloride injection, USP	Single	0 or 300 IU/mL (1 mL)	8M	No TAK-755-related findings (clinical signs, dermal observations, body weights, body weight gains, food consumption, gross necropsy findings, and histopathologic examinations) were observed.	L11910M-SHP655	4.2.3.6-2	Yes

Additional Information:

IV: intravenous(ly); M: male(s); SC: subcutaneous(ly); USP: United States Pharmacopoeia.

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当する試験は実施していない。