TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
本項で使用する用語・略号 2
パラメータの略号および算出法 3
1. まとめ 4
2. 分析法 5
2.1. サルにおけるエルラナタマブの定量 5
2.2. サルにおける抗薬物抗体の検出 5
3. 吸収 6
3.1. 単回投与時の血漿中濃度 6
3.2. 反復投与時の血漿中濃度（トキシコキネティクス） 6
3.2.1. サルを用いた 1 ヵ月間反復静脈内投与毒性試験 7
3.2.2. サルを用いた 1 ヵ月間反復皮下投与毒性試験 7
3.2.3. サルを用いた 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験 8
4. 分布 9
5. 代謝（動物種間の比較） 9
6. 排泄 9
7. 薬物動態学的薬物相互作用 9
8. その他の薬物動態試験 9
9. 考察及び結論 9
10. 図表 10
11. 参考文献 10

LIST OF TABLES

Table1. 単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ 6
Table 2. 週 1 回反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（1 ヵ月間試験） 7
Table 3. 週 1 回反復皮下投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（1 ヵ月間試験） 8
Table 4. 週 1 回反復皮下投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（3 ヵ月間試験） 8

本項で使用する用語・略号

略号，用語	省略していない表現または定義
ADA	anti-drug antibody：抗薬物抗体
AUC	area under the concentration-time curve：濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{168}	area under the concentration-time curve from zero to 168 hours postdose：投与後 0 時間から 168 時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the concentration-time curve from zero to infinity：0 時間から無限時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration：0 時間から最終定量可能時間までの濃度 - 時間曲線下面積
BCMA	B-cell maturation antigen：B 細胞成熟抗原
CD3	cluster of differentiation 3
CL	clearance：クリアランス
C_{max}	maximum observed concentration：最高濃度
CYP	cytochrome P450：チトクロム P450
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
HRP	horseradish peroxidase：ホースラディッシュペルオキシダーゼ
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-γ	interferon gamma：インターフェロンγ
IgG	immunoglobulin G：免疫グロブリン G
IL	interleukin：インターロイキン
mAb	monoclonal antibody：モノクローナル抗体
MSD	Meso Scale Discovery®
PBS	Phosphate Buffered Saline：リン酸緩衝液
RLU	relative light unit：相対発光量
$t_{½}$	half-life：消失半減期
Tmax	time to first occurrence of Cmax：最高濃度到達時間
TNF-α	tumor necrosis factor alpha：腫瘍壊死因子α
V_{ss}	steady-state volume of distribution：定常状態時の分布容積

パラメータの略号および算出法

略号・用語	定義および算出法
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間：(hr)
C_{max}	最高血漿中濃度：(μg/mL)
AUC_t	ゼロから最終検出可能時点 (t) までの血漿中濃度－時間曲線下面積 : (μg･hr/mL) 台形法を用いて算出した。 AUC_{24} はゼロから投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	ゼロから無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積：(μg･hr/mL) $AUC_{inf} = AUC_t + C_t / k_{el}$ C_t は最終検出可能時点 (t) の血漿中濃度，k_{el} は消失速度定数：(hr^{-1})
$t_{½}$	消失半減期：(hr)　以下の式を用いて算出した。 $t_{½} = \ln 2 / k_{el}$
V_{ss}	定常状態における分布容積：(L/kg)　以下の式を用いて算出した。 $V_{ss} = CL_{tot} / k_{el}$
F	バイオアベイラビリティ：(%)　以下の式を用いて算出した。 $\text{ﾊﾞｲｵｱﾍﾞｲﾗﾋﾞﾘﾃｨ}\ (\%) = \left(\dfrac{\text{経口投与したときの } AUC_{168} \times \text{静脈内投与量}}{\text{静脈内投与したときの } AUC_{168} \times \text{経口投与量}} \right) \times 100$

1. まとめ

エルラナタマブ（遺伝子組換え）（以下，エルラナタマブ，開発番号：PF-06863135）をサルに皮下投与したときのバイオアベイラビリティは約 50%であった。サルに単回静脈内投与したときの $t_{½}$は約 4～6 日であった。

サルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験において，曝露量（C_{max} および AUC）に明確な性差は認められず，曝露量は用量にほぼ比例して増加した。3 カ月間の反復皮下投与によりエルラナタマブの顕著な蓄積性が認められた。反復皮下・静脈内投与後に ADA の発現が認められた。

