TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. まとめ 4
2. 単回投与毒性試験 6
2.1. サルを用いた単回皮下投与毒性試験 6
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 7
3.1. サルを用いた 1 ヵ月間皮下投与毒性試験 7
3.2. サルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験 7
3.3. サルを用いた 10 日間静脈内投与毒性試験 9
3.4. サルを用いた 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験 9
4. 遺伝毒性試験 11
5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 12
6. 生殖発生毒性試験 13
7. 局所刺激性試験 16
8. その他の毒性試験 17
8.1. 抗原性試験 17
8.2. 免疫毒性試験 17
8.3. 不純物の毒性試験 17
8.4. その他の試験 18
8.4.1. 組織発現および組織交差反応性試験 18
9. 考察及び結論 19
9.1. 標的臓器毒性 19
9.1.1. サイトカイン増加 20
9.1.2. BCMA 発現細胞（B 細胞および形質細胞）減少 20
9.1.3. T 細胞数および NK 細胞数の変化 20
9.1.4. 感染症 21
9.1.5. 胎児毒性 21
9.1.6. その他の所見 21
9.2. 結論 21

10. 図表 23
11. 参考文献 24

LIST OF TABLES

Table 1. 毒性試験の概要 4
Table 2 主な所見とエルラナタマブ濃度 19

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
ADA	anti-drug antibody：抗薬物抗体
ASC	antibody-secreting cell：抗体産生細胞
AUC	area under the concentration-time curve：濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from zero to time of last measurable 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
AUC_{168}	area under the concentration-time curve from zero to 168 hours：0 時間から 168 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
bsAb	bispecific antibody：二重特異性抗体
CD3	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor
CD4	cluster of differentiation 4 T-cell co-receptor
CD8	cluster of differentiation 8
CD69	cluster of differentiation 69
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use：欧州医薬品委員会
CRS	cytokine release syndrome：サイトカイン放出症候群
CTL	Cytotoxic T lymphocyte：細胞傷害性 T 細胞
C_{max}	maximum observed concentration：最高濃度
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate：エデト酸ナトリウム二水和物
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GALT	gut-associated lymphoid tissue：腸管関連リンパ組織
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
Ig	immunoglobulin：免疫グロブリン
IL	interleukin：インターロイキン
LOAEL	Lowest-observed-adverse-effect level（最小毒性量）
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NK	natural killer：ナチュラルキラー
NOAEL	no-observed-adverse-effect level：無毒性量
PBMC	peripheral blood mononuclear cell：末梢血単核球
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
TNF	tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子
WOE	Weight of evidence: 証拠の重み付け

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）の毒性試験は，ICH S6 (R1)[1] および ICH S9[2] ガイドラインに従って実施した。実施した試験は Table 1 に要約した。また生殖発生毒性試験に代えて証拠の重み付け（WOE）評価を実施した。

B 細胞成熟抗原（BCMA）および CD3 に対するエルラナタマブの結合親和性はサルとヒトで同程度であり，これらの動物種間で交差反応性がみられた。マウスおよびラットについて，BCMA に対するエルラナタマブの結合親和性はサルおよびヒトと比較して 40～140 倍低く，また CD3 に対するエルラナタマブの結合は認められなかった。エルラナタマブは CD3 と結合することで薬理作用を発揮することから，げっ歯類で薬理作用を示さないと考えられた。以上の結果に基づくと共に ICH S6 (R1)ガイドライン [1] に従い，エルラナタマブの毒性試験に用いる動物種としてカニクイザルを選択し，げっ歯類を用いた毒性試験は実施しなかった。反復投与毒性試験で薬理作用が認められたこと，サルおよびヒトの組織間で同様の組織交差反応性が認められたことから，カニクイザルを選択したことの妥当性が裏付けられた。

エルラナタマブの臨床投与経路は皮下投与であるが，開発初期の重要な試験（サルを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験）では投与経路として皮下投与および静脈内投与の両方を用いた。皮下投与および静脈内投与による 1 ヵ月間反復投与毒性試験において両投与経路間で標的臓器は類似していたことから，臨床投与経路である皮下投与に焦点を置いて考察すると共に，3 ヵ月間投与毒性試験は臨床投与経路である皮下投与のみを用いた。

Table 1.　毒性試験の概要

試験の種類または期間/試験番号	投与経路	動物種	GLP 適用状況
単回投与毒性試験			
2 週間/[redacted]GR260	SC	カニクイザル	非適用
反復投与毒性試験			
10 日間/[redacted]GR126	IV	カニクイザル	非適用
1 ヵ月間/[redacted]GR380/[redacted]GR290	IV/SC	カニクイザル	適用
3 ヵ月間/[redacted]GR302	SC	カニクイザル	適用
局所刺激性試験			
1 ヵ月間/[redacted]GR290	SC	カニクイザル	適用
その他の毒性試験			
免疫毒性試験/[redacted]GR008	*in vitro*	ヒト	非適用
不純物の毒性試験/[redacted]LJ023	*in vitro*	ヒト	非適用
BCMA 発現試験/[redacted]LJ024	*in vitro*	サル/ヒト	非適用
組織交差反応性試験/20104929/20105532	*in vitro*	サル/ヒト	非適用/適用

IV：静脈内，SC：皮下

カニクイザルを用いた最長 3 ヵ月間の反復投与毒性試験において，エルラナタマブの非臨床毒性を評価した。主な所見として，サイトカイン増加，BCMA 発現細胞（B 細胞および形質細胞）減少およびそれに伴う免疫グロブリン低下，ならびに末梢血 T 細胞数およびナチュラルキラー（NK）細胞数の変化が認められ，いずれの所見もエルラナタマブの薬理作用に関連したものと考えられた。3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験の高用量および長期間の投与では，瀕死状態による早期安楽殺例が認められた（試験 58～91 日）。この用量依存的な瀕死状態は，臨床で想定

される曝露量以上の用量での免疫抑制作用により生じた二次的な感染症に起因すると考えられた。

2. 単回投与毒性試験

2.1. サルを用いた単回皮下投与毒性試験

報告書番号 [redacted]GR260，概要表 2.6.7.5

3 ヵ月間投与毒性試験のための用量設定試験として，サルを用いたエルラナタマブの探索的な単回投与毒性試験を実施した。カニクイザルに 3（雄 1 例），6（雄 1 例）および 15 mg/kg（雌雄各 2 例）の用量でエルラナタマブ［溶媒：20 mmol/L ヒスチジン，85 mg/mL スクロース，0.05 mg/mL エデト酸ナトリウム二水和物（EDTA），0.2 mg/mL ポリソルベート 80 溶液；pH 5.8］を皮下投与した後，2 週間の観察期間を設けた。一般状態観察，体重，摂餌量測定，イムノフェノタイピング，血清中サイトカイン測定，血液学的検査，血液生化学的検査およびトキシコキネティクス（TK）評価を実施した。

いずれの用量でも忍容性が認められたが，軽微から中等度の体重減少および嘔吐（概して試験 1 日のみ）が認められた。15 mg/kg 群では，少数の動物でエルラナタマブの投与に関連した影響として消化管所見（液状便または軟便），皮膚所見（種々の部位での淡紅色/赤色変化）および活動性低下が断続的に認められた。

すべての被験物質投与群で，エルラナタマブの薬理作用と関連したバイオマーカーの変化［抗体産生細胞（ASC）数および B 細胞数の減少，血清タンパク質，総リンパ球数および T 細胞数の変化ならびにサイトカインの増加］が認められた。

2 週間の観察期間中に認められた一般状態の変化に基づき，最大耐量（MTD）は 6 mg/kg と判断した。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

カニクイザルを用いたエルラナタマブの反復投与毒性試験を実施した。本項では，臨床投与経路である皮下投与について記載した後，静脈内投与試験について記載した。

3.1. サルを用いた 1 ヵ月間皮下投与毒性試験

報告書番号[redacted]GR290，概要表 2.6.7.7B

雌雄カニクイザル（3 匹/性/群）にエルラナタマブを 0（溶媒：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 溶液；pH 5.8）または 0.3 mg/kg/週の用量で 1 ヵ月間皮下投与（週 1 回，計 5 回）した。投与用量は，サルを用いた 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験（報告書番号[redacted]GR380）の成績に基づいて設定した。すなわち，エルラナタマブを 1 ヵ月間静脈内投与した際の無毒性量（NOAEL）（0.3 mg/kg/週）を本試験の投与用量とし，溶媒のみを投与する対照群を設けた。一般状態観察，体重，摂餌量測定，血清中サイトカイン測定，剖検，病理組織学的検査，抗薬物抗体（ADA）および TK 評価を実施した。回復性は評価しなかったが，認められた所見はすべて投与終了後に回復すると考えられた。

