目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.3.1 カニクイザルを用いた 2 週間静脈内及び皮下投与毒性試験（8 週間又は 28 週間回復試験）（用量設定試験） 5
2.6.6.3.2 カニクイザルを用いた 4 週間静脈内及び 21 週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に 17 週間回復試験） 6
2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた 26 週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26 週間回復試験） 7
2.6.6.4 遺伝毒性試験 8
2.6.6.5 がん原性試験 8
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 8
2.6.6.6.1 受胎能に関する試験 8
2.6.6.6.2 カニクイザルを用いた拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験 9
2.6.6.7 局所刺激性試験 9
2.6.6.8 その他の毒性試験 9
2.6.6.8.1 組織交差反応性試験 9
2.6.6.8.2 ヒト血液適合性試験 10
2.6.6.8.3 *In vitro* サイトカイン放出試験 10
2.6.6.8.4 幼若毒性試験 10
2.6.6.9 考察及び結論 11
2.6.6.10 図表 12
2.6.6.11 参考文献 13

表一覧

表 2.6.6.1-1 クロバリマブの主要な非臨床安全性試験の一覧 3
表 2.6.6.9-1 毒性試験においてヒトのリスク評価に影響する毒性学的所見が認められなかった最高投与量における曝露量と，申請用法用量におけるヒト曝露量との比較 12

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}7d}$	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days	投与後7日までの AUC
$AUC_{0\text{-}14d}$	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 days	投与後14日までの AUC
C3	complement component 3	補体第3成分
C4	complement component 4	補体第4成分
C5	complement component 5	補体第5成分
CH50	50% hemolytic complement activity	補体価
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
ePPND	enhanced pre- and postnatal development	拡張型出生前及び出生後の発生
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IFN	interferon	インターフェロン
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL	interleukin	インターロイキン
IV	intravenous	静脈内
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
SC	subcutaneous	皮下
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

クロバリマブ（以下，本薬）の毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドラインに従い，主要な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）を遵守して，経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受入（Mutual Acceptance of Data）プログラムの加盟国で実施された。

本薬の非臨床安全性評価における適切な動物種として，以下の理由からカニクイザルを選択した。ヒト補体第5成分（C5）とカニクイザルC5は，結合エピトープにおいて高い配列相同性を示したが（95.9%），他の動物種は配列相同性が低かった（ウサギで84.3%，ブタで80.8%，ラットで80.2%，イヌで78.2%，マウスで77.7%）。本薬は，ヒト C5とカニクイザル C5に同程度の親和性で結合したが，マウス C5及びラット C5に対する結合親和性はヒト C5と比較して1/100以下であった（2.6.2.2.1）。また，*in vitro* 赤血球溶血試験で薬理活性を評価したところ，カニクイザルとヒトは同程度の補体活性阻害作用を示したが，ラット及びウサギにおける補体活性阻害作用は，ヒトと比較して1/360以下であった（2.6.2.2.2）。

反復投与毒性試験は，当初予定されていた臨床投与経路を考慮し，静脈内及び皮下投与で実施し，投与頻度は臨床投与頻度以上である週1回又は2週に1回を設定した。最終的な臨床投与経路としては，初回用量を静脈内投与（1日目）した後に反復皮下投与（2，8，15及び22日目に1回，29日目以降4週ごとに1 回）を行う。拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験は，初回に静脈内投与をした後，反復皮下投与で実施した。

本薬の主要な非臨床安全性試験の一覧を表 2.6.6.1-1に示し，結果を以下に要約する。

表 2.6.6.1-1　クロバリマブの主要な非臨床安全性試験の一覧

試験の種類及び投与期間［資料番号］	動物種又は試験系	投与経路	用量	GLP適否
反復投与毒性試験				
2週間（用量設定試験）［4.2.3.2-1］	カニクイザル	IV 及び SC	IV: 0[a], 4, 100 mg/kg/2週 SC: 4, 40 mg/kg/週	非
4週間（IV） 21週間（SC）［4.2.3.2-2］［4.2.3.2-4］［4.2.3.2-5］	カニクイザル	IV 及び SC	IV: 0[b], 10, 40, 160 mg/kg/週 SC: 0[b], 40 mg/kg/週	適
26週間［4.2.3.2-3］［4.2.3.2-6］	カニクイザル	SC 及び IV	SC[c]: 0[b], 10, 40, 100 mg/kg/週 IV: 160 mg/kg/2週	適
生殖発生毒性試験				
拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）妊娠20日から出産まで［4.2.3.5.3-1］	カニクイザル	SC	SC[c]: 0[d], 10, 100 mg/kg/週	適
その他の毒性試験				
組織交差反応性［4.2.3.7.7-2］	カニクイザル及びヒト組織	*In vitro*	1, 10 μg/mL	適
血液適合性［4.2.3.7.7-4］	ヒト血液	*In vitro*	0.172, 1.72, 17.2, 172 mg/mL	適

サイトカイン放出［4.2.3.7.7-5］	ヒト血液	*In vitro*	0.1, 1, 10, 100 μg/mL	非

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準，IV：静脈内，SC：皮下
[a] 溶媒：[redacted] mmol/L アルギニン-アスパラギン酸を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 6.0]
[b] 溶媒：[redacted] mmol/L アルギニン-アスパラギン酸及び[redacted] mg/mL ポロクサマー188を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 6.0]
[c] 初回に IV の100 mg/kg を投与した。
[d] 溶媒：[redacted] mmol/L アルギニン塩酸塩，[redacted] mmol/L 塩化ナトリウム及び[redacted] mg/mL ポロクサマー188を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 5.8]
下線付きの用量は無毒性量（NOAEL）を示す。4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験のNOAEL は10 mg/kg/週未満であった。

単回投与毒性

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の初回投与後の評価において，各試験の最高用量（静脈内投与で最大160 mg/kg/週又は160 mg/kg/2週，皮下投与で最大100 mg/kg/週）まで，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

反復投与毒性

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験として，2週間静脈内及び皮下投与毒性試験，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，26週間皮下及び静脈内投与毒性試験を行った。本薬の薬理作用である補体活性の可逆的な阻害が認められたほか，本薬と抗薬物抗体（ADA）との免疫複合体によると考えられる動脈炎や糸球体腎炎が認められ，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）は10 mg/kg/週未満，26週間皮下及び静脈内投与毒性試験における無毒性量は10 mg/kg/週であった。これらの ADA との免疫複合体を介した変化はヒトの免疫反応を予測するものではないと考えられ，ヒトのリスク評価に影響する毒性学的所見は各試験の最高用量（静脈内投与で最大160 mg/kg/週又は160 mg/kg/2週，皮下投与で最大100 mg/kg/週）まで認められていないと判断された。

遺伝毒性

本薬はバイオテクノロジー応用医薬品（以下，バイオ医薬品）であることから，医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1) ガイドライン「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」で示されている考え方に従って，遺伝毒性試験は実施していない。

がん原性

本薬はバイオ医薬品であり，カニクイザルに交差反応性を示すがマウスやラットに交差反応性を示さないことから，ICH S6 (R1)ガイドラインで示されている考え方に従って，げっ歯類を用いた標準的ながん原性試験は実施していない。

生殖発生毒性

性成熟カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験で評価した精子検査，月経サイクル，雌雄生殖器官の病理組織学的評価において，本薬投与に関連した毒性変化は検討した最高用量である皮下投与100 mg/kg/週又は静脈内投与160 mg/kg/2週まで認められなかった。

ePPND 試験において，妊娠20日目から出産までの本薬の投与は，検討した最高用量である100 mg/kg/週まで，胚・胎児発生，出産，出生後の生存，並びに出産後6カ月の観察期間における形態，身体，機能，免疫学的評価に基づいた出生児の成長及び発達に影響を及ぼさなかった。

局所刺激性

カニクイザルを用いた本薬の反復投与毒性試験（2週間静脈内及び皮下投与毒性試験，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，並びに26週間皮下及び静脈内投与毒性試験）において，静脈内及び皮下投与後の局所忍容性は良好であった。

その他の毒性

カニクイザル及びヒト組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性評価において，複数組織の血管壁内又は血管周囲に蛋白性物質の染色が認められ，この染色パターンは血漿中及び細胞外マトリックス中に存在する分泌型 C5蛋白への交差反応性と一致するものと考えられた。

本薬は，ヒト血液に対して17.2 mg/mL まで溶血作用を示さず，検討した最高濃度である172 mg/mL まで凝集作用を示さなかった。

ヒト血液を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験において，本薬のサイトカイン誘導は，低リスク対照薬として用いたセツキシマブと同程度であった。

幼若毒性

本薬の幼若毒性試験は実施していない。補体の機能と発達に関する文献情報からの知見，本薬の反復投与毒性試験及び ePPND 試験の結果，並びに臨床試験の結果に基づき，本薬の毒性は成人と小児で基本的に同等であり，小児特有の安全性の懸念は低いと考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施していない。本薬の急性毒性に関しては，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験（2週間静脈内及び皮下投与毒性試験，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，26週間皮下及び静脈内投与毒性試験）において初回投与後に一般状態，サイトカイン測定，中枢神経系，呼吸系及び心血管系の評価を実施しており，各試験の最高用量（静脈内投与で最大160 mg/kg/週又は160 mg/kg/2週，皮下投与で最大100 mg/kg/週）まで本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 カニクイザルを用いた2週間静脈内及び皮下投与毒性試験（8週間又は28週間回復試験）（用量設定試験）

（資料番号4.2.3.2-1）

1群雌雄各2例のカニクイザルに，本薬を4, 100 mg/kg で2週間に1回（計2回）静脈内投与した後，そのうち雌雄各1例について4 mg/kg では最終投与後8週間，100 mg/kg では28週間の回復期間を設けた。また，1群雌雄各1例に4, 40 mg/kg で週1回（計3回）皮下投与する群も設けた。対照群は，雌雄各1例に溶媒（[redacted] mmol/L アルギニン-アスパラギン酸を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 6.0]）を2週間に1回（計2回）静脈内投与した後，最終投与8週間後に剖検した。低用量4 mg/kg は想定薬効濃度をもとに設定し，皮下投与40 mg/kg はその10倍，静脈内投与100 mg/kg は想定臨床最大曝露の10倍の達成が予想される用量とした。回復期間は，各用量において血漿中本薬濃度の十分な低下が予想される期間を設定した。

一般状態，体重，摂餌量，神経行動学的検査，眼科学的検査，呼吸，心電図，血圧，血液学的検査，尿検査，骨髄検査，末梢血イムノフェノタイピング，血清サイトカイン測定，器官重量において，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

予想される薬理作用に一致して，投薬群全例で補体活性（*in vitro* 赤血球溶血試験で評価）が低下し，血漿中の遊離 C5濃度も用量依存的に減少した。血漿中の本薬濃度が維持されなかった4 mg/kg（静脈内投与）群の雄1例では一過性の上昇が認められた。8週間又は28週間の回復期間中に，4 mg/kg（静脈内投与）群の雌雄及び100 mg/kg（静脈内投与）群の雄1例では，これ