エルラナタマブの分析法および実施した PK 試験の一覧は 2.6.5.1 に示した。

2. 分析法

カニクイザルにおけるエルラナタマブの定量および抗薬物抗体（ADA）の検出には，リガンド結合法を用いた。各カニクイザルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験では，GLP に準拠したバリデートされた分析法を用いてトキシコキネティクスおよび ADA の有無を評価した（2.6.4.3.2）。

2.1. サルにおけるエルラナタマブの定量

報告書番号 184723，184724，[redacted]GR380，[redacted]GR302
概要表 2.6.5.2A

サルの血清中エルラナタマブの定量のために，リガンド結合法をバリデートした（184723 および 184724[a]）。この分析法では，マウスの抗 BCMA 抗イディオタイプ mAb を 96 ウェルマイクロタイタープレート上に固相化し，血清試料中のエルラナタマブを捕捉した。ビオチン標識マウス抗 CD3 抗イディオタイプ mAb とストレプトアビジン Poly-HRP40 を用いて，抗 BCMA 抗イディオタイプ mAb に結合したエルラナタマブを検出した。化学発光基質を使用し，RLU を測定した。血清試料中のエルラナタマブ濃度は，5 パラメータロジスティックモデルを用いて作成した検量線から内挿することで算出した。定量範囲は 0.04～0.6 µg/mL であった。血清試料は，室温で少なくとも 19 時間，冷蔵で 4 時間，-70°C で 393 日間安定であった。また 6 回までの凍結融解安定性が確認された。加えて，GLP 適用反復投与毒性試験（[redacted]GR380 および [redacted]GR302）の一環として Incurred Sample Reanalysis（ISR：定量値の再現性確認のため，異なる日に別の分析単位で投与後試料を再分析すること）を実施した。その結果，いずれも許容基準（総検体数の 91.7%以上で再分析値が初回値の±30%以内）に適合しており，トキシコキネティクス解析における本分析法の適切性が確認された。

2.2. サルにおける抗薬物抗体の検出

報告書番号 184727
概要表 2.6.5.2B

サル血清中の抗エルラナタマブ抗体（以下，ADA）を検出するリガンド結合法をバリデートした。マウス抗イディオタイプ mAb を添加したサル血清を陽性対照，正常なサルのプール血清を陰性対照として各プレートに分注し，分析性能を評価した。

試験試料または対照試料にビオチン標識エルラナタマブおよびルテニウム標識エルラナタマブを混合してインキュベートした。試料中に ADA が存在する場合，ADA はビオチン標識エルラナタマブおよびルテニウム標識エルラナタマブの両者と結合することで複合体を形成し，形成された複合体は MSD アッセイプレート上に固相化されたストレプトアビジンにより捕捉される。エルラナタマブを標識するルテニウムの基質であるトリプロピルアミンを使用し，RLU を測定した。

[a]184724 試験は 184723 試験に付随した試験であり，長期安定性評価および溶血マトリックス効果の評価を含む。

この分析法ではカットポイント値を用いて ADA 陽性試料と ADA 陰性試料とを識別した。RLU がカットポイント値以上の試料は希釈系列を作成して再分析し，抗体価を算出した。最終的な ADA 発現有無の判断は，試験 1 日の投与前の試料と投与後に採取した試料の比較により行った。なお非臨床動物種における ADA の発現は予測されたものであり，ヒトにおける免疫原性を示唆するものではないと考えられる [1,2]。

3. 吸収

3.1. 単回投与時の血漿中濃度

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_022648
概要表 2.6.5.3

カニクイザル（雌雄各 1 匹/群）にエルラナタマブ（溶媒：PBS）を 0.001 mg/kg または 0.01 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの薬物動態を評価した。曝露量に明らかな性差は認められなかったため，トキシコキネティクスパラメータは雌雄合算値を示した。$t_{1/2}$は約 4～6 日であった。PK パラメータの要約を Table1 に示した。

Table1.　単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

用量（mg/kg）[a]	AUC_{last}（µg•h/mL）	AUC_{inf}（µg•h/mL）	CL（mL/min/kg）	V_{ss}（L/kg）	$t_{1/2}$（日）
0.001	0.848	1.39	0.0126	0.134	約 6
0.01	12.5	13.7	0.0124	0.0982	約 4