すべての動物が試験終了時まで生存し，エルラナタマブの投与に関連した一般状態の変化ならびに体重および摂餌量への影響は認められなかった。

試験 1 日の投与 6 時間後に，エルラナタマブの投与に関連したインターロイキン（IL）-2，IL-6，IL-10 およびインターフェロン（IFN）-γの増加（投与前値のそれぞれ最高 11.9，445，825 および 86.2 倍）が認められた。IL-2，IL-6 および IFN-γは投与 24 時間後までに投与前値まで回復し，IL-10 には投与前値への回復傾向が認められた（投与前値の 7.09 倍）。サイトカイン上昇に関連した一般状態の変化が認められなかったことから，これらのサイトカイン増加は毒性とは判断しなかった。

病理組織学的所見として，0.3 mg/kg/週群の投与部位で軽微または中等度の炎症が認められた。表皮および皮膚付属器に機能障害を示唆する障害が認められなかったこと，これに関連した一般状態の変化および剖検所見が認められなかったことから，投与部位の炎症は毒性学的意義の乏しい変化と判断した。

以上，0.3 mg/kg/週群では毒性所見が認められなかったことから，本試験における NOAEL は検討した唯一の皮下投与用量である 0.3 mg/kg/週と考えられた。曝露量に性差はなく，試験 1 日から 22 日にエルラナタマブの曝露量にごくわずかな蓄積が認められた。試験 22 日の C_{max} および AUC_{168} はそれぞれ 2.840 µg/mL および 378 µg·h/mL であった（いずれも雌雄合算値）。ADA 発現率は 16.7%（1/6 例）であった。

3.2. サルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験

報告書番号[redacted]GR302，概要表 2.6.7.7C

雌雄カニクイザル（3 匹/性/群）にエルラナタマブを 0（溶媒：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 溶液；pH 5.8），0.3，3.0 または 6.0 mg/kg/週の用量で 3 ヵ月間皮下投与（週 1 回，最大 14 回）した。投与用量は，サ

ルを用いた単回投与毒性試験（報告書番号[redacted]GR260）および 1 ヵ月間皮下投与毒性試験（報告書番号[redacted]GR290）の成績に基づいて設定した。すなわち，単回皮下投与毒性試験の MTD である 6 mg/kg を最高用量とし，1 ヵ月間皮下投与毒性試験の NOAEL であった 0.3 mg/kg/週を最低用量とした。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科検査，心電図，血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，イムノフェノタイピング，血清中サイトカイン測定，剖検，病理組織学的検査，ADA および TK 評価を実施した。回復性は評価しなかった。

0.3 mg/kg/週以上の被験物質投与群でエルラナタマブによる免疫抑制が認められ，二次的な感染症および瀕死状態による早期安楽殺が生じた。試験 58～91 日に早期安楽殺例が発生し，その頻度は用量依存的であった（0.3 mg/kg/週群で 1/6 例，3.0 mg/kg/週群で 4/6 例，6 mg/kg/週群で 6/6 例）。一般状態の変化として，活動性低下，側臥位，液状便/軟便/粘液便，円背位，嘔吐および皮膚緊張感低下ならびに体重および摂餌量の減少が認められた。瀕死状態は，エルラナタマブの免疫抑制作用に起因した二次的な細菌/ウイルス感染により生じたと考えられた。

早期安楽殺例と計画屠殺例のいずれにおいても免疫抑制に関連した所見がみられ，病理組織学的所見として脾臓でリンパ濾胞の細胞密度低下ならびに腋窩リンパ節，腸間膜リンパ節，所属リンパ節および腸管関連リンパ組織でリンパ球密度低下が認められた。また毒性変化と考えられる免疫グロブリン（IgA，IgM および IgG）の減少，ならびに計画安楽殺時まで持続した血中 ASC 数および B 細胞数のほぼ完全な枯渇がみられた。ASC 数および免疫グロブリンの減少は，エルラナタマブの薬理作用と関連した所見と考えられた。

二次的な感染症に起因した他の病理組織学的所見として，消化器系および腎臓の炎症/浸潤が認められた。加えて，特記すべき所見として，複数の臓器で細胞浸潤，炎症，血栓および壊死，ならびに病巣内細菌およびウイルス封入体が認められた。

0.3 mg/kg/週以上の用量群で，毒性変化と考えられる IgA，IgM および IgG の減少とそれに伴うグロブリン減少が認められ，その結果として血清タンパク質が減少した。0.3 mg/kg/週以上の用量群で赤血球パラメータの減少（ヘモグロビン値低下）が認められ，この減少は 6 mg/kg/週群で毒性変化と判断されるレベルに達した。赤血球パラメータの減少は一部の動物でみられた二次的な感染症または敗血症に起因する赤血球破壊過程により生じたと考えられ，再生過程を示唆する平均赤血球容積，赤血球分布幅および網状赤血球数の増加を伴っていた。その他臨床病理所見として，複数臓器または組織特異的な炎症，二次的な感染症，飢餓，消化管または腎臓機能の喪失に起因したと考えられる変化が認められたが毒性とは判断しなかった。

0.3 mg/kg/週以上の用量群の少なくとも 1 時点以上で，免疫細胞への影響が認められたが，用量依存性はないと考えられた。免疫細胞の変化として，末梢血中の総 T 細胞数（CD4 陽性 T 細胞および CD8 陽性 T 細胞）の一過性の減少，NK 細胞数の変化，（CD69 陽性）活性化 CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞ならびに（Ki-67 陽性）増殖性 CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞の割合の増加が認められた。試験 1 日の投与後 7 時間にすべての被験物質投与群でサイトカイン（IL-2，IL-6，IL-10 および IFN-γ）の増加が認められ，試験 1，57 および 92 日の投与後 24 時間に IL-2 受容体の可溶化体（IL-2RA）の増加が認められた。

以上，0.3 mg/kg/週以上の用量群で免疫抑制作用およびこれに起因した感染および計画外安楽殺例が認められたことから，本試験における NOAEL は特定できなかったが，0.3 mg/kg/週が最小

毒性量（LOAEL）と考えられた。曝露量に性差はみられず，0.3 mg/kg/週群の試験 85 日における C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 4.97 µg/mL および 647 µg·h/mL であった（いずれも雌雄合算値）。試験 1 日から 85 日のエルラナタマブの曝露量に顕著な蓄積が認められた（3.2～7.3 倍）。試験 43 日までに曝露量は定常状態に達した。LOAEL における ADA 発現率は 33.3%（2/6 例）であった。ADA 陽性例の血清中曝露量（C_{max} および AUC_{168}）は ADA 陰性例と同程度であり，試験結果の解釈への影響はなかった。

3.3. サルを用いた 10 日間静脈内投与毒性試験

報告書番号 [redacted]GR126，概要表 2.6.7.6

雌カニクイザル（2 匹/群）にエルラナタマブを 0（溶媒：リン酸緩衝生理食塩液），0.1 または 0.3 mg/kg/週の用量で静脈内投与（試験 1 日および 8 日，計 2 回）した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査，イムノフェノタイピング，血清中サイトカイン測定，剖検，病理組織学的検査および TK 評価を実施した。回復性は評価しなかった。

いずれの用量においても死亡例は認められなかった。一般状態の変化は限定的かつ一過性であり，一過性の摂餌量減少が認められた。用量依存的なエルラナタマブの薬理作用が認められ，0.3 mg/kg/週群で作用は最大となった。エルラナタマブの薬理作用として，一過性のサイトカイン増加，BCMA 発現細胞（B 細胞および形質細胞）の減少ならびに末梢血中の T 細胞数および NK 細胞数の変化が認められた。これら血中リンパ球数の変動に起因した所見として，二次リンパ器官のリンパ球密度の上昇および低下が認められた。