らの変化は回復又は回復傾向を示した。血漿中総C5濃度（本薬と結合したC5及び遊離C5を含む）は用量依存的な蓄積傾向を示した。

血液生化学検査において，4 mg/kg 静脈内投与群の雌1例で，補体活性及び C5濃度の減少とともにヒト補体第3成分（C3）及び第4成分（C4）が低値を示し，後述する本薬と ADA の免疫複合体の生成が補体経路を活性化し補体の消費を増加させた可能性が推察された。

病理組織学的検査では，100 mg/kg の静脈内投与群の雌1例において28週間の回復期間終了後に，腎臓で内膜肥厚を伴う軽度の動脈炎が観察された。また，皮下投与群の投与部位において軽度の炎症性変化（単核細胞，好中球，マクロファージの浸潤等）が認められた。

トキシコキネティクス（TK）評価において，血漿中本薬濃度の増加は両投与経路ともに用量比例的であり，明確な雌雄差は認められなかった。100 mg/kg の静脈内投与における $AUC_{0\text{-}14d}$（投与後14日までの血漿中濃度-時間曲線下面積）は雄で14800 µg•d/mL，雌で14300 µg•d/mL，40 mg/kg の皮下投与における $AUC_{0\text{-}7d}$（投与後7日までの AUC）は雄で2670 µg•d/mL，雌で2170 µg•d/mL であった。全用量において，投与後の血中で ADA 及び／又は本薬と ADA の免疫複合体が検出された。ADA の陽性反応が認められた一部の個体では，血漿中本薬濃度の低下が加速した。

以上のように，本薬の静脈内100 mg/kg 及び皮下40 mg/kg までの2週間投与による忍容性は良好であった。

2.6.6.3.2 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）

（資料番号4.2.3.2-2，4.2.3.2-4，4.2.3.2-5）

1群雌雄各6例のカニクイザルに，本薬を10, 40, 160 mg/kg で週1回4週間静脈内投与した後，そのうち雌雄各3例については最終投与後17週間の回復期間を設けた。また，雌雄各3例に40 mg/kg で週1回21週間皮下投与する群も設けた。対照群では，雌雄各3例に溶媒（[redacted] mmol/L アルギニン-アスパラギン酸及び[redacted] mg/mL ポロクサマー188を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 6.0]）を週1回4週間静脈内投与した後に剖検し，本薬の静脈内投与終了時剖検群の対照とし，別の雌雄各3例に溶媒を週1回4週間静脈内投与すると同時に週1回21週間皮下投与した後に剖検し，本薬の静脈内投与回復期間終了時剖検群及び皮下投与終了時剖検群の対照とした。静脈内投与群の低用量10 mg/kg は想定薬効濃度を超える用量を設定し，高用量160 mg/kg はヒト初回投与試験における想定臨床最大曝露（静脈内漸増投与時）の10倍以上の達成が予想される用量とした。皮下投与群の40 mg/kg はヒト初回投与試験における想定臨床曝露（反復皮下投与時）の10倍の達成が予想される用量とした。回復期間は，血漿中本薬濃度の十分な低下が予想される期間を設定した。

一般状態，体重，摂餌量，神経行動学的検査，眼科学的検査，呼吸，心電図，血圧，血液学的検査，尿検査，骨髄検査，末梢血イムノフェノタイピング，血清サイトカイン測定，器官重量において，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

予想される薬理作用に一致して，投薬群全例で補体活性 CH50が低下し，血漿中の遊離 C5濃度も用量依存的に減少した。17週間の回復期間中に，補体活性は10 mg/kg の雌雄各2例及び40 mg/kg 群の雄1例で回復又は回復傾向を示し，遊離 C5濃度も同用量で回復傾向を示した。血漿中総 C5濃度は本薬投与により蓄積傾向を示した。

本薬の静脈内投与群の投与期間期間終了時に4例（10 mg/kg 群の雌1例，40 mg/kg 群の雄1例，160 mg/kg 群の雄雌各1例）で，複数の臓器（大腿骨骨髄，盲腸，結腸，胆嚢，舌，食道，胃，十二指腸，直腸，腎臓，卵巣，卵管，膵臓，脾臓，子宮及び／又は膣）に軽微から中等度の動脈炎が観察された。また回復期間終了時の4例（10 mg/kg 群の雄1例，160 mg/kg 群の雄1例及び雌2例）においても，複数の臓器（盲腸，胆嚢，精巣上体，腎臓，膵臓，心臓及び／又は子宮）に軽微から軽度の動脈炎が観察された。病理組織学的検査では，動脈壁及び周囲に炎症性細胞浸潤が認められ，重度の出血，損傷，壊死は伴わなかった。当該個体において，一般状態

への影響や炎症反応に関連する臨床検査パラメータの変化は認められなかった。動脈炎が認められた8例中7例において，血中で本薬と ADA との免疫複合体が検出された。また，動脈炎が認められた数例の一部の組織（胆嚢，膵臓，胃，十二指腸，腎臓，子宮，膣及び精巣上体）を免疫組織化学染色により評価したところ，動脈に本薬と ADA を含む免疫複合体の沈着が示された。病理組織学的評価におけるその他の変化として，皮下投与群の投与部位において，軽微な炎症性変化（単核細胞浸潤）が認められた。

TK 評価において，血漿中本薬濃度の増加は用量比例的であり，反復投与によって蓄積が認められ，明確な雌雄差は認められなかった。全用量において，投与後の血中で ADA 及び／又は本薬と ADA の免疫複合体が検出された。静脈内投与群の10 mg/kg 及び40 mg/kg で ADA の陽性反応が認められた一部の個体では，血漿中本薬濃度の低下が加速したものの，ADA の陽性反応が認められた多くの個体では明確な曝露の低下は認められなかった。160 mg/kg の静脈内投与における4回投与後の $AUC_{0\text{-}7d}$ は雄で29900 µg•d/mL，雌で29100 µg•d/mL，40 mg/kg の皮下投与における21回投与後の $AUC_{0\text{-}7d}$ は雄で14500 µg•d/mL，雌で9700 µg•d/mL であった。

以上のように，低用量から動脈炎が認められたため，本試験における NOAEL は10 mg/kg/週未満と判断された。

2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26週間回復試験）

（資料番号4.2.3.2-3，4.2.3.2-6）

性成熟した（投与開始時3～8歳齢）1群雌雄各5例のカニクイザルに，本薬を10, 40, 100 mg/kg で週1回26週間皮下投与及び160 mg/kg で2週に1回26週間静脈内投与した。皮下投与群については初回に100 mg/kg を静脈内投与した後，2回目から皮下投与を行った。対照群では，雌雄各5例に溶媒（[redacted] mmol/L アルギニン-アスパラギン酸及び[redacted] mg/mL ポロクサマー188を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 6.0]）を初回は静脈内投与した後，週1回の皮下投与及び2週に1回の静脈内投与を行った。全群について，このうち雌雄各2例は最終投与後に26週間の回復期間を設けた。皮下投与群の低用量10 mg/kg は想定薬効濃度を超える用量を設定し，高用量100 mg/kg は計画治験における想定臨床最大曝露（反復皮下投与時）の10倍以上の達成が予想される用量とした。静脈内投与群の160 mg/kg は，試験計画時において将来的に可能性のあった想定臨床曝露（反復静脈内投与時）の10倍の達成が予想される用量とした。回復期間は，血漿中本薬濃度の十分な低下が予想される期間を設定した。

一般状態，体重，摂餌量，神経行動学的検査，眼科学的検査，呼吸，心電図，血圧，血液学的検査，骨髄検査，末梢血イムノフェノタイピング，血清サイトカイン測定，器官重量，精子検査及び月経サイクルにおいて，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

予想される薬理作用に一致して，投薬群全例で補体活性 CH50が低下し，26週間の回復期間中に10 mg/kg の雄1例と雌2例及び40 mg/kg 群の雌2例で回復又は回復傾向を示した。血漿中総C5濃度は本薬投与により蓄積傾向を示した。

本薬の投与期間終了時に4例（対照群の雌1例，100 mg/kg の雄1例，160 mg/kg の雌雄各1例）で，複数の臓器（精巣上体，膀胱，心臓，膵臓，脾臓，腎臓，子宮頚部及び／又は膣）に軽微から軽度の動脈炎が観察された。このうち160 mg/kg の雄1例では糸球体腎炎も認められ，尿潜血と高クレアチニン値を伴っていた。また回復期間終了時に4例（対照群の雄1例，40 mg/kg の雌雄各1例，160 mg/kg の雌1例）で，複数の臓器（精巣上体，胃，盲腸，脾臓，卵管，子宮，子宮頚部，膣及び／又は腎臓）に軽微から軽度の動脈炎が観察された。投与期間終了時と回復期間終了時において本薬投与群における動脈炎の頻度や重篤度に差はなく，これは本薬の血中半減期が長く，回復期間においても曝露が持続していたためと考えられる。病理組織学的評価におけるその他の変化として，皮下投与群の投与部位において，軽微な炎症性変化（単核細胞浸潤）が認められ，26週間の回復期間後に回復した。

TK 評価において，血漿中本薬濃度の増加は用量比例的であり，反復投与によって蓄積が認

められ，明確な雌雄差は認められなかった。100 mg/kg の皮下投与における26回投与後の $AUC_{0\text{-}7d}$ は雄で36100 μg•d/mL，雌で31600 μg•d/mL，160 mg/kg の静脈内投与における13回投与後の $AUC_{0\text{-}14d}$ は雄で68300 μg•d/mL，雌で69100 μg•d/mL であった。全用量において，投与後の血中で ADA 及び／又は本薬と ADA の免疫複合体が検出された。10 mg/kg 群の ADA 陽性反応が認められた一部個体では血漿中本薬濃度が低下したものの，ADA 陽性反応が認められた多くの個体では明確な曝露の低下は認められなかった。

以上のように，40 mg/kg/週以上で動脈炎や糸球体腎炎が認められたため，本試験における NOAEL は10 mg/kg/週と判断された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

本薬はバイオ医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従って，遺伝毒性試験は実施していない。一般に，高分子である IgG が DNA や他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいことから，本薬の遺伝毒性の懸念は低いと考えられた。

2.6.6.5 がん原性試験

本薬はバイオ医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従って，がん原性を評価した。本薬はカニクイザルに交差反応性を示すがマウスやラットに交差反応性を示さないことから，げっ歯類を用いた標準的ながん原性試験は実施していない。本薬のがん原性は，補体 C5の機能と作用機序に関する知見，本薬の反復投与毒性試験及び臨床試験の結果から評価した[1)]。