雌雄合算値
a.　雄雌各 1 匹/群にエルラナタマブを投与した。

3.2. 反復投与時の血漿中濃度（トキシコキネティクス）

カニクイザルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験の一部として，エルラナタマブを反復静脈内投与（最長 1 ヵ月）および反復皮下投与（最長 3 ヵ月）したときの血中濃度推移および ADA 発現の有無を評価した。これらの試験の概要を 2.6.7.1 に示す。

GLP 適用反復投与試験で得られたトキシコキネティクスについて，曝露量における性差，用量-曝露関係および曝露量の経日変化を評価した。いずれの試験でも曝露量に明らかな性差は認められなかったため，トキシコキネティクスパラメータは雌雄合算値を示した。また溶媒対照群ならびに試験 1 日の投与前の試料において，エルラナタマブは定量下限未満であった。

ADA の発現は，毒性試験で認められる所見ならびに曝露量または血中濃度推移に影響を及ぼす可能性があることから，GLP 適用反復投与毒性試験の一部として ADA の有無を評価した。いずれの試験でも溶媒対照群において ADA は検出されず，エルラナタマブの反復投与後に ADA の発現が認められた。ADA 陽性動物の曝露量は ADA 陰性動物の曝露量と比較して，概して低値または同程度であったものの，トキシコキネティクスパラメータは ADA 陽性動物を含む全動物の平均値を示した。

3.2.1. サルを用いた 1 ヵ月間反復静脈内投与毒性試験

報告書番号 [redacted]GR380
概要表 2.6.7.7A

カニクイザル（雌雄各 3 匹/群）にエルラナタマブを 0（溶媒対照：20 mmol/L ヒスチジン，85 mg/mL スクロース，0.05 mg/mL EDTA，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，pH 5.8），0.01，0.05 または 0.3 mg/kg の用量で週 1 回（計 5 回）静脈内投与したときの血中濃度推移と ADA の有無を評価した。曝露量（C_{max} および AUC_{168}）は用量にほぼ比例して増加し，試験 22 日の曝露量（AUC_{168}）は試験 1 日と比較して高かった（Table 2）。各群の累積係数（$AUC_{168\ (Day22)}/AUC_{168\ (Day1)}$）は，1.6～2.0 であった。エルラナタマブの曝露量は，大部分の動物で試験 29 日（試料採取の最終時点）まで測定可能であった。ADA 発現率は全体で 28%（5/18 例）であった。試験 22 日における ADA 陽性動物の曝露量は ADA 陰性動物と比較して概して低値であった。

Table 2.　週 1 回反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（1 ヵ月間試験）

試験	用量 (mg/kg) [a]	試験日	C_{max} (μg/mL)	AUC_{168} (μg•h/mL)	ADA 発現率
[redacted]GR380	0.01	1	0.236	10.4	67%
		22	0.219	18.0	
	0.05	1	1.27	58.0	17%
		22	1.42	118	
	0.3	1	9.34	453	0%
		22	10.4	715	

雌雄合算値
a.　雄雌各 3 匹/群にエルラナタマブを投与した。

3.2.2. サルを用いた 1 ヵ月間反復皮下投与毒性試験

報告書番号 [redacted]GR290
概要表 2.6.7.7B

カニクイザル（雌雄各 3 匹/群）にエルラナタマブを 0（溶媒対照：20 mmol/L ヒスチジン，85 mg/mL スクロース，0.05 mg/mL EDTA，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，pH 5.8）または 0.3 mg/kg の用量で週 1 回（計 5 回）皮下投与したときの血中濃度推移と ADA の有無を評価した。累積係数（$AUC_{168\ (Day22)}/AUC_{168\ (Day1)}$）は 1.4 であり，エルラナタマブの顕著な蓄積は認められなかった（Table 3）。エルラナタマブの曝露量は，ADA 陽性動物（1 例）を除いたすべての動物で試験 29 日（試料採取の最終時点）まで測定可能であった。試験 22 日における ADA 陽性動物（1 例）の曝露量は，ADA 陰性動物と比較して低値であった。

Table 3.　週 1 回反復皮下投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（1 ヵ月間試験）

試験	用量 (mg/kg)	試験日	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{168} (μg•h/mL)	ADA 発現率
[redacted]GR290	0.3	1	2.09	56	275	17%
		22	2.84	25	378	