3.4. サルを用いた 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験

報告書番号 [redacted]GR380，概要表 2.6.7.7A

雌雄カニクイザル（3 匹/性/群）にエルラナタマブを 0（溶媒：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 溶液；pH 5.8），0.01，0.05 または 0.3 mg/kg/週の用量で 1 ヵ月間静脈内投与（週 1 回，計 5 回）した。投与用量は，サルを用いた 10 日間静脈内投与毒性試験（報告書番号 [redacted]GR126）の成績に基づいて設定した。すなわち，10 日間静脈内投与毒性試験で最大の薬理作用が認められた 0.3 mg/kg/週を最高用量とした。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科検査，心電図，血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，イムノフェノタイピング，血清中サイトカイン測定，剖検，病理組織学的検査，ADA および TK 評価を実施した。回復性は評価しなかったが，観察された所見はすべて投与終了後に回復すると考えられた。

いずれの被験物質投与群においても死亡例は認められなかった。一般状態の変化として，すべての被験物質投与群で一過性の嘔吐，0.05 mg/kg/週以上の用量群の 3 例で皮膚の変色が認められたが，毒性とはみなさなかった。体重もしくは摂餌量への影響は認められなかった。エルラナタマブの薬理作用として，一過性のサイトカイン増加，BCMA 発現細胞（B 細胞）の減少ならびに末梢血中の T 細胞数および NK 細胞数の変化が用量依存的に認められた。リンパ器官（脾臓，リンパ節，GALT）のリンパ球密度の上昇および低下が認められたが，末梢血中のリンパ球数の変動に起因した変化であり，毒性学的意義の乏しい所見と考えられた。

以上，いずれの被験物質投与群でも毒性所見が認められなかったことから，本試験における NOAEL は最高用量である 0.3 mg/kg/週と考えられた。0.3 mg/kg/週における試験 22 日の C_{max} および AUC_{168} はそれぞれ 10,400 ng/mL および 715,000 ng·h/mL であった。全身曝露に性差はなく，試験 1 日から 22 日までの蓄積はごくわずかであった。NOAEL である 0.3 mg/kg/週で ADA 発現は認められなかった。

4. 遺伝毒性試験

ICH S6(R1)ガイドラインに基づくと，タンパク質を用いたバイオ医薬品には遺伝毒性試験は一般的に必要とされないため[1]，エルラナタマブの遺伝毒性試験は実施していない。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

ICH S6(R1)ガイドライン[1]およびICH S9 ガイドライン[2]に基づくと，進行がんの患者の治療を目的とした医薬品およびバイオ医薬品にはがん原性試験は一般的に必要とされないため，エルラナタマブのがん原性試験は実施していない。

6. 生殖発生毒性試験

報告書番号[redacted]GR380，[redacted]GR290，[redacted]GR302，概要表 2.6.7.7A，2.6.7.7B，2.6.7.7C

エルラナタマブを用いた生殖発生毒性試験は実施しなかった。性成熟した雌雄のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験にて，エルラナタマブが生殖器へ及ぼす影響を評価した。加えて，エルラナタマブが胎児発生に影響を及ぼす可能性について WOE 評価を実施した。

サルを用いた 1 ヵ月間および 3 ヵ月間毒性試験では，雌の生殖器に所見は認められなかった（報告書番号[redacted]GR380，[redacted]GR290 および[redacted]GR302）。3 ヵ月間皮下投与毒性試験でのみ，すべての被験物質投与群（0.3，3.0 および 6.0 mg/kg/週）の精巣上体で軽微から軽度の単核球浸潤が両側性に認められたが，生殖機能に影響を及ぼすことはないと考えられた。

WOE 評価を実施した結果，抗 BCMA および抗 CD3 作用に基づく本薬の作用機序により，非臨床動物種としてヒトと交差反応性を示すカニクイザルを用いた胚・胎児発生毒性試験は実施せずに，胎児毒性に関する注意喚起を添付文書に記載することは適切と考える。B 細胞の減少や血中サイトカインの増加などを含め，妊娠および胎児への悪影響のリスクと関連する本薬の主な毒性については，カニクイザルおよびヒトで確認されている [3]。

WOE による本薬の生殖発生毒性の評価は，生殖および発生における BCMA，CD3 およびサイトカインの役割に関する公表論文，非臨床毒性試験データおよび臨床有害事象データ等の総合的レビューに基づく評価である。WOE 評価から，本薬の妊娠中の投与により，胎児に対する B 細胞リンパ球減少症およびサイトカイン放出症候群（CRS）を引き起こす可能性が特定された。生殖発生への影響を示す十分な証拠があるため，非臨床で胚・胎児発生毒性試験を実施してもリスク評価に対して新たな知見を提供する可能性は低いと考えられ，生殖発生毒性試験は実施しなかった。

B 細胞が減少すると妊婦の免疫機能が変化し，胎児に悪影響を及ぼす。本薬はカニクイザルおよびヒトにおいて，BCMA 発現細胞（形質細胞および B 細胞の一部のサブセット）数を減少させ，ほぼ完全あるいは部分的な枯渇を引き起こす。マウスおよびヒト以外の他の霊長類に B 細胞数を減少させる薬を投与した場合，正常な妊娠には影響はみられないが，出生児において B 細胞リンパ球減少症を誘発する [4,5,6]。これらの作用は，遺伝子改変マウスを用いた試験によっても裏付けられている。B 細胞欠損マウスでは正常な同腹児数の出生児が生まれることから，B 細胞はマウスの正常な妊娠にとって重要ではないことが示唆された。しかし，B 細胞欠損（IgM の μ 鎖の膜エクソンを標的としてノックアウト）を有するマウス母体の出生児には発育遅延が認められ，出生児死亡率も高い [7]。

CRS は妊娠に対して有害な転帰を引き起こす。本薬はカニクイザルおよびヒトで CRS を誘発する。特に，本薬を 600 μg/kg および 1000 μg/kg の用量で投与したすべての患者で，Grade 1 から Grade 2 の CRS の発現率が高いことが認められている。また，本薬の初回投与後に，IFN-γ，TNF-α，IL-2，IL-6 および IL-10 の血清中濃度の上昇が認められている。CRS は，ブリナツモマブ，チサゲンレクルユーセル，brexucabtagene autoleucel およびアキシカブタゲン シロルユーセルを含む本薬以外の T 細胞免疫療法でも観察されており，その添付文書には CRS および胎児毒性に関する警告または注意喚起が記載されている [8,9,10,11]。

炎症誘発性および抗炎症性サイトカインの産生のタイミングおよびバランスの変化が，妊婦に対する有害事象の発生に関与する可能性が考えられる。妊娠中の重要なホルモンの変化と協調した炎症誘発性シグナルと抗炎症性シグナルの免疫学的に高度な制御により，着床を可能とするための母体および胎盤組織の重要な変化が生じ，胎児への免疫寛容および分娩を可能にする[12]。これらの炎症シグナルは妊娠期間を通じて変化し，以下の 3 つの段階に分けて説明することができる。

- ヘルパーT 細胞（Th1 細胞および Th17 細胞）が産生する炎症誘発性サイトカイン（IFN-γ，TNF-α，IL-6 を含む）の関与により妊娠が成立する。
- Th2 細胞および Treg 細胞が産生する抗炎症性/炎症抑制性サイトカイン（IL-10 および TGF-β）と Th1 細胞によるサイトカイン反応の抑制に加え，ホルモン変化（プロゲステロン，エストラジオール，hCG，プロスタグランジンなど）の抑制により，妊娠が維持される。
- 分娩に伴い，Th1 細胞が炎症性反応に関与する状態に戻る。

流産，切迫早産，妊娠高血圧腎症および妊娠糖尿病はすべて，ヒトにおける免疫調節障害および炎症性免疫応答との関連がある[13]。特に，繰り返しの流産（3 回以上の流産）は，TNF-α/IL-10 と IFN-γ/IL-10 の濃度比の上昇を伴う Th1/Th2 比の上昇と関連している。同様に，切迫早産または出産は，子宮内感染および機序の明らかではないサイトカイン濃度の変化の影響を受けると考えられている。妊娠高血圧腎症の発症機序には，TNF-α，IL-6，Th1 細胞およびトロンボキサン A2 の増加の関与が認められている。妊娠糖尿病の女性では，肥満をコントロールした場合でも，分娩時の TNF-αおよび IL-6 の血清中濃度が健康の被験者よりも高かった[13]。