補体の機能に関する一般的知見及び文献情報からは，補体ががん細胞の認識と除去機能の一端を担うと考えられることから，C5の阻害ががんの増殖を促進する方向に作用する理論的可能性は否定できないものの，最近の研究では，補体が炎症反応やがん微小環境における免疫抑制において担う役割から，C5の阻害ががんを抑制する方向に作用する可能性が示されている[2)-5)]。C5欠損に関する情報としては，先天的な C5欠損患者において，通常 C5によってオプソニン化・除去される髄膜炎菌をはじめとするナイセリア属の菌への易感染性及びその高い再発率が知られている[6)7)]。また C5欠損マウスでは，有糸分裂活性の減弱によって肝障害誘発後の肝臓再生能に不全が起こることが報告されている[8)9)]。C5の欠損や機能異常に関する報告の中で発がんに関するリスクは示唆されていない。

本薬のカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査において，本薬投与に関連した増殖性変化（細胞肥大，細胞過形成，前がん病変及び腫瘍）は認められず，また薬理作用である補体活性の可逆的な阻害が確認された以外に，本薬投与に関連した免疫調節作用や免疫毒性（血液学的検査，血清サイトカイン検査，末梢血イムノフェノタイピング及びリンパ系組織における病理組織学的検査から評価）又は内分泌系への影響（ホルモン様作用を示す生物活性）も認められなかった。これまでに得られた本薬の臨床試験データにおいて，発がん性は示唆されていない（2.7.4）。これらの総合的評価に基づき，本薬の発がんリスクは低いと考えられた。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能に関する試験

（資料番号4.2.3.2-3）

ICH S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従って，性成熟カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験において，雌雄の受胎能に対する影響を評価した。精子検査（精液容量，精子数，形態及び運動能），月経サイクル，雌雄生殖器官の病理組織学的評価において，本薬投与に関連した毒性変化は検討した最高用量である皮下投与100 mg/kg/週又は静脈内投与160 mg/kg/2週まで認められなかった（2.6.6.3.3参照）。

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

（資料番号4.2.3.5.3-1）

各群16例の妊娠雌カニクイザルに，本薬を100 mg/kg の用量で初回（妊娠20日目）に静脈内投与した後，10, 100 mg/kg の用量で週1回出産まで皮下投与し，胚・胎児発生，出産，出生後の生存，出生児の成長及び発達に及ぼす影響を評価した。対照群では，溶媒（[redacted] mmol/L アルギニン塩酸塩，[redacted] mmol/L 塩化ナトリウム及び[redacted] mg/mL ポロクサマー188を含む[redacted] mmol/L ヒスチジン-アスパラギン酸緩衝液 [pH 5.8]）を初回に静脈内投与後，週1回皮下投与を行った。

評価は母動物の一般状態，体重，血液生化学的検査，血液学的検査，CH50測定，超音波検査による妊娠状態及び胚・胎児死亡の有無の確認，出産，出産後181±1日目までの出生児の生存，一般状態，体重，外表検査，形態計測，神経行動学的検査，筋力検査，骨格発達検査，血液生化学的検査，血液学的検査，CH50測定，末梢血イムノフェノタイピング，T 細胞依存性抗体産生検査（TDAR）並びに病理組織学的検査に基づいて行った。本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

予想される薬理作用に一致して，投薬期間中に両投薬群で補体活性 CH50が低下し，投薬終了後の期間において回復又は回復傾向を示した。血漿中総 C5濃度は本薬投与により蓄積傾向を示した。出生児に本薬の血漿中曝露が確認されたことから，妊娠カニクイザルにおける本薬の胎盤通過性が示された。100 mg/kg 群の出生児では出生後42日目に CH50が低下し，出産後181±1日目までの期間内に溶媒対照群と同程度にまで回復したが，10 mg/kg 群では変化が認められなかった。

母動物における妊娠139日目の $AUC_{0\text{-}7d}$ は10 mg/kg で3580 µg•d/mL，100 mg/kg で26400 µg•d/mL であった。両投与群において投与後の血中で ADA が検出されたが，ADA 陽性個体の多くでは曝露への明確な影響は認められなかった。出生児においても両投与群の血中で ADA が検出されたが，曝露への明確な影響は認められなかった。

以上のことから，本試験における NOAEL は100 mg/kg/週と判断された。

2.6.6.7 局所刺激性試験

（資料番号4.2.3.2-1, 4.2.3.2-2, 4.2.3.2-3）

カニクイザルを用いた本薬の反復投与毒性試験（2週間静脈内及び皮下投与毒性試験，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，並びに26週間皮下及び静脈内投与毒性試験）において，静脈内及び皮下投与後の局所忍容性は良好であった。これらの試験で用いた製剤中の本薬濃度は，臨床製剤及び市販予定の製剤中濃度（いずれも170 mg/mL）以上であった。また，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，並びに26週間皮下及び静脈内投与毒性試験では，第 I／II 相臨床試験用製剤と同処方の製剤を用いた。反復皮下投与後に投与部位に軽微から軽度の可逆的な炎症性変化が認められたが，蛋白質製剤の皮下投与による投与部位反応は一般に認められることから，本薬特異的な変化ではないと考えられた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 組織交差反応性試験

（資料番号4.2.3.7.7-2）

カニクイザル及びヒトの組織パネルを用いて本薬の *in vitro* 組織交差反応性を評価した。ヒトでは副腎，結腸，眼，卵管，小腸，胃，心臓，腎臓，肝臓，リンパ節，卵巣，膵臓，下垂体，脾臓，精巣，甲状腺，尿管及び子宮において，カニクイザルでは卵巣及び子宮において，組織の血管壁内又は血管周囲に蛋白性物質の染色が認められた。この染色パターンは，血漿中及び細胞外マトリックス中に存在する分泌型 C5蛋白への交差反応性と一致するものと考えられた。

2.6.6.8.2 ヒト血液適合性試験

（資料番号4.2.3.7.7-4）

健康な供血者6例から採取したヒト血液での溶血性及び凝集性を評価した。本試験で用いた製剤中の本薬濃度は，臨床製剤及び市販予定の製剤中濃度（いずれも170 mg/mL）以上であり，また処方は第 I／II 相臨床試験用製剤と同じであった。172 mg/mL では6例中2例でヘモグロビン濃度の上昇を伴わないごく軽微な赤色調変化が認められたものの，17.2 mg/mL まで溶血作用は認められなかった。また，検討した最高濃度である172 mg/mL まで凝集作用は認められなかった。

2.6.6.8.3 *In vitro* サイトカイン放出試験

（資料番号4.2.3.7.7-5）

ヒトの初回投与時におけるサイトカイン放出症候群の潜在的リスクを評価するため，健康な供血者30例から採取したヒト血液を用いて，サイトカイン放出を *in vitro* で評価した。血液サンプルに本薬を添加し（最終濃度0.1, 1 10, 100 μg/mL），24時間インキュベート後にインターロイキン（IL）-6, IL-8, 腫瘍壊死因子（TNF）-α, インターフェロン（IFN）-γ の濃度を測定した。臨床でのサイトカイン放出に関する高リスク対照薬として Lemtrada®（アレムツズマブ），低リスク対照薬として Erbitux®（セツキシマブ）を用いた[10)]。本薬により誘導されたサイトカインのパターン，反応レベルの絶対値及び陽性反応の頻度はセツキシマブと同程度であった。したがって，本薬のヒトへの初回投与時にサイトカイン放出症候群が発生するリスクは，低リスク対照薬として用いた抗体医薬品と同程度であると考えられた。

2.6.6.8.4 幼若毒性試験

本薬の幼若毒性試験は実施していない。本薬の小児に対する安全性は，補体の機能と発達に関する知見，並びにこれまでに得られた非臨床試験結果及び臨床試験結果から評価した。

補体は胎児期から生成され，出生時点である程度の量が体内に存在し，出生後早期に成熟に至る。健康ヒト新生児の臍帯血における C5濃度は成人の血中 C5濃度範囲の低濃度の領域と大きく重なること[11)]，ヒトにおいて血中 C5濃度及び補体活性 CH50レベルは出生後継時的に増加し，1年未満で成人の血中レベルにまで達すること[12)]が報告されている。C5阻害による影響に関しては，先天的な C5欠損患者における易感染性リスクとともに [6)7)]，C5濃度は正常であるものの C5の機能異常をもつ，小児の疾患である Liner 病の患者においても，主にグラム陰性菌への易感染性及び高い再発率が報告されている[13)14)]。C5欠損に関してヘテロ接合型のヒトでは，C5レベルが正常の約半分であるが，特筆すべき臨床症状はみられていない[15)]。このことから，C5の機能は年齢によって大きな違いはなく，C5の阻害による本薬の潜在的な易感染性のリスクは，成人と小児に同様に該当すると考えられる。その他の情報として，C5欠損マウスでは，有糸分裂活性の減弱によって，肝障害誘発後の肝臓再生能に不全が起こることが報告されているが[8)9)]，C5の欠損や機能異常に関する報告の中で，小児の成長及び発達に関連する影響は示唆されていない。

本薬のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験では，4週間静脈内投与及び21週間皮下投与試験（3～4歳齢の young adult カニクイザルを使用）及び26週間反復投与試験（3～8歳齢の性成熟したカニクイザルを使用）を実施し，薬理作用である補体活性の阻害が認められた以外に，ヒトのリスク評価に影響する毒性学的所見は認められていない。また，カニクイザルを用いた ePPND 試験において，妊娠20日目から出産までの本薬の投与によって，母動物とともに出生児においても補体活性の低下が認められたが，胚・胎児発生，出産，出生後の生存，また，出生後6カ月までの観察期間において出生児の成長及び発達に影響は認められなかった。これらの反復投与毒性試験及び ePPND 試験の結果は，本薬の青年期及び出生後早期の小児に対する安全性をサポートするものと考えられる。