雌雄合算値
a.　雄雌各 3 匹/群にエルラナタマブを投与した。

3.2.3. サルを用いた 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験

報告書番号[redacted]GR302
概要表 2.6.7.7C

カニクイザル（雌雄各 3 匹/群）にエルラナタマブを 0（溶媒対照：20 mmol/L ヒスチジン，85 mg/mL スクロース，0.05 mg/mL EDTA，0.2 mg/mL ポリソルベート 80，pH 5.8），0.3，3.0 または 6.0 mg/kg の用量で週 1 回（計 14 回）皮下投与したときの血中濃度推移と ADA の有無を評価した。曝露量は用量にほぼ比例して増加した（Table 4）。試験 43 日および試験 85 日の曝露量（AUC_{168}）は試験 1 日と比較して高値であり，累積係数（$AUC_{168\ (Day43\ または\ Day85)}/AUC_{168\ (Day1)}$）は 3.2～7.3 であった。試験 43 日から試験 85 日にはエルラナタマブの顕著な蓄積が認められなかったことから，試験 43 日までに定常状態に達することが示唆された。エルラナタマブの曝露量は，0.3 mg/kg 群および 3.0 mg/kg 群では試験 85 日まで，6.0 mg/kg 群では試験 64 日まで測定可能であった。ADA 陽性動物は 0.3 mg/kg 群（2 例）で認められたが，これら ADA 陽性動物の曝露量は ADA 陰性動物と同程度であった。

Table 4.　週 1 回反復皮下投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（3 ヵ月間試験）

試験	用量 (mg/kg)	試験日	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{168} (μg•h/mL)	ADA 発現率
[redacted]GR302[a]	0.3	1	1.52	100	208	33%
		43	6.31	33	826	
		85	4.97	32	647	
	3.0	1	15.9	64	2100	0%
		43	83.4	72	12200	
		85	101	72	15300	
	6.0[b]	1	40.9	80	5630	0%
		43	185	60	26900	

雌雄合算値
注：皮下投与したときのバイオアベイラビリティ（45.9%）は，0.3 mg/kg のエルラナタマブを皮下（[redacted]GR302）および静脈内投与（[redacted]GR380）したときの試験 1 日の AUC_{168} を用いて算出した［(208 μg•h/mL/453 μg•h/mL)×100］。
a.　雄雌各 3 匹/群にエルラナタマブを投与した。
b.　動物の早期死亡により，試験 85 日の TK 解析は実施しなかった。

4. 分布

非臨床動物種を用いたエルラナタマブの蛋白結合および組織分布の試験は実施しなかった。サルにエルラナタマブを単回静脈内投与したときの V_{ss} は 0.1 L/kg であった。これは IgG の分布が限定的であるとの報告と一致するものであった [3,4]。

5. 代謝（動物種間の比較）

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」[5] の考え方に基づき，エルラナタマブのようなバイオテクノロジー応用医薬品では，必ずしも代謝試験を実施する必要はないと考えられることから，エルラナタマブの代謝試験は実施しなかった。糸球体でろ過される分子量の上限を超えた他のタンパク質製剤と同様に，エルラナタマブは主に異化作用によって分解されると考えられる [4,6,7]。

6. 排泄

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」[5] の考え方に基づき，エルラナタマブのようなバイオテクノロジー応用医薬品では，低分子薬で通常行われる標準的な排泄試験は必ずしも実施する必要はないと考えられることから，動物を用いたエルラナタマブの排泄試験は実施しなかった。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro および *in vivo* 薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。エルラナタマブは T 細胞の活性化およびサイトカイン産生（IL-2，IL-6，IL-10，TNF-αおよび IFN-γ）を誘導することが確認されている。サイトカインは CYP 酵素およびトランスポーターの発現量を変化させることが知られている [8,9]。しかし，臨床で認められたエルラナタマブによるサイトカイン増加は一過性で，主に初回投与後に認められている（2.5）。一般的に，臨床ではサイトカインを介した薬物相互作用は弱く，併用による低分子薬の曝露量の増加は 2 倍未満であることが報告されている [10,11]。

8. その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

9. 考察及び結論

エルラナタマブの薬物動態は，IgG2 mAb で予想される薬物動態と一致した。エルラナタマブを反復皮下・静脈内投与したとき，曝露量に明らかな性差は認められなかった。エルラナタマブの曝露量は，反復皮下投与後 6 週間以内に定常状態に達することが示唆された。反復皮下・静

脈内投与後に ADA の発現が認められ，ADA 陽性動物の曝露量は ADA 陰性動物と比較しておおむね低値または同程度であった。

10. 図表

表は本文中の該当箇所または薬物動態試験概要表（2.6.5）に記載し，概要表を参照する場合は，参照箇所を本文中に示した。

11. 参考文献

1. Bugelski PJ, Treacy G. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. Curr Opin Mol Ther 2004;6(1):10-6.

2. Ponce R, Abad L, Amaravadi L, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: assessment and interpretation of nonclinical safety studies. Regul Toxicol Pharmacol 2009;54(2):164-82.