炎症誘発性モデルでも，マウス母体におけるサイトカインストームにより妊娠および出生児への悪影響が示されている。妊娠マウスに抗 CD3εモノクローナル抗体を腹腔内投与すると，T 細胞の活性化，母動物の局所および全身性の炎症誘発作用ならびに羊膜内炎症（炎症性サイトカインの放出増加を含む）が認められた[14]。これらの影響は早産および早産に至る前の胎児の発育不全と関連しており，新生児期まで持続した。LPS を投与すると，全身性の炎症が生じ，早産の割合および出産時の出生児死亡率の上昇が認められる[15]。また，妊娠マウスに TNF-α，IFN-γまたは IL-2 を投与すると，流産が生じることが示されている[16]。

妊婦における妊娠期の炎症性反応は，自閉症スペクトラム障害（ASD）などの小児期神経精神障害を含む出生児の脳疾患との関連性が示唆されている[17]。第 2 または第 3 妊娠四半期において TNF-α 濃度が高い女性の出生児は，神経認知機能スコアが低く，妊娠中に母体血中の IFN-γ，IL-1α，IL-4，IL-5 または IL-6 などのサイトカイン濃度が高い場合，ASD リスクの上昇が認められている[18]。

WOE 評価を実施した結果，エルラナタマブ投与による生殖および発生に及ぼす安全性リスクとして，胎児に対する B 細胞リンパ球減少症およびサイトカイン放出症候群（CRS）の可能性が特定された。これらのリスクが特定されたことから，本薬について追加試験を実施することがリスク評価に対して新たな知見を提供する可能性は低いと考えられた。このため生殖発生毒性試験は実施しなかった。このアプローチは，米国食品医薬品局（FDA）（[redacted] および 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日付の [redacted]）ならびに欧州

医薬品委員会（CHMP）（20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日付の[redacted]）の同意を得ている。
WOE 評価の詳細は Developmental and Reproductive Assessment-1 に示した。

7. 局所刺激性試験

報告書番号[redacted]GR290，概要表 2.6.7.16

エルラナタマブの独立した局所刺激性試験は実施していないが，サルを用いた 1 ヵ月間反復皮下投与毒性試験において局所刺激性を評価した。病理組織学的所見として，0.3 mg/kg/週群の投与部位で軽微または中等度の炎症が認められた。表皮および皮膚付属器に機能障害を示唆する所見が認められなかったこと，これに関連した一般状態の変化および剖検所見が認められなかったことから，投与部位の炎症は毒性とは判断しなかった。

1 ヵ月間反復皮下投与毒性試験でみられた所見を毒性とみなす必要のないことは，より高用量を投与したサルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験（報告書[redacted]GR302）で裏付けられ，1 ヵ月間静脈内投与毒性試験（報告書[redacted]GR380）の結果と符合するものであった。

8. その他の毒性試験

8.1. 抗原性試験

報告書番号[redacted]GR380，[redacted]GR290，[redacted]GR302，概要表 2.6.7.7A，2.6.7.7B，2.6.7.7C

サルを用いた 1 ヵ月間皮下・静脈内投与および 3 ヵ月間皮下投与毒性試験で，エルラナタマブが抗体応答を誘導する可能性を評価した。ADA 陽性例の曝露量（C_{max} および AUC_{168}）は ADA 陰性例と比べて概して低値であった。しかし各試験で用いた最高用量では曝露量への影響は認められず，試験結果の解釈への影響もなかった。

サルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験でエルラナタマブに対する ADA の誘導が認められ，0.3，3.0 または 6.0 mg/kg/週のエルラナタマブを投与した動物の ADA 発現率はそれぞれ 33%（2/6 例），0%（0/6 例）および 0%（0/6 例）であった。ADA の発現が認められた 0.3 mg/kg/週群の 2 例では，その結果として，ADA 発現に関連した所見が認められた。これらの 2 例（雌雄各 1 例）では，試験 29 日および 57 日に B 細胞のほぼ完全な枯渇がみられたが，試験 93 日までに雌 1 例で投与前値への回復傾向が認められた。また試験 43 日に ASC の枯渇がみられたが，試験 93 日までに投与前値まで回復した（雌雄各 1 例）。

8.2. 免疫毒性試験

報告書番号[redacted]GR008，概要表 2.6.7.17

エルラナタマブは免疫系を活性化することにより薬理作用を発揮する。エルラナタマブが細胞傷害性 T 細胞（CTL）活性およびサイトカイン放出を誘導する可能性をヒト（*in vitro*）およびサル（*in vivo*）を用いた試験系で評価した。

ヒト細胞を用いた *in vitro* 試験（CTD2.6.2.2.1.5，報告書 PF-06863135_[redacted]_012102）において，エルラナタマブは BCMA を介した CTL 活性を誘導することが示された。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験（*in vivo*）（報告書[redacted]GR260，[redacted]GR126，[redacted]GR380，[redacted]GR290 および[redacted]GR302）において，エルラナタマブの投与により BCMA 陽性細胞および免疫グロブリンの減少ならびに，この結果として最大 3 ヵ月間の液性免疫の抑制と感染症所見の増加が認められた。また血中および組織中からの一過性の減少を伴った T 細胞および NK 細胞の再分布が認められた。

正常ヒト全血またはヒト末梢血単核球（PBMC）を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験において，エルラナタマブによる炎症性サイトカイン産生［腫瘍壊死因子（TNF）-α，IL-2，IFN-γなど］の誘導が認められたが，これはエルラナタマブの薬理作用に関連したものと考えられた（報告書番号[redacted]GR008 および[redacted]LJ023）。サルを用いた反復投与毒性試験（*in vivo*）においても，一過性のサイトカイン増加が認められた。その変化の程度は概して初回または 2 回目投与後に最大となり，投与の反復により減少した。

8.3. 不純物の毒性試験

報告書[redacted]LJ023，概要表 2.6.7.17

エルラナタマブの不純物の毒性を評価する独立した *in vivo* 試験は実施していないが，ヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験においてエルラナタマブの[redacted]（[redacted]

[redacted]または[redacted]）および[redacted]（以下，[redacted]，[redacted]）がサイトカイン放出に及ぼす影響を評価した。本試験で検討したこれらの不純物の濃度（[redacted]：最大[redacted]%，[redacted]：最大[redacted]%）は，非臨床試験（概要表 2.6.7.4）および臨床試験用に用いたロット（3.2.S.3.2.3）で認められた不純物の濃度を上回っていた。

本試験において[redacted]または[redacted]は，エルラナタマブにより誘導されるサイトカイン放出に影響を及ぼさなかったことから，臨床において，より低濃度のこれら不純物がエルラナタマブの薬効および安全性のプロファイルに影響する可能性は低いことが示唆された。

8.4. その他の試験

8.4.1. 組織発現および組織交差反応性試験

報告書[redacted]LJ024，20104929 および 20105532，概要表 2.6.7.17

サルおよびヒトにおける BCMA の組織発現およびエルラナタマブの組織交差反応性を評価した結果，カニクイザルがエルラナタマブの毒性評価に適切な動物種であることが裏付けられた。なお，エルラナタマブの非臨床開発を開始する前に，サルに代わる非げっ歯類（例：イヌ，ミニブタ）を評価に用いる可能性を検討した。

カニクイザルにおける BCMA 陽性白血球の出現頻度，組織分布および表現型をヒトと比較するための探索的試験を実施した（報告書[redacted]LJ024）。BCMA 陽性細胞は白血球中で 0.4%未満を占め，骨髄中に最も多く分布が認められた。また BCMA 陽性細胞は B 細胞と比較して形質細胞に近い成熟した表現型を示した。サル血液中の BCMA 陽性細胞の出現頻度および表現型はヒト血液中のそれと類似していたことから，B 細胞および形質細胞における BCMA の発現状況はこれらの動物種間で一致することが示唆された。

組織交差反応性に関する探索的試験（報告書 20104929）により，サルおよびヒトにおける組織交差反応性試験の試験条件を最適化した。

サルおよびヒトの組織を用いた組織交差反応性試験（報告書 20105532）において，両動物種の多くの組織の単核球および骨髄細胞の細胞膜および細胞質でエルラナタマブによる染色反応が認められた。単核球および骨髄細胞での染色反応は，B 細胞における BCMA および T 細胞（骨髄の T 細胞前駆細胞を含む）における CD3 の発現に関する報告[19,20,21]と符合していた。両動物種の一部の組織の上皮細胞においてエルラナタマブによる細胞質での染色反応が認められたが，上皮細胞での BCMA または CD3 の発現の報告は確認されなかったことから，本試験における細胞質の染色反応は想定されないエルラナタマブの組織交差反応と考えられた。本試験で認められた上皮細胞での染色反応はいずれも細胞質で認められたが，組織交差反応性試験におけるモノクローナル抗体の細胞質部位への結合は一般に毒性学的意義に乏しい所見と考えられる[22]。