また，これまでに得られた臨床試験データから，本薬の安全性が小児と成人で異なる可能性は示唆されていない（2.7.4.5.1.1.1）。

以上のことから，本薬の毒性は成人と小児で基本的に同等であり，小児特有の安全性の懸念は低いと考えられる。

2.6.6.9 考察及び結論

本薬の反復投与毒性試験として，2週間静脈内及び皮下投与毒性試験，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，並びに26週間皮下及び静脈内投与毒性試験を実施して，一般毒性を評価した。予想される薬理作用と一致して，各試験の全投薬群で投与期間中に補体活性の低下が認められ，回復期間では投与量及び血中曝露に応じた回復傾向を示した。これら試験の安全性薬理評価項目（心血管系，呼吸系及び中枢神経系に対する影響）において，本薬投与に起因する毒性変化は認められなかった。皮下投与部位に軽微から軽度の炎症性変化が認められたが，これは蛋白質製剤の皮下投与による一般的な投与部位反応であると考えられ，静脈内投与及び皮下投与による投与部位の局所忍容性は概して良好であった。全試験の投薬群において血中でADA 及び／又は本薬と ADA の免疫複合体が検出された。ADA 陽性の一部個体では血中本薬濃度の低下を伴ったものの，多くの個体では血中曝露への明確な影響は認められなかった。全試験の投薬群の複数用量の一部個体において，複数の組織で軽微から中等度の動脈炎が認められ，26週間試験の1例では糸球体腎炎も併発した。カニクイザルでは自然発生性の動脈炎の報告があり[16]，対照群での発現も認められているものの，4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験，並びに26週間皮下及び静脈内投与毒性試験では投薬群での発生頻度が多く，本薬投与との関連が考えられた。4週間静脈内投与試験と比較して，26週間試験において投与期間の長期化による動脈炎の頻度や重篤度への明らかな影響は認められなかった。カニクイザルに生物製剤を投与した際，生物製剤に対する抗体反応として免疫複合体の形成及び沈着が生じ，III 型過敏症反応による組織傷害として血管炎や糸球体腎炎が認められる場合があることが報告されている[17)-21)]。4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験において動脈炎が認められた数例の一部の組織（胆嚢，膵臓，胃，十二指腸，腎臓，子宮，膣及び精巣上体）を免疫組織化学染色により評価したところ，動脈に本薬と ADA を含む免疫複合体の沈着が示された。これらのことから，本試験で認められた動脈炎や糸球体腎炎は，本薬による直接的な毒性ではなく，本薬とADA との免疫複合体によって生じた変化である可能性が高いと考えられた。蛋白質の構造には種差があり，抗ヒト C5抗体である本薬の構造はカニクイザルでは異物として認識されることから，カニクイザルでみられた免疫原性及び免疫複合体によるものと考えられる変化は，ヒトの免疫反応を予測するものではないと考えられる。以上のことから，カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験における NOAEL は10 mg/kg/週未満，また26週間皮下及び静脈内投与毒性試験における NOAEL は10 mg/kg/週であったものの，ヒトのリスク評価に影響する毒性変化は各試験の検討した最高用量まで認められていないと判断された。

本薬の生殖発生毒性について，性成熟カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内反復投与毒性試験の精子検査，月経サイクル，雌雄生殖器官の病理組織学的評価において，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。また ePPND 試験において，妊娠20日目から出産までの本薬の投与は，検討した最高用量まで，胚・胎児発生，出産，出生後の生存，並びに出産後6カ月の観察期間における形態，身体，機能，免疫学的評価に基づいた出生児の成長及び発達に影響を及ぼさなかった。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験及び ePPND 試験において，ヒトのリスク評価に影響する毒性学的所見が認められなかった最高投与量における曝露量と，申請用法用量におけるヒトの曝露量を比較した（表 2.6.6.9-1）。申請用法用量として，患者の体重を考慮し，初回（1日目）に1回1,000又は1,500mg を点滴静注し、2，8，15及び22日目に1回340mg，29日目以降4週ごとに1回680又は1,020mg を皮下投与する。

26週間反復投与毒性試験における皮下投与又は静脈内投与条件の最高投与量における曝露

量（C_{max} 及び AUC）又は ePPND 試験における最高投与量における曝露量は，申請用法用量におけるヒトの曝露量と比較して，それぞれ16倍及び13倍以上の安全域が確保されている。

表 2.6.6.9-1 毒性試験においてヒトのリスク評価に影響する毒性学的所見が認められなかった最高投与量における曝露量と，申請用法用量におけるヒト曝露量との比較

動物種		カニクイザル		カニクイザル
試験の種類		26週間投与毒性試験		ePPND 試験
投与経路，投与頻度，投与量		100 mg/kg（初回投与，静脈内），その後100 mg/kg/週（週1回，皮下投与）	160 mg/kg/2週（2週に1回，静脈内投与）	100 mg/kg（初回投与，静脈内），その後100 mg/kg/週（週1回，皮下投与）
C_{max} [a] (μg/mL)	雄平均/雌平均	5430/4960	8180/7570	-/4310
	ヒトに対するカニクイザルの曝露量比（雄平均/雌平均）[b]	17.9/16.3	27.0/24.9	-/14.2
AUC [a] (μg•d/mL)	雄平均/雌平均	36100/31600	68300/69100	-/26400
	ヒトに対するカニクイザルの曝露量比（雄平均/雌平均）[b]	18.4/16.1	17.4/17.6	-/13.4

AUC=血漿中濃度-時間曲線下面積; C_{max}=最高血漿中濃度;

[a] 26週間毒性試験については，皮下投与群の26回投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7d}$ 又は静脈内投与群の13回投与後の C_0及び $AUC_{0\text{-}14d}$ の値を用いて，ADA 陽性の個体を除いて算出した。ePPND 試験については，妊娠139日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7d}$ の値を用いた。

[b] ヒトの曝露については，申請用法用量と同レジメンの国際共同第 III 相試験（BO42162試験のランダム化群）において母集団薬物動態解析により算出した定常状態時の薬物動態パラメータの中央値として，C_{max} (303 μg/mL)及び $AUC_{0\text{-}28d.}$ (7830 μg•d /mL)を用いた（2.7.2.2.3.2.1，表2.7.2.2.3.2.1-1）。AUC の曝露量比は投与期間の補正を行って算出した。

その他の試験として，カニクイザル及びヒト組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性評価において，複数組織の血管壁内又は血管周囲に蛋白性物質の染色が認められ，この染色パターンは血漿中及び細胞外マトリックス中に存在する分泌型 C5蛋白への交差反応性と一致するものと考えられた。また，ヒト血液を用いた血液適合性試験において，本薬は17.2 mg/mL まで溶血作用を示さず，検討した最高濃度である172 mg/mL まで凝集作用を示さなかった。ヒト血液を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験において，本薬のサイトカイン誘導は，低リスク対照薬として用いたセツキシマブと同程度であった。本薬の幼若毒性試験は実施していないが，補体の機能と発達に関する知見並びにこれまでに得られた非臨床試験結果及び臨床試験結果に基づき，小児特有の安全性の懸念は低いと考えられる。

以上の非臨床試験で得られた安全性プロファイルから，発作性夜間ヘモグロビン尿症に対する新規治療薬として，申請用量・用法における本薬の製造販売承認申請が支持されると考えられる。

2.6.6.10 図表

本文中に挿入した。

2.6.6.11 参考文献

1) Crovalimab (RO7112689) がん原性評価文書，20■
2) Pio R., Ajona D., Lambris JD. Complement inhibition in cancer therapy. Semin Immunol 2013;25(1):54-64.
3) Afshar-Kharghan V. The role of the complement system in cancer. J Clin Invest 2017;127(3):780-789.
4) Bareke H, Akbuga J. Complement system's role in cancer and its therapeutic potential in ovarian cancer. Scand J Immunol 2018;88(1):e12672.
5) Darling VR, Hauke RJ, Tarantolo S, Agrawal DK. Immunological effects and therapeutic role of C5a in cancer. Expert Rev Clin Immunol 2015;11(2):255-63.
6) Whaley K., Schwaeble W. Complement and complement deficiencies. Semin Liver Dis 1997;17(4):297-310.
7) Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, Truedsson L. Complement deficiency states and associated infections. Mol Immunol 2011;48(14):1643-55.
8) Mastellos D, Papadimitriou JC, Franchini S, Tsonis PA, Lambris JD. A novel role of complement: mice deficient in the fifth component of complement (C5) exhibit impaired liver regeneration. J Immunol 2001;166(4):2479-86.
9) Strey CW, Markiewski M, Mastellos D, Tudoran R, Spruce LA, Greenbaum LE, et al. The proinflammatory mediators C3a and C5a are essential for liver regeneration. J Exp Med 2003;198(6):913-23.
10) Bailey L, Moreno L, Manigold T, Krasniqi S, Kropshofer H, Hinton H, et al. A simple whole blood bioassay detects cytokine responses to anti-$CD28_{SA}$ and anti-CD52 antibodies. J Pharmacol Toxicol Methods. 2013;68(2):231-9.
11) Sonntag J, Brandenburg U, Polzehl D, Strauss E, Vogel M, Dudenhausen JW, et al. Complement system in healthy term newborns: reference values in umbilical cord blood. Pediatr Dev Pathol 1998;1:131-5.
12) Fireman P, Zuchowski DA, Taylor PM. Development of human complement system. J Immunol 1969;103:25-31.
13) Johnston RB, Jr. The complement system: physiology, disorders, and activity in the newborn infant. Mead Johnson Symp Perinat Dev Med 1986;24:7-12.
14) Guenther LC. Inherited disorders of complement. J Am Acad Dermatol 1983;9(6):815-39.
15) Delgado-Cerviño E, Fontán G, López-Trascasa M. C5 complement deficiency in a Spanish family. Molecular characterization of the double mutation responsible for the defect. Mol Immunol 2005 ;42(1):105-11.
16) Chamanza R, Parry NM, Rogerson P, Nicol JR, Bradley AE. Spontaneous lesions of the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates. Toxicol Pathol 2006;34(4):357-63.
17) Heyen JR, Rojko J, Evans M, Brown TP, Bobrowski WF, Vitsky A, et al. Characterization, biomarkers, and reversibility of a monoclonal antibody-induced immune complex disease in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Toxicol Pathol 2014;42(4):765-73.
18) Leach MW, Rottman JB, Hock MB, Finco D, Rojko JL, Beyer JC, et al. Immunogenicity/hypersensitivity of biologics. Toxicol Pathol 2014;42(1):293-300.
19) Ponce R, Abad L, Amaravadi L, Gelzleichter T, Gore E, Green J, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: assessment and interpretation of nonclinical safety studies. Regul Toxicol Pharmacol 2009;54(2):164-82.
20) Rojko JL, Evans MG, Price SA, Han B, Waine G, DeWitte M, et al. Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: review and case studies. Toxicol Pathol 2014;42(4):725-64.
21) Frazier KS, Engelhardt JA, Fant P, Guionaud S, Henry SP, Leach MW, et al. Scientific and regulatory policy committee points-to-consider paper: drug-induced vascular injury associated with nonsmall

molecule therapeutics in preclinical development: Part I. Biotherapeutics. Toxicol Pathol 2015;43(7):915-34.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 11
2.6.7.6.1 カニクイザルを用いた 2 週間静脈内及び皮下投与毒性試験（8 週間又は 28 週間回復試験）（用量設定試験） 11
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 12
2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた 4 週間静脈内及び 21 週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に 17 週間回復試験） 12
2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた 26 週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26 週間回復試験） 16
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 19
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 19
2.6.7.10 がん原性試験 19
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 19
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 19
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 19
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 20
2.6.7.15 新生児を用いた試験 23
2.6.7.16 局所刺激性試験 23
2.6.7.17 その他の毒性試験 24
2.6.7.17.1 組織交差反応性試験（予備試験） 24
2.6.7.17.2 組織交差反応性試験 25
2.6.7.17.3 ヒト血液適合性試験（予備試験） 26
2.6.7.17.4 ヒト血液適合性試験 27
2.6.7.17.5 *In vitro* サイトカイン放出試験 28