3. Lin YS, Nguyen C, Mendoza JL, et al. Preclinical pharmacokinetics, interspecies scaling, and tissue distribution of a humanized monoclonal antibody against vascular endothelial growth factor. J Pharmacol Exp Ther 1999;288(1):371-8.

4. Mascelli MA, Zhou H, Sweet R, et al. Molecular, biologic, and pharmacokinetic properties of monoclonal antibodies: impact of these parameters on early clinical development. J Clin Pharmacol 2007;47(5):553-65.

5. ICH S6(R1)ガイダンス：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．薬食審査発 0323 第 1 号 平成 24 年 3 月 23 日．

6. Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Pharm Sci 2004;93(11):2645-68.

7. Vugmeyster Y, Xu X, Theil FP, et al. Pharmacokinetics and toxicology of therapeutic proteins: Advances and challenges. World J Biol Chem 2012;3(4):73-92.

8. Lee JI, Zhang L, Men AY, et al. CYP-mediated therapeutic protein-drug interactions: clinical findings, proposed mechanisms and regulatory implications. Clin Pharmacokinet 2010;49(5):295-310.

9. Mahmood I, Green MD. Drug interaction studies of therapeutic proteins or monoclonal antibodies.J Clin Pharmacol 2007;47(12):1540-54.

10. Huang S-M, Zhao H, Lee JI, et al. Therapeutic protein-drug interactions and implications for drug development. Clin Pharmacol Ther 2010;87(4):497-503.

11. Evers R, Dallas S, Dickmann LJ, et al. Critical review of preclinical approaches to investigate cytochrome P450-mediated therapeutic protein drug-drug interactions and recommendations for best practices: a white paper. Drug Metab Dispos 2013;41(9):1598-609.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF ABBREVIATIONS 2

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW 3

2.6.5.2A ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, SUMMARY OF NONCLINICAL REPORTS 4

2.6.5.2B ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, SUMMARY OF VALIDATION PARAMETERS 5

2.6.5.2B ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, SUMMARY OF VALIDATION PARAMETERS (CONTINUED) 6

2.6.5.3 PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE 7

LIST OF ABBREVIATIONS

Abbreviation	Definitions
AUC_{inf}	Area under the concentration-time curve from zero to infinity
AUC_{last}	Area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration
CL	Systemic clearance
CV	Coefficient of variability
EPT	Endpoint titer
F	Female
GLP	Good Laboratory Practices
IV	Intravenous
LBA	Ligand binding assay
LLOQ	Lower limit of quantitation
M	Male
NA	Not applicable
RE	Relative error
SC	Subcutaneous
SD	Standard deviation
$t_{½}$	Half-life
V_{ss}	Volume of distribution

2.6.5.1 Pharmacokinetics Overview

Test Article: PF-06863135

Type of Study	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Analytical Methods and Validation Reports in Monkey Serum			
Quantification of PF-06863135	NA	[redacted]	184723 (PF-06863135_[redacted]_013612)
Addendum 1 - Quantification of PF-06863135	NA		184724[a] (PF-06863135_[redacted]_013612)
Detection of anti-drug antibodies	NA		184727 (PF-06863135_[redacted]_013647)
Absorption and Pharmacokinetics in Monkeys			
Single-Dose Pharmacokinetics	IV	Pfizer[b]	PF-06863135_[redacted]_022648
1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity Study	IV	Pfizer[b]	[redacted]GR380
1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity Study	SC	Pfizer[b]	[redacted]GR290
3-Month Repeat-Dose GLP Toxicity Study	SC	Pfizer[b]	[redacted]GR302

Notes: Repeat-dose pharmacokinetic studies were not conducted with PF-06863135. Toxicokinetic results from repeat-dose toxicity studies are presented in Toxicology Tabulated Summaries. Distribution, metabolism, and pharmacokinetic drug interaction studies have not been conducted (refer to the discussion in Module 2.6.4 Pharmacokinetics Written Summary).

GLP = Good Laboratory Practices; IV = Intravenous; NA = Not applicable; SC = Subcutaneous.

a. Addendum 1 includes long-term stability and hemolyzed matrix effects assessments.

b. In-life location.