9. 考察及び結論

9.1. 標的臓器毒性

エルラナタマブの一連の毒性試験で認められた主な所見は，サイトカイン増加，BCMA 発現細胞数（B 細胞および形質細胞）減少，血中 T 細胞数および NK 細胞数の変化であった。いずれの所見もエルラナタマブの作用機序に関連したものと考えられた。高用量または長期間のエルラナタマブの投与により，免疫抑制作用とそれに付随した二次的な感染症および瀕死状態が認められた。

サルを用いた反復皮下投与毒性試験における主な所見と標的臓器を Table 2 に示した。

Table 2　　主な所見とエルラナタマブ濃度

主な所見	用量（mg/kg/週）	C_{max}[a] (ng/mL)	AUC_{last}[a] (ng•h/mL)	曝露量比[b]	
				C_{max}	AUC_{last}
カニクイザルを用いた 1 ヵ月間皮下投与毒性試験（雌雄各 3 例/群）[redacted]GR290 試験					
臨床病理学的/薬理学的所見： サイトカイン↑	0.3 NOAEL	2840	378000	×0.1	×0.1
病理組織学的所見： 投与部位の炎症					
カニクイザルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験（雌雄各 3 例/群）[redacted]GR302 試験					
瀕死状態（1/6 例） 一般状態の変化： 活動性↓，嘔吐，軟便，体重および摂餌量↓ 臨床病理学的/薬理学的所見： 免疫グロブリン↓，総 B 細胞数↓，サイトカイン↑，赤血球パラメータ↓，血清タンパク質↓，グロブリン↓ 病理組織学的所見： 二次的な感染症：脾臓，リンパ節および GALT の細胞密度↓ 腎臓および消化管の炎症および細胞浸潤	0.3	4970	647000	×0.2	×0.2
上記に加えて， 瀕死状態の発現頻度↑（4/6 例）	3	101000	15300000	×3.9	×3.7
上記に加えて， 瀕死状態の発現頻度↑（6/6 例）	6	185000[c]	26900000[c]	×7.2	×6.5

a. AUC_{168} および C_{max} は血清中濃度の平均値を示す。特記のない限り，投与期間終了付近で得られたデータを示した。
b. 曝露量比（安全域）は，C1071003 試験でヒトにプライミング投与を行った後に臨床用量（76 mg/kg/週）の皮下投与を 6 サイクル投与したときの曝露量（C_{max}：25,784 ng/mL，AUC_{tau}：4,157,189 ng•h/mL）を用いて算出した。
c. 早期に瀕死状態となったため，試験 43 日の値を示した。

9.1.1. サイトカイン増加

骨髄腫細胞株を用いたCTLアッセイおよびヒト全血またはPBMCを用いた試験（*in vitro*）ならびにカニクイザルを用いた毒性試験（*in vivo*）によりエルラナタマブのサイトカイン放出に及ぼす影響について評価した。骨髄腫細胞株を用いたCTLアッセイでは，エルラナタマブの処理によりアッセイ終了時に培養上清中のTNF-α，IFN-γ，IL-2，IL-6，IL-8およびIL-10濃度の増加がみられた。すなわちサイトカイン放出誘導を伴ったCTL活性が認められた。ヒト全血を用いた試験では，全血中にBCMA発現細胞が含まれるため，評価に用いた全ドナーの血液でエルラナタマブによるIFN-γ産生誘導がみられ，一部のドナーの血液でTNF-αおよびIL-6産生誘導がみられた（[redacted]GR008試験）。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では，試験1日または8日のエルラナタマブ投与後にサイトカイン増加（IL-6，IL-10，IFN-γまたはIL-2）が認められた。最も顕著なサイトカイン増加は初回投与後にみられ，嘔吐や摂餌量の減少などの一般状態の変化を伴うものであった。毒性試験で認められたサイトカイン増加はエルラナタマブの薬理作用に起因したものであり，毒性学的意義の乏しい変化と考えられるものの，臨床におけるCRSのリスクを示唆している。

9.1.2. BCMA発現細胞（B細胞および形質細胞）減少

サルを用いた反復投与毒性試験において，BCMA陽性細胞数の減少がみられ，これに伴う免疫グロブリン（IgA，IgMおよびIgG）および血清タンパク質の減少が認められた。これらの所見はいずれもエルラナタマブの薬理作用に起因したものと考えられた。またリンパ組織での胚中心の細胞密度低下を伴ったB細胞数およびASC数（BCMAを発現する形質細胞および形質芽細胞）減少が認められた。加えて，エルラナタマブの投与に関連した脾臓および骨髄でのASCの減少が認められた。

B細胞の成熟マーカーであるBCMA陽性細胞の組織分布試験の結果から，サルおよびヒトのBCMA陽性細胞は主に形質細胞および成熟B細胞であることが示唆された（[redacted]LJ024試験）。BCMA発現とB細胞の分化は相関し，BCMA発現はB細胞の形質芽細胞および形質細胞への分化の最終段階で最も亢進することから[20]，エルラナタマブの投与による形質細胞ならびに分化・成熟したB細胞系列へのT細胞による細胞傷害作用が期待される。

サルを用いた反復投与毒性試験で血中B細胞数の減少が認められたことは，B細胞系列の初期細胞においても低レベルのBCMAの発現が認められるという報告[23]と一致するものであった。加えて形質細胞の減少はB細胞集団の分化誘導に伴ったBCMA発現の上昇を引き起こす可能性があり，これによってエルラナタマブの細胞傷害作用に寄与する可能性がある[24]。3ヵ月間反復投与毒性試験において，BCMA陽性細胞の減少とそれに伴う液性免疫の低下に起因した感染症が認められた。

9.1.3. T細胞数およびNK細胞数の変化

サルを用いた反復投与毒性試験において，T細胞数およびNK細胞数の変化が認められたが，これは標的細胞の存在下でT細胞を活性化するようにデザインされたBCMA-CD3二重特異性抗体（bsAb）であるエルラナタマブの薬理作用に関連したものと考えられた。T細胞数およびNK細胞数の減少は概して初回投与後に認められ，投与2回目前までに投与前値への回復傾向を示し，初回投与以降もT細胞およびNK細胞数の変化が認められた。血中T細胞数およびNK細胞数の一過性の減少は，これらリンパ球の活性化とそれに伴った炎症性サイトカインおよびケ

モカインに起因した遊走および再分布により生じたと考えられる。血中 T 細胞数の減少に伴ってエルラナタマブの薬理作用による活性化/増殖性 T 細胞比率の増加と，これに関連した脾臓重量の増加および二次リンパ組織での細胞密度上昇が認められた。加えて血液学的検査において T 細胞および NK 細胞数の一過性の減少に伴うリンパ球数および白血球数の減少が認められた。これらリンパ球数の変化はエルラナタマブおよび T 細胞を標的とした bsAb の薬理作用に関連したものと考えられた[19,21,25]。これらリンパ球数の変化は，関連した所見が認められなかったことから毒性学的変化に乏しい所見と考えられた。しかし，T 細胞の活性化は臨床における潜在的リスクである CRS を引き起こす可能性があるため，臨床におけるモニタリングが必要と考えられる。

9.1.4. 感染症

サルを用いた 3 ヵ月間皮下投与毒性試験で，エルラナタマブによる免疫抑制に付随した細菌およびウイルス感染が認められた。主な所見として消化管および腎臓での炎症および細胞浸潤が認められ，他の臓器でもこれら所見が認められた。免疫抑制に付随した感染症の認められた動物および瀕死動物において，中毒性顆粒を有した好中球または単球による炎症および細胞浸潤を伴う病巣内細菌またはウイルス封入体が認められた。