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}7d}$	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days	投与後7日までの AUC
$AUC_{0\text{-}14d}$	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 days	投与後14日までの AUC
C_0	initial plasma concentration at time 0 calculated by extrapolation	外挿より算出した時間0における初期血漿中濃度
C3	complement component 3	補体第3成分
C4	complement component 4	補体第4成分
C5	complement component 5	補体第5成分
CH50	50% hemolytic complement activity	補体価
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
ePPND	enhanced pre- and postnatal developmental	拡張型出生前及び出生後の発生
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価法
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
HMW	high molecular weight	高分子量
IC	immune complexes of the crovalimab and ADA	クロバリマブと ADA との免疫複合体
IFN	interferon	インターフェロン
IL	interleukin	インターロイキン
IV	intravenous	静脈内投与
LD	lactation day	哺育日数
LMW	low molecular weight	低分子量
NA	not applicable	該当せず
NC	not calculated	算出せず
NE	not examined	評価せず
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PND	post-natal day	生後日数
SC	subcutaneous	皮下投与
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表

Test Article: crovalimab

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Location in CTD [Report No.]
Repeat-Dose Toxicity							
Repeat-dose toxicity (Dose-range finding study)	Cynomolgus monkey	IV, SC	IV: 2 weeks with 8 or 28 weeks recovery SC: 2 weeks	IV: 0, 4, 100 mg/kg/ 2 weeks SC: 4, 40 mg/kg/week	No	[redacted], Japan)	4.2.3.2-1 [TOX[redacted]-0032]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	IV, SC	IV: 4 weeks with 17 weeks recovery SC: 21 weeks	IV: 0, 10, 40, 160 mg/kg/week SC: 0, 40 mg/kg/week	Yes	[redacted], Japan)	4.2.3.2-2 [TOX[redacted]-0091]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	SC [a], IV	26 weeks with 26 weeks recovery	SC: 0, 10, 40, 100 mg/kg/ week IV: 0, 160 mg/kg/2weeks	Yes	[redacted], Japan)	4.2.3.2-3 [TOX[redacted]-0016]

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続）

Test Article: crovalimab

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Location in CTD [Report No.]
Additional Investigation for Repeat-Dose Toxicity							
Detection of anti-crovalimab antibodies by an immune complex assay	Cynomolgus monkey blood (samples from Study 4.2.3.2-2)	*In vitro*	NA	NA	No	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. (Shizuoka, Japan)	4.2.3.2-4 [ADM[redacted]-0040]
An immunohistochemistry study to investigate the biodistribution of crovalimab and deposition of immune complexes	Cynomolgus monkey tissues (samples from Study 4.2.3.2-2)	*In vitro*	NA	NA	Yes	[redacted] USA)	4.2.3.2-5 [TOX[redacted]-0047]
Detection of anti-crovalimab antibodies by an immune complex assay	Cynomolgus monkey blood (samples from Study 4.2.3.2-3)	*In vitro*	NA	NA	No	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. (Shizuoka, Japan)	4.2.3.2-6 [ADM[redacted]-0020]
Reproductive and Developmental Toxicity							
Enhanced pre- and postnatal development study	Cynomolgus monkey	SC [a]	GD20 until delivery (approximately GD160)	0, 10, 100 mg/kg/week	Yes	[redacted], Germany)	4.2.3.5.3-1 [1084916]

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続）

Test Article: crovalimab

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Location in CTD [Report No.]
Other Toxicity Studies							
Tissue cross-reactivity (preliminary study)	Cynomolgus monkey and human tissues	*In vitro*	NA	1, 5 µg/mL	No	[redacted], USA)	4.2.3.7.7-1 [TOX[redacted]-0026]
Tissue cross-reactivity	Cynomolgus monkey and human tissues	*In vitro*	NA	1, 10 µg/mL	Yes	[redacted] USA)	4.2.3.7.7-2 [TOX[redacted]-0088]
Blood compatibility (preliminary study)	Human blood	*In vitro*	NA	0.172, 1.72, 17.2, 172 mg/mL	No	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. (Shizuoka, Japan)	4.2.3.7.7-3 [TOX[redacted]-0024]
Blood compatibility	Human blood	*In vitro*	NA	0.172, 1.72, 17.2, 172 mg/mL	Yes	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. (Shizuoka, Japan)	4.2.3.7.7-4 [TOX[redacted]-0031]
Cytokine release	Human blood	*In vitro*	NA	0.1, 1, 10, 100 µg/mL	No	F. Hoffmann-La Roche, Ltd. (Basel, Switzerland)	4.2.3.7.7-5 [1070628]

GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; SC = subcutaneous.

For pivotal repeat-dose toxicity and reproductive and developmental toxicity studies, the NOAEL is underlined. NOAEL of 4-week IV and 21-week SC study was below 10 mg/kg/week.

[a] From the 2nd weekly dose onwards. The first loading dose of 100 mg/kg was given by the IV route.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: crovalimab

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Doses	GLP Compliance	Location in CTD
Repeat-dose toxicity (2 weeks)	Cynomolgus monkey	IV, SC	IV: 0 [a], 4, 100 mg/kg/2weeks SC: 4, 40 mg/kg/week	No	4.2.3.2-1
Repeat-dose toxicity (4 weeks via IV dosing and 21 weeks via SC dosing)	Cynomolgus monkey	IV, SC	IV: 0 [b], 10, 40, 160 mg/kg/week SC: 0 [b], 40 mg/kg/week	Yes	4.2.3.2-2
Repeat-dose toxicity (26 weeks)	Cynomolgus monkey	SC [c], IV	SC: 0 [b], 10, 40, 100 mg/kg/week IV: 0 [b], 160 mg/kg/2weeks	Yes	4.2.3.2-3
Reproductive and developmental toxicity (ePPND)	Cynomolgus monkey	SC [c]	0 [d], 10, 100 mg/kg/week	Yes	4.2.3.5.3-1

ePPND = enhanced pre- and postnatal development; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

[a] Vehicle/Formulation: ■ mmol/L histidine-aspartate buffer containing ■ mmol/L arginine-aspartate, pH 6.0.

[b] Vehicle/Formulation: ■ mmol/L histidine-aspartate buffer containing ■ mmol/L arginine-aspartate and ■ mg/mL poloxamer 188, pH ■.

[c] From the 2nd weekly dose onwards. The first loading dose of 100 mg/kg was given by the IV route.

[d] Vehicle/Formulation: ■ mmol/L histidine-aspartate buffer containing ■ mmol/L arginine hydrochloride, ■ mmol/L sodium chloride and ■ mg/mL poloxamer 188, pH 5.8.

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

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg /week)	Method of Administration	Cynomolgus Monkey					
		C_{max} (µg/mL)			$AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL)		
		M	F	Pregnant F	M	F	Pregnant F
4	SC	46.3 [4.2.3.2-1]	42.8 [4.2.3.2-1]	—	277 [4.2.3.2-1]	266 [4.2.3.2-1]	—
40	SC	427 [4.2.3.2-1]	343 [4.2.3.2-1]	—	2,670 [4.2.3.2-1]	2,170 [4.2.3.2-1]	—
Dose (mg/kg /week)	**Method of Administration**	**Mean C_{max} [c] (µg/mL)**			**Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ [c] (µg•d/mL)**		
		M	**F**	**Pregnant F**	**M**	**F**	**Pregnant F**
10 [a]	SC [a]	1,070 [b] [4.2.3.2-3]	786 [b] [4.2.3.2-3]	613 [4.2.3.5.3-1]	6,610 [b] [4.2.3.2-3]	5,180 [b] [4.2.3.2-3]	3,580 [4.2.3.5.3-1]
40 [a]	SC [a]	2,500 [b] [4.2.3.2-3]	2,370 [b] [4.2.3.2-3]	—	16,400 [b] [4.2.3.2-3]	14,700 [b] [4.2.3.2-3]	—
40	SC	2,160 [b] [4.2.3.2-2]	1,680 [b] [4.2.3.2-2]	—	14,500 [b] [4.2.3.2-2]	9,700 [b] [4.2.3.2-2]	—
100 [a]	SC [a]	5,430 [b] [4.2.3.2-3]	4,960 [4.2.3.2-3]	4,310 [4.2.3.5.3-1]	36,100 [b] [4.2.3.2-3]	31,600 [4.2.3.2-3]	26,400 [4.2.3.5.3-1]
Dose (mg/kg /week)	**Method of Administration**	**Mean C_0 (µg/mL)**			**Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL)**		
		M	**F**	**Pregnant F**	**M**	**F**	**Pregnant F**
10	IV	449 [b] [4.2.3.2-2]	380 [b] [4.2.3.2-2]	—	2,310 [b] [4.2.3.2-2]	1,940 [b] [4.2.3.2-2]	—
40	IV	1,630 [b] [4.2.3.2-2]	1,750 [b] [4.2.3.2-2]	—	7,740 [b] [4.2.3.2-2]	8,340 [b] [4.2.3.2-2]	—
160	IV	5,800 [b] [4.2.3.2-2]	5,690 [b] [4.2.3.2-2]	—	29,900 [b] [4.2.3.2-2]	29,100 [b] [4.2.3.2-2]	—

表 2.6.7.3-1 トキシコキネティクス試験成績の一覧（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg /2week)	Method of Administration	Cynomolgus Monkey					
		Mean C_0 (µg/mL)			Mean $AUC_{0\text{-}14d}$ (µg•d/mL)		
		M	F	Pregnant F	M	F	Pregnant F
4	IV	95.1 [b] [4.2.3.2-1]	94.6 [b] [4.2.3.2-1]	—	636 [b] [4.2.3.2-1]	558 [b] [4.2.3.2-1]	—
100	IV	2,350 [b] [4.2.3.2-1]	2,360 [b] [4.2.3.2-1]	—	14,800 [b] [4.2.3.2-1]	14,300 [b] [4.2.3.2-1]	—
160	IV	8,180 [b] [4.2.3.2-3]	7,570 [b] [4.2.3.2-3]	—	68,300 [b] [4.2.3.2-3]	69,100 [b] [4.2.3.2-3]	—
Studies:		[4.2.3.2-1]: at 1st dose (2-week IV and SC, dose-range finding, non-GLP). Exposure values (SC dosing) are for single animal per dose group per sex. [4.2.3.2-2]: at 4th dose (IV) or 21st dose (SC) (4-week IV and 21-week SC, GLP) [4.2.3.2-3]: at 26th dose (SC) or 13th dose (IV) (26-week SC and IV, GLP) [4.2.3.5.3-1]: at GD139 (ePPND SC, GLP)					

$AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days; $AUC_{0\text{-}14d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 days; C_0 = initial plasma concentration at time 0 calculated by extrapolation; C_{max} = maximum plasma concentration; ePPND = enhanced pre- and postnatal development; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

[a] From the 2nd weekly dose onwards. The first loading dose of 100 mg/kg was given by the IV route.