2.6.5.2A Analytical Method Validation Reports, Summary of Nonclinical Reports — Test Article: PF-06863135

Method Validation Report Number	Report Issue Date	Range of Quantification	Study Description, Report Number	Comments
Quantification of PF-06863135 in Cynomolgus Monkey Serum				
184723	[redacted] 20[redacted]	0.04 to 0.6 µg/mL (40.0 to 600 ng/mL)	1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, IV [redacted]GR380 1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, SC [redacted]GR290 3-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, SC [redacted]GR302	Method Validation[a]
Detection of Anti-Drug Antibodies Cynomolgus Monkey Serum				
184727	[redacted] 20[redacted]	NA	1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, IV [redacted]GR380 1-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, SC [redacted]GR290 3-Month Repeat-Dose GLP Toxicity, SC [redacted]GR302	Method Validation

a. Addendum 1 (184724) was issued on [redacted] 20[redacted] and includes long-term stability and hemolyzed matrix effects assessments.

2.6.5.2B Analytical Method Validation Reports, Summary of Validation Parameters

Test Article: PF-06863135

Report Number	184723
Analyte	PF-06863135
Matrix	Cynomolgus Monkey Serum
Analytical Method	LBA
Range of Quantitation	0.04 to 0.6 µg/mL (40.0 to 600 ng/mL)
Nominal Quality Control Concentrations	40.0[a], 60.0, 110, 200, 450, 600[b] ng/mL
Mean Inter-Batch Performance of Quality Control Samples[c]	
Accuracy, % RE	-1.33 to 5.50
Precision, % CV	≤ 9.63
Mean Intra-Batch Performance of Quality Control Samples[c]	
Accuracy, % RE	1.42 to 6.40
Precision, % CV	≤ 3.19
Long-Term Stability (at -70°C)	393 Days[d]

a. Lower limit of quantitation.
b. Upper limit of quantitation.
c. Acceptance criteria was ± 20.0% (25.0% of LLOQ).
d. Long-term stability was established in the method validation addendum (184724).

2.6.5.2B Analytical Method Validation Reports, Summary of Validation Parameters (Continued)

Test Article: PF-06863135

Report Number	184727
Analyte	Anti-Drug Antibodies
Matrix	Cynomolgus Monkey Serum
Analytical Method	LBA
Positive Control	Mouse anti-idiotypic monoclonal antibody
Negative Control	Pooled cynomolgus monkey serum
Performance of the Positive Control EPT	**Mean ± SD**
Inter-Day	3.74 ± 0.0372[a]
Intra-Run and Intra-Day	3.74 ± 0.0328[b]
Performance of the Negative Control Signal	**Mean ± SD**
Inter-Day	97.2 ± 4.35[c]
Intra-Run and Intra-Day	97.2 ± 3.05[c]

EPT = Endpoint Titer; SD = Standard deviation.
a. Acceptance range = 3.63 to 3.85.
b. Acceptance range = 3.36 to 3.85.
c. Acceptance criteria <194.

2.6.5.3 Pharmacokinetics: Absorption After a Single Dose

Test Article: PF-06863135

Report Number: PF-06863135_[redacted]_022648

Species	Cynomolgus Monkey
Sex/Number of Animals	Male/1 and Female/1
Feeding Condition (Fed/Fasted)	Fed
Vehicle/Formulation	Phosphate Buffered Saline
Method of Administration	Intravenous Bolus
Matrix	Serum
Sampling Time Points	Predose, 0.25, 6, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 222, 288 and 336 hours postdose
Analyte	PF-06863135
Analytical Method	LBA[a]

	0.001 mg/kg			0.01 mg/kg		
	Animal 001M	**Animal 003F**	**Mean**	**Animal 002M**	**Animal 004F**	**Mean**
AUC_{inf} (µg•h/mL)	1.09	1.69	1.39	15.0	12.3	13.7
AUC_{last} (µg•h/mL)	0.717	0.978	0.848	13.4	11.6	12.5
CL (mL/min/kg)	0.0153	0.00986	0.0126	0.0111	0.0136	0.0124
V_{ss} (L/kg)	0.144	0.123	0.134	0.0991	0.0972	0.0982
$t_{½}$ (h)	118	165	142	100	79.7	89.9

Notes: Immunophenotyping and plasma cell analysis were also conducted as part of this study and are described in the study report; standard deviation not calculated (n<3).

a. Non-validated method described in the study report.