9.1.5. 胎児毒性

WOE 評価を実施した結果，エルラナタマブによる胎児毒性の可能性が同定された。

9.1.6. その他の所見

サルを用いた 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験の 0.3 mg/kg/週以上で赤血球パラメータの減少（ヘモグロビン値低下）が認められ，この減少は 6 mg/kg/週で毒性と判断されるレベルに達した。赤血球パラメータの減少は一部の動物でみられた二次的な感染症および敗血症に起因する赤血球破壊過程により生じたと考えられ，回復過程を示唆する平均赤血球容積，赤血球分布幅および網状赤血球数の増加を伴っていた。その他臨床病理所見として認められたのは，複数臓器または組織特異的な炎症，二次的な感染症，飢餓，消化管または腎臓機能の喪失に伴う二次的な変化で，毒性とは判断されなかった。

9.2. 結論

組織発現および組織交差反応性の結果から正常細胞での BCMA の発現はまれであり，カニクイザルとヒトとで発現組織が一致することが裏付けられた。

サルを用いた反復投与毒性試験で認められた毒性および標的臓器は，BCMA および CD3 の発現ならびにエルラナタマブの主要な薬理作用である BCMA 発現細胞に対する CTL 活性と一致した。薬理学的および臨床的に適切な曝露量で認められた主な所見は，サイトカイン増加，BCMA 発現細胞（B 細胞および形質細胞）の減少ならびに血中 T 細胞数および NK 細胞数の変化であった。エルラナタマブの長期間および高用量の曝露により，免疫抑制に起因した二次的な感染症および瀕死状態が認められた。

毒性変化とみなすべき局所刺激性は認められなかった。ADA の発現が低用量で認められたが，高用量では ADA による曝露量への影響は認められず，試験結果の解釈への影響もなかった。

WOE 評価を実施した結果，B 細胞リンパ球減少症に起因するエルラナタマブによる胎児への作用および CRS による妊娠への影響の可能性がリスクとして特定された。

ヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験において，低濃度のエルラナタマブの[redacted]または[redacted]（それぞれ最大[redacted]%および[redacted]%）はエルラナタマブのサイトカイン放出誘導に影響を及ぼさなかったことから，臨床用量において，より低濃度のこれら不純物がエルラナタマブの薬効および安全性のプロファイルに影響する可能性は低いことが示唆された。

以上の成績から，エルラナタマブ投与に関連する影響は，本薬の適応対象である患者への投与に際しては容認できるリスクであると考えられる。

10. 図表

表は本文中に記載した。

11. 参考文献

1. 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．

2. ICH S9 ガイダンス：抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン．薬食審査発 0604 第 1 号 平成 22 年 6 月 4 日．

3. Raje NS, Jakubowiak A, Gasparetto C, et al. Safety, clinical activity, pharmacokinetics, and pharmacodynamics from a Phase I study of PF-06863135, a B-cell maturation antigen (BCMA)-CD3 bispecific antibody, in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM). Blood. 2019;134:1869.

4. Auyeung-Kim DJ, Devalaraja MN, Migone TS, et al. Developmental and peri-postnatal study in cynomolgus monkeys with belimumab, a monoclonal antibody directed against B-lymphocyte stimulator. Reprod Toxicol. 2009;28(4):443-55.

5. Mattsson R, Sulila P, Bernadotte F, et al. Allopregnancy in B-cell deprived C57/BL mice—an investigation focusing on the relationship between survival of the fetuses and anti-paternal immune activity of the mothers. Dev Comp Immunol. 1988;12(1):167-76.

6. Vaidyanathan A, McKeever K, Anand B, et al. Developmental immunotoxicology assessment of rituximab in cynomolgus monkeys. Toxicol Sci. 2011;119(1):116-25.

7. Gustafsson E, Mattsson A, Holmdahl R, et al. Pregnancy in B-cell-deficient mice: postpartum transfer of immunoglobulins prevents neonatal runting and death. Biol Reprod. 1994;51(6):1173-80.

8. BLINCYTO (blinatumomab) SmPC. EPAR Product Information. Breda, Netherlands: Amgen Europe BV; 2019.

9. KYMRIAH (tisagenlecleucel) SmPC. EPAR Product Information. Dublin, Ireland: Novartis Europharm Limited; 2020.

10. TECARTUS (brexucabtagene autoleucel) USPI. US Prescribing Information. Santa Monica, CA, USA: Kite Pharma, Inc.; 2020.

11. YESCARTA (axicabtagene ciloleucel) SmPC. EPAR Product Information. Hoofddorp, Netherlands: Kite Pharma EU BV; 2020.

12. Paulesu L, Bhattacharjee J, Bechi N, et al. Pro-inflammatory cytokines in animal and human gestation. Curr Pharm Des. 2010;16(32):3601-15.

13. Chau A, Markley JC, Juang J, et al. Cytokines in the perinatal period–Part II. Int J Obstet Anesth. 2016;26:48-58.

14. Gomez-Lopez R, Romero R, Arenas-Hernandez M, et al. In vivo T-cell activation by a monoclonal αCD3ε antibody induces preterm labor and birth. Am J Reprod Immunol 2016;76(5):386-90.

15. Garcia-Flores V, Romero R, Miller D, et al. Inflammation-induced adverse pregnancy and neonatal outcomes can be improved by the immunomodulatory peptide exendin-4. Front Immunol. 2018;9:1291.

16. Chaouat G, Menu E, Clark DA, et al. Control of fetal survival in CBA× DBA/2 mice by lymphokine therapy. J Reprod Fertil. 1990;89(2):447-58.

17. Ghassabian A, Albert PS, Hornig M, et al. Gestational cytokine concentrations and neurocognitive development at 7 years. Transl Psychiatry. 2018;8(1):64.

18. Paraschivescu C, Barbosa S, Lorivel T, et al. Cytokine changes associated with the maternal immune activation (MIA) model of autism: A penalized regression approach. PLoS One. 2020;15(8):e0231609.

19. Bargou, R, Leo, E, Zugmaier, G, et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. Science. 2008;321(5891):974-7.

20. Laabi, Y, Gras, MP, Carbonnel, F, et al. A new gene, BCM, on chromosome 16 is fused to the interleukin 2 gene by a t(4;16)(q26;p13) translocation in a malignant T cell lymphoma. EMBO J. 1992;11(11):3897-904.

21. Reusch, U, Duell, J, Ellwanger, K, et al. A tetravalent bispecific TandAb (CD19/CD3), AFM11, efficiently recruits T cells for the potent lysis of CD19(+) tumor cells. MAbs. 2015;7(3):584-604.

22. Leach, MW, Halpern, WG, Johnson, CW, et al. Use of tissue cross-reactivity studies in the development of antibody-based biopharmaceuticals: history, experience, methodology, and future directions. Toxicol Pathol. 2010;38(7):1138-66.

23. Seckinger A, Delgado JA, Moser S, et al. Target Expression, Generation, Preclinical Activity, and Pharmacokinetics of the BCMA-T Cell Bispecific Antibody EM801 for Multiple Myeloma Treatment. Cancer Cell. 2017;31(3):396-410.

24. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. J Exp Med. 2004;199(1):91-8.

25. Klinger M, Brandl C, Zugmaier G, et al. Immunopharmacologic response of patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia to continuous infusion of T cell-engaging CD19/CD3-bispecific BiTE antibody blinatumomab. Blood. 2012;119(26):6226-33.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 4
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 5
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 6
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES 7
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES 9
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY 11
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 18
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 20
2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE 32
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 33