[b] Calculated from the animals with crovalimab exposure not affected by ADAs or ADA-negative animals.

[c] Calculated from data during SC dosing period.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: crovalimab

Batch No.	Main [redacted] [redacted] (%)	Specified Impurities [redacted] [redacted] (%)	Unspecified Impurities [redacted] [redacted] (%)	Total Impurities (%)	Type of Study	Location in CTD
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Repeat-Dose Toxicity (2-week IV and SC, dose-range finding study, non-GLP)	4.2.3.2-1
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Tissue Cross-Reactivity (Preliminary study, non-GLP)	4.2.3.7.7-1
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Repeat-Dose Toxicity (4-week IV and 21-week SC, GLP)	4.2.3.2-2
					Tissue Cross-Reactivity (GLP)	4.2.3.7.7-2
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Blood Compatibility (Preliminary study, non-GLP)	4.2.3.7.7-3
					Blood Compatibility (GLP)	4.2.3.7.7-4
					Cytokine Release (non-GLP)	4.2.3.7.7-5
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Repeat-Dose Toxicity (26-week SC and IV, GLP)	4.2.3.2-3
[redacted] [a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Reproductive and Developmental Toxicity (ePPND, GLP)	4.2.3.5.3-1

ePPND = enhanced pre- and postnatal development; GLP = Good Laboratory Practice; [redacted]; IV = intravenous; [redacted]; [redacted]; SC = subcutaneous.

Notes: [redacted] Data from sample analysis at t_0.

[a] Drug product batch.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1 カニクイザルを用いた2週間静脈内及び皮下投与毒性試験（8週間又は28週間回復試験）（用量設定試験）

表 2.6.7.6.1-1 カニクイザルを用いた2週間静脈内及び皮下投与毒性試験（8週間又は28週間回復試験）（用量設定試験）

Test Article: crovalimab

Study Title:	A 2-week intermittent intravenous or subcutaneous dose toxicity study of SKY59 drug substance in cynomolgus monkeys followed by a 28-week recovery period (dose range-finding study)								
Species/ Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/ No./ Group**		**Dose**	**Duration of Recovery**	**C_{max} [a] (µg/mL) at 1st dose M/F**	**AUC_{tau} [b] (µg•d/mL) at 1st dose M/F**	**Location in CTD**
Cynomolgus monkey	IV, SC	2 weeks (dose-range finding)	IV: 1M/1F + 1M/1F for recovery SC: 1M/1F	IV	0 [c]	8 weeks	NC	NC	4.2.3.2-1
				IV	4 mg/kg/2 weeks	8 weeks	95.1/94.6 [d]	636/558 [d]	
				IV	100 mg/kg/ 2 weeks	28 weeks	2,350/2,360	14,800/14,300	
				SC	4 mg/kg/week	—	46.3/42.8	277/266	
				SC	40 mg/kg/week	—	427/343	2,670/2,170	
Noteworthy Findings	Inhibited complement activity (measured by in vitro hemolysis assay) and decreased plasma free-C5 concentration in all test item-treated groups during dosing phase except for transient increase in 1 male at 4 mg/kg (IV) who did not maintain plasma concentration of crovalimab. Two animals at 4 mg/kg and 1 male at 100 mg/kg showed recovery or a tendency toward to recovery of complement activity after the 8-week or 28-week recovery period. Dose-dependent tendency to accumulation of plasma total C5 concentration. **Blood chemistry:** Decrease of complement C3 and C4 in 1 female at 4 mg/kg (IV). **Histopathology:** Slight arteritis with intimal thickening in the kidney was observed in 1 female at 100 mg/kg after 28-week recovery period. Slight perivascular inflammatory changes such as mononuclear cell, neutrophil, and granule-laden macrophage infiltration were noted at the injection site after SC dosing. ADA and/or IC were detected at all doses.								

ADA = anti-drug antibody; AUC_{0-7d} = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days; AUC_{0-14d} = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 days; C_0 = initial plasma concentration at time 0 calculated by extrapolation; C3 = complement component 3; C4 = complement component 4; C5 = complement component 5; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; IC = immune complexes of crovalimab and ADA; IV = intravenous; M = male; NC = not calculated; SC = subcutaneous; SKY59 = crovalimab.

[a] C_0 for IV dosing.

[b] AUC_{0-14d} for IV dosing and AUC_{0-7d} for SC dosing.

[c] Vehicle/Formulation: [redacted] mmol/L histidine-aspartate buffer containing [redacted] mmol/L arginine-aspartate, pH 6.0.

[d] Single value for Animal No. 5 (plasma crovalimab concentrations in Animal No. 6 were below the level of quantification to estimate the C_0 and AUC_{0-14d}).

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）

表 2.6.7.7.1-1 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）

Test Article: crovalimab

Report Title:	Assessment of SKY59 related toxicity and complement inhibition in cynomolgus monkeys over a period of 5 months after 5 weekly intravenous or continuous weekly subcutaneous administrations				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	IV: 4 weeks, SC: 21 weeks	**Location in CTD:**	4.2.3.2-2
Initial Age:	3 to 4 years old	**Duration of Postdose:**	17 weeks	**Report No.:**	TOX[redacted]-0091
Date of First Dose:	Males: [redacted], 20[redacted] Females: [redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:**	IV and SC	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation:	[redacted]mmol/L histidine-aspartate buffer containing [redacted] mmol/L arginine-aspartate and [redacted] mg/mL poloxamer 188, pH 6.0		
NOAEL:	Below 10 mg/kg/week				
Special Features:	None				
Performed examinations:	Clinical signs, general behavior (including respiration) and neurobehavioral function (FOB), body weight, food consumption, ophthalmology, electrocardiography, blood pressure, urinalysis, hematology, blood chemistry, bone marrow examination, immunophenotyping in peripheral blood, cytokine analysis in serum, necropsy, organ weights, histopathology, analysis of plasma C5 concentration, toxicokinetics, ADA analysis.				

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**10**		**40**		**160**		**40**	
Dosing route	**IV, SC [a]**		**IV**		**IV**		**IV**		**SC**	
Number of Animals:	**M: 6 [a]**	**F: 6 [a]**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics [b]:										
Mean C_0 (µg/mL) 1st dose	NC	NC	235	196	940	811	3300	2740	NA	NA
Mean C_0 (µg/mL) 4th dose	NC	NC	449	380	1630	1750	5800	5690	NA	NA
Mean C_{max} (µg/mL) 1st dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	452	384
Mean C_{max} (µg/mL) 21st dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,160	1,680
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL) 1st dose	NC	NC	846	729	3,330	3,010	12,200	10,300	2,930	2,200
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL) 4th dose	NC	NC	2,310	1,940	7,740	8,340	29,900	29,100	NA	NA
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL) 21st dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14,500	9,700
Number of ADA-Positive Animals	NA	NA	2	3	1	1	0	1	2	1
Number of IC-Positive Animals [c]	NA	NA	1 (1)	4	3 (1)	4 (1)	6	5 (1)	2 (1)	3

表 2.6.7.7.1-1 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**10**		**40**		**160**		**40**	
Dosing route	**IV, SC [a]**		**IV**		**IV**		**IV**		**SC**	
Number of Animals:	**M: 6 [a]**	**F: 6 [a]**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 3**	**F: 3**
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean Body Weight (kg)										
Day –1, Predosing	3.735	2.717	3.997	2.783	3.795	2.710	3.692	2.883	3.637	2.730
Day 29, The end of the dosing period (IV)	3.850	2.828	4.042	2.848	3.853	2.797	3.795	2.983	NA	NA
Day 148, The end of the dosing period (SC)	4.310	2.823	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.103	2.740
Blood Chemistry										
Mean CH50 (U/mL)										
Day –22, Predosing	43.03	40.67	39.85	41.00	44.77	38.47	41.80	40.13	40.97	42.70
Day 22 (IV groups)	44.67	41.20	3.33**	1.77*	3.33**	1.70*	0.80**	1.37**	NA	NA
Day 148 (SC groups)	36.00	39.43	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.50**	1.70*
Plasma Concentration of C5 [b]										
Mean Total C5 (μg/mL)										
1st dosing, 168 h	107, 92.2[d]	98.3, 93.2[d]	138	135	179	153	164	182	175	172
5th dosing, 24 h (IV groups)	104	92.5	162	176	179	200	183	225	NA	NA
22nd dosing, 24 h (SC groups)	86.3	104	NA	NA	NA	NA	NA	NA	206	179
Mean Free C5 (μg/mL)										
1st dosing, 168 h	NA	NA	0.488	0.600	0.146	0.173	0.0420	0.0373	0.136	0.135
5th dosing, 24 h (IV groups)	NA	NA	0.144	0.157	0.0294	0.0407	NC	NC	NA	NA
22nd dosing, 24 h (SC groups)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NC	NC
Histopathology										
No. Evaluated	M: 6	F: 6	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Arteritis/periarteritis in multiple organs [e] (Number of animals)	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0
Injection site; Perivascular infiltrate, mononuclear cell, subcutis (Number of animals, grade)	–	–	–	–	–	–	–	–	2 (±)	3 (±)

表 2.6.7.7.1-1 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**10**		**40**		**160**		**40**	
Dosing route	**IV, SC [a]**		**IV**		**IV**		**IV**		**SC**	
Number of Animals:	**M: 6 [a]**	**F: 6 [a]**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 3**	**F: 3**
Noteworthy Findings (cont.)										
Postdose Evaluation										
No. Evaluated	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0
Number of ADA-Positive Animals	NA	NA	2	3	2	2	2	0	NA	NA
Number of IC-Positive Animals [c]	NA	NA	1	3	2 (1)	1 (1)	3	2 (1)	NA	NA
Mean Body Weight (kg)										
Day 119 of recovery	NA	NA	4.613	2.923	4.227	2.960	4.580	3.153	NA	NA
Blood Chemistry										
Mean CH50 (U/mL)										
Day 63 of recovery	NA	NA	3.30	16.57	2.23	2.23	1.80	2.00	NA	NA
Day 119 of recovery	NA	NA	22.93	30.90	11.47	3.33	5.73	2.13	NA	NA
Plasma Concentration of C5 [b]										
Mean Total C5 (µg/mL)										
Day 63 of recovery	NA	NA	168	NC	236	258	207	253	NA	NA
Day 119 of recovery	NA	NA	108	NC	184	284	170	222	NA	NA
Mean Free C5 (µg/mL)										
Day 63 of recovery	NA	NA	0.469	NC	0.165	0.136	NC	0.0421	NA	NA
Day 119 of recovery	NA	NA	13.9	NC	0.714	0.395	0.320	0.0960	NA	NA
Histopathology										
Arteritis/periarteritis in multiple organs [f] (Number of animals)	NA	NA	1	0	0	0	1	2	NA	NA

表 2.6.7.7.1-1 カニクイザルを用いた4週間静脈内及び21週間皮下投与毒性試験（静脈内投与後に17週間回復試験）（続）

Test Article: crovalimab

Immunohistochemistry evaluation [g] Selected total 10 tissues from affected 5 animals with arteritis/periarteritis in the 10 and 160 mg/kg groups, and corresponding tissues from 4 animals in control groups were evaluated. In 8 of the tissues in affected animals (gallbladder, pancreas, stomach, duodenum, kidney, uterus, vagina and epididymis), granular deposits containing crovalimab, monkey IgG, IgM and/or C3 were evident in arteries with arteritis/periarteritis. Although such granular deposits were not detected in 2 tissues in affected animals, the arteritis/periarteritis in the tissues was associated with increased staining of crovalimab, monkey IgG, IgM, and/or C3 in mononuclear cells.

ADA = anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days; C_0 = initial plasma concentration at time 0 calculated by extrapolation; C5 = complement component 5; CH50 = 50% hemolytic complement activity ; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; FOB = functional observational battery; IC = immune complexes of crovalimab and ADA; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NOAEL = no observed adverse effect level; SC = subcutaneous; SKY59 = crovalimab.

Notes: The number of animals evaluated may vary across parameters/group/Study Day/sex. The actual number of animals evaluated are described in the study report.
− No noteworthy findings; ± Very slight.

* $p<0.05$, ** $p<0.01$; statistical analyses performed are described in the study report.

[a] Half of the control animals were dosed weekly with vehicle intravenously (4 weeks) and served as IV controls. The other half of the control animals were dosed weekly with vehicle both intravenously (4 weeks) and subcutaneously (21 weeks) and served as IV (recovery) and SC controls.

[b] Data from ADA-positive animals are excluded.

[c] Data from 4.2.3.2-4 (Detection of anti crovalimab antibodies by an immune complex assay). Figures in parentheses indicate the number of animals that showed positive response from predosing period and were excluded from the positive/negative evaluation.

[d] Mean value of 3 animals which were dosed intravenously, and mean value of 3 animals which were dosed intravenously and subcutaneously are shown, respectively.

[e] Femoral bone marrow, cecum, colon, gallbladder, tongue, esophagus, stomach, duodenum, rectum, kidney, ovary, oviduct, pancreas, spleen, uterus, and/or vagina. Each grade of findings was very slight to moderate.

[f] Cecum, gallbladder, epididymis, kidney, pancreas, heart, and/or uterus. Each grade of findings was very slight to slight.

[g] Data from 4.2.3.2-5 (An immunohistochemistry study to investigate the biodistribution of crovalimab and deposition of immune complexes).

2.6.7.7.2 カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26週間回復試験）

表 2.6.7.7.2-1 カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26週間回復試験）

Test Article: crovalimab

Report Title:	A 6-Month Intermittent Subcutaneous or Intravenous Administration Toxicity Study of SKY59 in Mature Cynomolgus Monkeys Followed by a 6-Month Recovery Period				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	SC: 26 weeks, IV: 26 weeks	**Location in CTD:**	4.2.3.2-3
Initial Age:	3 to 8 years old	**Duration of Postdose:**	26 weeks	**Report No.:**	TOX[redacted]-0016
Date of First Dose:	Males; [redacted], 20[redacted] Females; [redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:**	SC and IV	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation:	[redacted] mmol/L histidine-aspartate buffer containing [redacted] mmol/L arginine-aspartate and [redacted] mg/mL poloxamer 188, pH 6.0		
NOAEL:	10 mg/kg/week				
Special Features:	None				
Performed examinations:	Clinical signs, general behavior (including respiration) and neurobehavioral function (FOB), body weight, food consumption, ophthalmology, electrocardiography, blood pressure, urinalysis, hematology, blood chemistry, bone marrow examination, immunophenotyping in peripheral blood, cytokine analysis in serum, menstrual cycle, semen analysis, necropsy, organ weights, histopathology, analysis of plasma C5 concentration, toxicokinetics, ADA analysis.				

Dose (mg/kg):	**0 (Control) [a]**		**10 mg/kg/week**		**40 mg/kg/week**		**100 mg/kg/week**		**160 mg/kg/2weeks**	
Dosing route	**SC, IV [a]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**IV**	
Number of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics [c]:										
Mean C_0 (μg/mL) 1st dose	NC	NC	2,270	1,820	2,130	1,570	2,390	1,830	3,720	2,910
Mean C_0 (μg/mL) 13th dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8,180	7,570
Mean C_{max} (μg/mL) 2nd dose	NC	NC	1,030	967	1,230	1,050	1,600	1,680	NA	NA
Mean C_{max} (μg/mL) 26th dose	NC	NC	1,070	786	2,500	2,370	5,430	4,960	NA	NA
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (μg•d/mL) 1st dose	NC	NC	10,600	8,470	9,730	7,880	10,800	8,480	NA	NA
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (μg•d/mL) 26th dose	NC	NC	6,610	5,180	16,400	14,700	36,100	31,600	NA	NA
Mean $AUC_{0\text{-}14d}$ (μg•d/mL) 1st dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	23,900	19,000
Mean $AUC_{0\text{-}14d}$ (μg•d/mL) 13th dose	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	68,300	69,100
Number of ADA-Positive Animals	NA	NA	2	2	0	1	1	0	0	1
Number of IC-Positive Animals [d]	NA	NA	4	4 (1)	4 (1)	3 (2)	4	4 (1)	4 (1)	5

表 2.6.7.7.2-1 カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26週間回復試験）（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg):	**0 (Control) [a]**		**10 mg/kg/week**		**40 mg/kg/week**		**100 mg/kg/week**		**160 mg/kg/2weeks**	
Dosing route	**SC, IV [a]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**IV**	
Number of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean Body Weight (kg)										
Day –1, Predosing	6.248	3.188	6.372	3.148	6.382	3.096	6.450	3.000	6.372	2.936
Day 183	6.622	3.434	6.480	3.270	6.712	3.260	6.784	3.260	6.802	3.098
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–	P [e]	–
Blood Chemistry										
Mean CH50 (U/mL)										
Day –15 (M), Day –21 (F), Predosing	37.24	38.92	41.26	41.16	49.62*	38.30	44.48	37.12	49.60*	39.42
Day 90	36.16	39.70	3.68**	3.04*	2.90**	2.74**	3.46**	3.24	4.24**	4.08**
Day 182	45.14	38.74	8.76**	4.32*	6.78**	3.32*	9.76**	3.50*	8.74**	4.18**
Plasma Concentration of C5[c]										
Mean Total C5 (μg/mL)										
1st dosing, 168 h	77.8	72.0	185	150	189	152	164	149	188	147
1st dosing 336 h (IV groups)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	203	153
13th dosing, 336 h (SC groups)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	299	276
26th dosing, 168 h (SC groups)	107	109	283	202	307	278	279	292	NA	NA
Histopathology										
No. Evaluated	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Arteritis/periarteritis in multiple organs [f] (Number of animals)	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
Kidney, glomerulonephritis (Number of animals, grade)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0
Injection site; Perivascular infiltrate, mononuclear cell, subcutis (Number of animals, grade)	0	0	0	2 (±)	2 (±)	2 (±)	2 (±)	2 (±)	NA	NA
Postdose Evaluation										
No. Evaluated	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Number of ADA-Positive Animals	NA	NA	2	1	2	1	0	0	0	0
Number of IC-Positive Animals [d]	NA	NA	2	2	2	1 (1)	2	1	2	2

表 2.6.7.7.2-1 カニクイザルを用いた26週間皮下及び静脈内投与毒性試験（26週間回復試験）（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg):	**0 (Control) [a]**		**10 mg/kg/week**		**40 mg/kg/week**		**100 mg/kg/week**		**160 mg/kg/2weeks**	
Dosing route	**SC, IV [a]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**SC [b]**		**IV**	
Number of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont.)										
Postdose Evaluation (cont.)										
Mean Body Weight (kg)										
Day 182 of recovery	6.945	3.060	7.015	2.920	6.735	3.285	7.085	3.750	6.825	3.960
Blood Chemistry										
Mean CH50 (U/mL)										
Day 105 of recovery	39.80	37.30	3.90	6.50	3.65	5.80	3.40	5.65	2.30	5.75
Day 182 of recovery	42.35	39.05	15.85	35.55	10.25	41.70	4.10	10.30	5.30	10.30
Plasma Concentration of C5 [c]										
Mean Total C5 (μg/mL)										
Day 105 of recovery	104	103	NC	130	198	196	221	259	249	201
Day 182 of recovery	123	95.5	NC	134	NC	148	243	258	300	210
Histopathology										
Arteritis/periarteritis in multiple organs [g] (Number of animals)	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1

ADA = anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days; $AUC_{0\text{-}14d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 days; C_0 = initial plasma concentration at time 0 calculated by extrapolation; C5 = complement component 5; CH50 = 50% hemolytic complement activity; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; FOB = functional observational battery; IC = immune complexes of crovalimab and ADA; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NOAEL = no observed adverse effect level; SC = subcutaneous; SKY59 = crovalimab.

Notes: − No noteworthy findings; P Presence of findings; ± Very slight; + Slight.

* $p<0.05$, ** $p<0.01$; Statistical analyses performed are described in the study report.

[a] All animals were dosed with vehicle intravenously with the same dose volume as animals at 160 mg/kg from the 1st dosing to the 14th dosing (every 2 weeks) and were dosed subcutaneously from the 2nd dosing to the 27th dosing (weekly).

[b] Animals in SC groups were dosed at 100 mg/kg intravenously on the 1st dosing and were dosed subcutaneously from the 2nd dosing to the 27th dosing.

[c] Data from ADA-positive animals are excluded.

[d] Data from 4.2.3.2-6 (Detection of anti crovalimab antibodies by an immune complex assay). Figures in parentheses indicate the number of animals that showed positive response from predosing period and were excluded from the positive/negative evaluation.

[e] Positive occult blood (grade 4) and erythrocytes (grade 2) in urinary sediments were noted in 1 male on Day 180 of dosing.

[f] Epididymis, urinary bladder, heart, pancreas, spleen, kidney, uterine cervix and/or vagina. The grade of findings was very slight to slight.

[g] Epididymis, stomach, cecum, spleen, oviduct, uterus, uterine cervix, vagina and/or kidney. The grade of findings was very slight to slight.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.10 がん原性試験

該当試験なし。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当試験なし。

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

該当試験なし。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当試験なし。

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

表 2.6.7.14-1 カニクイザルを用いた拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験

Test Article: crovalimab

Report Title:	RO7112689: Enhanced subcutaneous study for effects on pre- and postnatal development in cynomolgus monkeys with one intravenous loading dose				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	GD20 until delivery (approximately GD160)	**Location in CTD:**	4.2.3.5.3-1
Initial Age:	At least 4 years old			**Report No.:**	1084916
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:**	GD20: IV GD27 until delivery: SC	**GLP Compliance:**	Yes
Day of Mating:	GD0	**Vehicle/Formulation:**	[redacted] mmol/L histidine-aspartate buffer containing [redacted] mmol/L arginine hydrochloride, [redacted] mmol/L sodium chloride, and [redacted] mg/mL poloxamer 188, pH 5.8		
NOAEL:	100 mg/kg/week				
Special Features:	None				
Performed examinations:	Maternal animals: clinical observation, body weight, pregnancy monitoring by ultrasonography, hematology, coagulation test, clinical chemistry, CH50 analysis, analysis of plasma C5 concentration, toxicokinetics, ADA analysis. Infants: clinical observation, body weight, external examination, morphological measurements, neurobehavioral assessment, grip strength, skeletal development, hematology, coagulation test, clinical chemistry, CH50 analysis, analysis of plasma C5 concentration, toxicokinetics, ADA analysis, immunophenotyping in blood, T cell-dependent antibody response, necropsy, organ weights, histopathology.				

Dose (mg/kg/week):	**0 (Control) [a]**	**10 [a]**	**100 [a]**
Maternal animals			
No. Evaluated	16	16	16
Toxicokinetics			
Mean C_{max} (µg/mL) GD20	NC	2,400	2,550
Mean C_{max} (µg/mL) GD139	NC	613	4,310
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL) GD20	NC	9,950	10,700
Mean $AUC_{0\text{-}7d}$ (µg•d/mL) GD139	NC	3,580	26,400
Number of ADA-Positive Animals			
During Gestation	4 out of 15	3 out of 16	4 out of 16
During Lactation	4 out of 11	8 out of 11	6 out of 11
Noteworthy Findings			
Mean C5 (µg/mL)			
GD20, 168 h	105	218	230
GD139, 168 h	99.0	193	244
LD181±1	95.8	102	107

表 2.6.7.14-1 カニクイザルを用いた拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg/week):	**0 (Control) [a]**		**10 [a]**		**100 [a]**	
Maternal animals (cont.)						
Noteworthy Findings (cont.)						
No. Pregnant	16		16		16	
No. Died or Sacrificed Moribund	0		0		0	
No. Aborted	2		3		3	
No. with unscheduled cesarean section, intrauterine death	0		1		0	
Prenatal loss (%)	12.5		25.0		18.8	
Duration of gestation (days, mean ± SD)	154 ± 11		163 ± 8		162 ± 5	
Normal delivery, stillbirth (N)	14		12		13	
Body Weight, Gestation phase	–		–		–	
Body Weight, Lactation phase	–		–		–	
Mean CH50 (U/mL)						
GD20	56.4		50.9		56.7	
GD146	48.5		19.3$^{###}$		15.9$^{###}$	
LD70	54.7		21.3***		24.5***	
LD181±1	49.7		48.2		36.8*	
Mean C5 (µg/mL)						
GD20, 168 h	105		218		230	
GD139, 168 h	99.0		193		244	
LD181±1	95.8		102		107	
Infants						
Toxicokinetics						
No. Evaluated	NA	NA	M: 6	F: 5	M: 5	F: 6
Mean C_{max} (µg/mL)	NC	NC	5.15	6.40	118	89.4
Mean $AUC_{PND28-181}$ (µg•d/mL)	NC	NC	235	279	4540	4140
Mean AUC_{total} [b] (µg•d/mL)	NC	NC	494	658	10,700	6700
Number of ADA-Positive Animals	8 out of 15		3 out of 16		6 out of 16	
Noteworthy Findings						
Mean C5 (µg/mL)						
PND28	65.5		68.0		109	
PND181±1	55.8		59.6		63.4	

表 2.6.7.14-1 カニクイザルを用いた拡張型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（続）

Test Article: crovalimab

Dose (mg/kg/week):	**0 (Control) [a]**		**10 [a]**		**100 [a]**	
Infants (cont.)						
Noteworthy Findings (cont.)						
Number infants born	M: 7	F: 7	M: 6	F: 6	M: 5	F: 8
Sex ratio − Males (%)	50.0		50.0		38.5	
Number infants stillborn	M: 1	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 1
Number infants liveborn	M: 6	F: 7	M: 6	F: 6	M: 5	F: 7
Number infants with early delivery	M: 3	F: 1	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0
Number infants with cesarean section	M: 0	F: 0	M: 0	F: 1	M: 0	F: 1
Number infants with breech delivery	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 1
Number infants hand-raised	M: 0	F: 0	M: 0	F: 1	M: 1	F: 1
Number infants died	M: 1[c]	F: 0	M: 0	F: 1[d]	M: 0	F: 1[e]
Number infants with terminal sacrifice	M: 5	F: 7	M: 6	F: 5	M: 5	F: 6
Body weight (g)						
PND1	322	276	338	306	291	300
PND180	1006	901	1125	1044	1053	1000
Mean CH50 (U/mL)						
PND42	34.74	32.16	32.83	33.06	15.41***	16.79*
PND181±1	37.64	40.30	33.51	42.33	36.00	41.85

ADA = anti-drug antibody; $AUC_{0\text{-}7d}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 7 days; $AUC_{PND28\text{-}181}$ = area under the plasma concentration-time curve from PND28 to PND181; C 5= complement component 5; C_{max} = maximum plasma concentration; CH50 = 50% hemolytic complement activity; ePPND = enhanced pre- and postnatal development; F = female; GD = gestation day; IV = intravenous; LD = lactation day; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; PND = postnatal day; SC = subcutaneous; RO7112689 = crovalimab.

Notes: The number of animals evaluated may vary across parameters/groups/study day/sex. The actual number of animals is described in the study report. The number of animals evaluated for the CH50 parameter varied across study days/group.

− no noteworthy findings.

Dunnett Exact Homogeneous Test: ### p≤0.001.

ANOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, *** p≤0.001.

[a] An IV loading dose of 100 mg/kg with a dose volume of 0.9 mL/kg was administered to the 10 and 100 mg/kg/week groups and the corresponding vehicle to the control group as 1st dose.

[b] Calculated by linear trapezoidal rule from C_0 to last quantifiable timepoint, using the IV profile in infant animals.

[c] PND1.

[d] Day of birth.

[e] PND4.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当試験なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当試験なし。

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 組織交差反応性試験（予備試験）

表 2.6.7.17.1-1 組織交差反応性試験（予備試験）

Test Article: crovalimab

Study Title:	A tissue cross-reactivity study of SKY59 drug substance in selected normal human and cynomolgus monkey tissues					
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/No./Group**	**Concentration**	**Noteworthy Findings**	**Location in CTD**
Cynomolgus monkey and human tissues	*In vitro*	NA	2 human and 2 cynomolgus monkey samples per tissue (selected tissues)	1, 5 μg/mL	Staining of proteinaceous material within the walls of or around blood vessels in selected human and cynomolgus monkey tissues as expected for secreted C5 protein expressed in plasma and extracellular matrix. Human: esophagus, heart, kidney, liver, lung, ovary, pancreas, and spleen. Cynomolgus monkey: ovary.	4.2.3.7.7-1

C5 = complement component 5; NA = not applicable; SKY59 = crovalimab.

2.6.7.17.2 組織交差反応性試験

表 2.6.7.17.2-1 組織交差反応性試験

Test Article: crovalimab

Study Title:	A tissue cross-reactivity study of SKY59 drug substance in normal human and cynomolgus monkey tissues					
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/No./Group**	**Concentration**	**Noteworthy Findings**	**Location in CTD**
Cynomolgus monkey and human tissues	*In vitro*	NA	3 human and 3 cynomolgus monkey samples per tissue	1, 10 µg/mL	Staining of proteinaceous material within the walls of or around blood vessels in human and cynomolgus monkey tissues as expected for secreted C5 protein expressed in plasma and extracellular matrix. Human: adrenal, colon, eye, Fallopian tube, small intestine, stomach, heart, kidney, liver, lymph node, ovary, pancreas, pituitary, spleen, testis, thyroid, ureter, and uterus (cervix, endometrium). Cynomolgus monkey: ovary and uterus-cervix.	4.2.3.7.7-2

C5 = complement component 5; NA = not applicable; SKY59 = crovalimab.

2.6.7.17.3 ヒト血液適合性試験（予備試験）

表 2.6.7.17.3-1 ヒト血液適合性試験（予備試験）

Test Article: crovalimab

Study Title:	Preliminary study of SKY59 drug substance compatibility with human blood					
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/No./Group**	**Concentration**	**Noteworthy Findings**	**Location in CTD**
Human blood	*In vitro*	NA	3 donors per concentration	0.172, 1.72, 17.2, 172 mg/mL	No hemolysis at 17.2 mg/mL or below. Very slight reddish color change without accompanying increase in hemoglobin concentration at 172 mg/mL (2 of 3 donors). No precipitation in human plasma and serum seen at any tested concentration.	4.2.3.7.7-3

NA = not applicable; SKY59 = crovalimab.

2.6.7.17.4 ヒト血液適合性試験

表 2.6.7.17.4-1 ヒト血液適合性試験

Test Article: crovalimab

Study Title:	Study of SKY59 drug substance compatibility with human blood					
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/No./Group**	**Concentration**	**Noteworthy Findings**	**Location in CTD**
Human blood	*In vitro*	NA	6 donors per concentration	0.172, 1.72, 17.2, 172 mg/mL	No hemolysis at 17.2 mg/mL or below. Very slight reddish color change without accompanying increase in hemoglobin concentration at 172 mg/mL (2 of 6 donors). No precipitation in human plasma and serum seen at any tested concentration.	4.2.3.7.7-4

NA = not applicable; SKY59 = crovalimab.

2.6.7.17.5 *In vitro* サイトカイン放出試験

表 2.6.7.17.5-1 *In vitro* サイトカイン放出試験

Test Article: crovalimab

Study Title:	Evaluation of RO7112689 in an in vitro 24 h-format human whole blood cell assay for the risk assessment of cytokine release induced by biotherapeutics					
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Sex/No./Group**	**Concentration**	**Noteworthy Findings**	**Location in CTD**
Human blood	*In vitro*	NA	30 donors per concentration	0.1, 1, 10, 100 µg/mL	Incubation of 0.1-100 mg/mL crovalimab generally led to secretion of IL-6, IL-8, TNF-α, and IFN-γ with maximum median upregulation by a factor of 1, 1.24, 1, and 1, respectively, compared to the negative comparator Erbitux®. When compared to the positive comparator Lemtrada®, 0.1-100 mg/mL crovalimab induced at least 104-, 51-, 31- and 84-fold lower levels of IL-6, IL-8, TNF-α, and IFN-γ, respectively. Pattern of induced cytokines, absolute levels, and incidence of positive samples were comparable to marketed therapeutic antibodies with a low risk to induce infusion related reaction/cytokine release syndrome upon first infusion.	4.2.3.7.7-5

IFN = interferon; IL = interleukin; NA = not applicable; RO7112689 = crovalimab; TNF = tumor necrosis factor.