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06863135

Type of Study	Species/Strain[a]	Route of Administration	Study Duration (Number of Doses)	Doses[b] (mg/kg/dose[c])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Exploratory Dose-Range Finding Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	2 weeks (1 dose)	3, 6, 15	No	PWRDM	[redacted]GR260	NA
Repeat-Dose Toxicity								
Nonpivotal								
10-Day Exploratory Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Intravenous	10 days (2 doses)	0, 0.1, 0.3	No	PWRDM	[redacted]GR126	NA
Pivotal[d]								
1-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Intravenous	4 weeks (5 doses)	0, 0.01, 0.05, 0.3	Yes	PWRDM	[redacted]GR380	NA
1-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	4 weeks (5 doses)	0, 0.3	Yes	PWRDM	[redacted]GR290	NA
3-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	3 months (14 doses)	0, 0.3, 3, 6[e]	Yes	PWRDM	[redacted]GR302	NA
Local Tolerance								
1-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	4 weeks (5 doses)	0, 0.3	Yes	PWRDM	[redacted]GR290	NA
Other Toxicity Studies								
Immunotoxicity								
Cytokine release assay	Human whole blood	In vitro	NA	0, 0.005, 0.5, 50 µg/mL	No	PWRDM	[redacted]GR008	NA
Impurity Study								
Cytokine release assay	Human PBMCs	In vitro	NA	0.0032 to 50 nM	No	PWRDM	[redacted]LJ023	NA
Other Studies								
BCMA Expression	Monkey/Cynomolgus and Human WBCs	In vitro	NA	NA	No	PWRDM	[redacted]LJ024	NA
Tissue Cross-Reactivity Study Methods Development	Human Tissues	In vitro	NA	NA	No	[redacted]	20104929	[redacted]LJ087
Tissue Cross-Reactivity Study	Monkey/Cynomolgus and Human Tissues	In vitro	NA	1, 5 µg/mL	Yes	[redacted]	20105532	[redacted]LJ088

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06863135

BCMA = B cell maturation antigen; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; No. = number; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; PWRDM = Pfizer Worldwide Research, Development & Medical; WBC = white blood cells.

a. Both sexes were used for all in vivo toxicity studies except for the 3 and 6 mg/kg/dose groups in [redacted] GR260, which used only males.

b. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.

c. Once weekly dosing was used for all repeat-dose toxicity studies (ie, Dosing Days 1, 8, etc.).

d. For pivotal repeat-dose toxicity studies the NOAEL (no observed adverse effect level) is underlined.

e. A NOAEL was not determined in this study; there were adverse effects at all doses.

f. [redacted], MD.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: PF-06863135

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/week)	GLP Compliance	Study Number
Acute dose escalation	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	3, 6, 15 mg/kg	No	GR260
10-Day Exploratory Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Intravenous	0, 0.1, 0.3	No	GR126
1-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Intravenous	0, 0.01, 0.05, 0.3	Yes	GR380
1-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	0, 0.3	Yes	GR290
3-Month Toxicity Study	Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous	0, 0.3, 3, 6	Yes	GR302

GLP = Good Laboratory Practice.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per week.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06863135

Dose[a] (mg/kg/week)	Study Type	Study Number	Mean AUC_{168} (µg•h/mL)[b]			
			Monkey/Cynomolgus			Human
			M	F	Combined Sexes (M+F)	Combined Sexes (M+F)
0.01	1-month repeat-dose toxicity (IV)	[redacted] GR380	17.0	19.9	18.0	-
0.05	1-month repeat-dose toxicity (IV)	[redacted] GR380	118	119	118	-
0.1	10-day repeat-dose (2 doses, IV)	[redacted] GR126	-	119[c]	-	-
0.3	10-day repeat-dose (2 doses, IV)	[redacted] GR126	-	385[c]	-	-
0.3	1-month repeat-dose toxicity (IV)	[redacted] GR380	623	807	715	-
0.3	1-month repeat-dose toxicity (SC)	[redacted] GR290	367	389	378	-
0.3	3-month repeat-dose toxicity (SC)	[redacted] GR302	619[d]	675[d]	647[d]	-
3	3-month repeat-dose toxicity (SC)	[redacted] GR302	8300	22200	15300	-
6	3-month repeat-dose toxicity (SC)	[redacted] GR302	34400	19300	26900	-
76[e]	Once per week for 24 weeks (SC)	PMAR-1353[e]	-	-	-	4157

- = no data; ADA = anti-drug antibody; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from zero to time of last measurable concentration; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; F = female; IV = intravenous; M = male; TBD = to be determined.

a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per week.

b. Values at or near termination. AUC values from all animals (including both ADA-negative and ADA-positive animals) reported.

c. Values from Day 1.

d. AUC_{last}.

e. Human population PK modeling data after cycle 6 (24 weeks) at 76 mg weekly dose of elranatamab with 12/32 mg priming dose (PMAR-1353).

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PF-06863135

Proposed Specification: Section 3.2.S.4.1 Specification(s) – Drug Substance

Lot or Batch Number	Protein Concentration (mg/mL)	Impurities		Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Type
		Product Related	Process Related		
[redacted]	0.67	[redacted]	[redacted]	[redacted] GR126	10-Day Repeat-Dose IV Monkey
[redacted]	10.0	[redacted]	[redacted]	20105532 ([redacted] LJ088)	Tissue Cross-Reactivity Monkey/Human
				[redacted] GR380	1-Month Repeat-Dose IV Monkey
				[redacted] GR290	1-Month Repeat-Dose SC Monkey
[redacted] [b]	41.9			[redacted] GR260	Single Dose SC Monkey
[redacted]	41.3			[redacted] GR302	3-Month Repeat-Dose SC Monkey

BCMA = B-cell maturation antigen; CD3 = cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor; IgG = immunoglobulin G; IV = intravenous; NMT = not more than; NT = not tested; SC = subcutaneous.

a. A separate impurity study (Study Report [redacted] LJ023; Tabulated Summary 2.6.7.17) was conducted with Lot Number [redacted] for these impurities.

b. Reagent grade HEPES (4-[2-Hydroxyethyl]-1-piperazine ethanesulfonic acid) was used instead of the intended excipient grade EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) in the vehicle for the final drug substance formulation.

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES

Test Article: PF-06863135

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous Injection, 2 mL/kg, (20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate 80, pH 5.8[b]/Solution) Lot [redacted]	Single dose	3 (M), 6 (M), 15 (M/F)	3, 6 mg: 1M 15 mg: 2M, 2F	Not reported	**≤3 mg/kg:** ↓ Body weight, ↑ red cell distribution width, ↑ reticulocytes, ↓ lymphocytes, ↓ globulin, ↓ total protein, ↓ albumin/globulin ratio, ↑ high sensitivity C-reactive protein, ↓ B cells, ↓ T cells, ↓ CD4+ T cells, ↓ CD8+ T cells, ↓ NK cells, ↑ % CD69+CD4+ T cells, ↑ % CD69+CD8+ T cells, ↑ % CD25+CD4+ T cells, ↑ % CD25+CD8+ T cells, ↑ % Ki-67+CD4+ T cells, ↑ % Ki-67+CD8+ T cells, ↓ IgG-secreting antibody-secreting cells (in PBMCs), ↑ IL-2, ↑ IL-6, ↑ IL-10, ↑ IFN-γ, ↑ IL-2RA. **≤6 mg/kg:** Emesis, salivation, red discoloration injection site, lesion injection site, ↓ food consumption, ↑ white blood cells, ↑ neutrophils, ↑ monocytes, ↑ eosinophils, ↑ basophils, ↑ large unstained cells, ↓ gamma glutamyl transferase, ↓ calcium. **15 mg/kg:** Pink discoloration (injection site/collar site/lips/eyebrow), lesion/crust injection site (M), thin appearance (M), decreased activity (F), fecal changes (liquid/liquid brown/soft), atypical lymphocytes (M), ↑ fibrinogen (M), ↑ TNF-α (M).	[redacted] GR260/ No

Toxicokinetic Parameters (M, or combined sexes):

Dose (mg/kg)	3 (M)	6 (M)	15 (M/F Combined)
Day 1			
C_{max} (µg/mL)	18.6	26.8	98.7
AUC_{336} (µg•h/mL)	4290	6220	18500

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES

Test Article: PF-06863135 (Continued)

AUC_{336} = area under the concentration-time curve from time 0 to 336 hours; C_{max} = maximum observed concentration; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HEPES = (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid); IFN = interferon; IL = interleukin; IL-2RA = interleukin 2 receptor alpha; M = male; NK = natural killer; NOAEL = no observed adverse effect level; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TNF = tumor necrosis factor.

a. All doses are expressed as mg of protein per kg of body weight.

b. Reagent grade HEPES was used instead of the intended excipient grade EDTA in the vehicle for the final drug substance formulation. An assessment was conducted and indicated that this substitution represented low risk to product quality and the formulation used was comparable to the intended formulation.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES

Test Article: PF-06863135

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/dose)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous, 0.17-0.32 mL/kg (Phosphate buffered saline, Ca^{2+} and Mg^{2+} Free/Solution) Lot number [redacted]	Two Days (Days 1 and 8)	0, 0.1, and 0.3 Antibody Control: Hinge antibody 0.1	2F	ND	**≥0.1 mg/kg:** Emesis, ↓ food consumption; ↓ PLT, WBC, LYM, MONO, TP, GLOB, ALB; ↑ FIB, AG, IL-2, IL-6, IL-10, IFN-γ; ↓ CD4, CD8, NK cells; ↑ % CD4 and CD8 expressing CD69; ↑ % CD4 and CD8 expressing CD25; ↓ ASC in PBMC, spleen and bone marrow; ↑ spleen weight; ↓ cellularity of germinal centers in tonsil, spleen, and lymph nodes; ↑ lymphocyte cellularity in the white pulp (spleen) and cortex/paracortex (lymph nodes); ↓ cellularity in bone marrow.	[redacted]GR126/No

Toxicokinetic Parameters (F): Dose (mg/kg/dose)	0	0.1	0.3
PF-06863135: Day 1			
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	2.26	7.54
AUC_{168} (µg•h/mL)	NA[b]	119	385
Day 8			
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	1.42	6.73
AUC_{48} (µg•h/mL)	NA[b]	50.8	208
Hinge Ab: Day 1			
C_{max} (µg/mL)	NA	0.716	NA
AUC_{168} (µg•h/mL)	NA	29.0	NA
Day 8			
C_{max} (µg/mL)	NA	1.14	NA
AUC_{48} (µg•h/mL)	NA	27.1	NA

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: EXPLORATORY STUDIES

Test Article: PF-06863135 (Continued)

Ab = antibody; AG = albumin:globulin ratio; ALB = albumin; ASC = antibody secreting cells; AUC_{48} = area under the concentration-time curve from time zero to 48 hours; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours (1 week); C_{max} = maximum observed concentration; F = female; FIB = fibrinogen; GLOB = globulin; GLP = Good Laboratory Practice; IFN-γ = interferon gamma; IL = interleukin; LYM = lymphocytes; MONO = monocytes; NA = not applicable; ND = not determined; NK = natural killer; NOAEL = no observed adverse effect level; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; PLT = platelets; TP = total protein; WBC = white blood cells.

a. All dose levels are expressed as mg of protein per kg of body weight per dose.

b. Samples collected and analyzed, and were below the limit of quantitation (<5.00 ng/mL).

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Intravenous Toxicity Study of PF-06863135 In Cynomolgus Monkeys **Test Article: PF-06863135**

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: Approximately 3-4 years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 30 days
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Intravenous injection, once weekly (Days 1, 8, 15, 22, and 29), 0.5 mL/kg/dose

Study Number: [redacted]GR380
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL ethylene diamine triacetic acid, 0.2 mg/mL polysorbate 80, pH 5.8 / Solution
Special Features: Electrocardiography and heart rate measured
No Observed Adverse Effect Level: 0.3 mg/kg/week

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Toxicity	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL) Day 1 Day 22	NA[b] NA[b]		0.236 0.219		1.27 1.42		9.34 10.4	
AUC_{168} (µg•h/mL) Day 1 Day 22	NA[b] NA[b]		10.4 18.0		58.0 118		453 715	
Anti-drug Antibody Analysis (Number positive/Total Animals) Day 22	0/3	0/3	2/3	2/3	0/3	1/3	0/3	0/3
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Emesis	0	0	1	0	3	3	3	3
Skin discoloration (red)	0	0	0	0	0	1	1	1
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography and Heart Rate	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematology/Coagulation - Day 30								
White blood cells (10^3/μL)	11.10	12.30	7.33	10.60	7.47	9.87	5.93	6.57
Lymphocytes (10^3/μL)	5.127	5.360	2.743‡	4.650	1.967‡	3.897	1.683‡	2.120‡
Clinical Chemistry - Day 30								
Total protein (g/dL)	8.17	7.80	7.67	7.47	6.97*	6.77§*	6.93*	6.53§*
Globulin (g/dL)	3.53	3.53	2.97‡	3.07‡	2.17§†	2.50§*	2.27§†	2.13§†
Albumin/Globulin Ratio	1.30	1.23	1.60‡	1.47	2.20§†	1.77‡	2.07§†	2.07§*
Cytokines								
Interleukin 2 (IL-2) (pg/mL)								
Day 1 (predose)	18.737	3.770	10.760	3.350	3.200	3.200	3.200	16.847
Day 1 (6 hours postdose)	21.397	3.447	6.230	3.200	5.543	12.817	11.410	11.833‡
Interleukin 6 (IL-6) (pg/mL)								
Day 1 (predose)	3.200	3.200	4.680	3.200	3.200	3.200	3.200	3.200
Day 1 (6 hours postdose)	4.403	3.200	42.097§*	16.070‡	497.547§†	1073.007§†	1482.207§†	1114.613§†
Day 8 (6 hours postdose)	3.200	3.200	3.417	3.407	3.200	20.463	3.200	3.257
Interleukin 10 (IL-10) (pg/mL)								
Day 1 (predose)	59.727	12.200	12.200	12.200	12.200	12.200	12.200	14.503
Day 1 (6 hours postdose)	92.673	12.200	262.950	60.453	2416.817§†	5257.920§†	2763.107§†	5699.063§†
Day 8 (6 hours postdose)	24.757	12.200	12.200	12.200	29.403	42.163	39.707	50.193
Inteferon gamma (IFN-γ) (pg/mL)								
Day 1 (predose)	3.577	4.950	3.200	3.200	3.200	4.047	3.200	3.200
Day 1 (6 hours postdose)	4.320	4.793	19.210§*	17.603	147.873§†	176.030§†	305.090§†	170.790§†
Day 8 (6 hours postdose)	3.200	3.200	4.383	3.200	4.707	12.757	8.197	4.703
Immunophenotyping								
B Cells, absolute (cell/μL)								
Day 1 (predose)	646.7	890.7	1015.0	986.0	1332.0	1222.0	1343.0	807.0
Day 3	780.7	885.3	442.7	596.0§*	138.3§†	140.3§†	78.7§†	42.7§†
Day 8 (predose)	559.0	782.7	415.3	433.0§*	59.7§*	75.7§†	18.0§†	6.3§†
Day 10	671.7	852.7	280.0‡	406.7§*	16.3§†	18.3§†	5.0§†	3.3§†
Day 30	550.7	714.7	483.7	986.0	11.0§*	267.7	4.3§†	7.3§*
T Cells, absolute (cell/μL)								
Day 1 (predose)	5243.0	3835.0	4208.7	3107.3	6111.7	4921.3	3075.0‡*	3313.7

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 3	5056.0	3621.7	1300.0§*	1643.3§*	1246.3§*	1026.0§*	453.0§†	553.7§†
Day 8 (predose)	4130.7	3514.7	1938.0*	2629.0	2541.7	2528.3	1775.7§*	2794.3
Day 10	4223.7	3490.3	1330.3*	1917.0	2047.0	1716.3	1472.0‡*	2400.7
Day 30	4117.7	3476.0	1527.0‡	2780.3	1351.0‡	2817.7	1100.7‡*	1698.0
Cytotoxic T Cells (CD8+) (cell/µL)								
Day 1 (predose)	2029.0	1189.0	1399.7	1324.7	1911.0	1510.7	1219.0	991.7
Day 3	1856.0	1069.0	296.3‡	514.3	304.7§*	241.3§*	161.7§†	143.3§†
Day 8 (predose)	1466.0	1062.7	549.0*	957.7	878.7	806.0	680.0	911.3
Day 10	1448.0	1068.3	290.7§*	607.7	427.3‡	384.3	307.7‡	483.3
Day 30	1591.3	1105.7	320.7‡	725.7	278.7‡	427.0‡	225.0‡*	292.3‡
Helper T Cells (CD4+) (cell/µL)								
Day 1 (predose)	2657.0	2297.7	2521.0	1552.0	3541.3	3049.0	1413.7	2026.7
Day 3	2608.3	2231.7	899.0§*	975.0§*	780.0§*	664.3§†	206.3§†	339.0§†
Day 8 (predose)	2348.7	2117.0	1230.7‡	1361.7	1312.0‡	1398.7	907.3‡*	1598.3
Day 10	2234.0	2207.3	904.0*	1109.7	1414.3	1224.0	1039.7	1832.3
Day 30	2174.3	2224.7	937.3‡	1348.0	834.7‡	1489.0	673.3‡*	1187.7
Natural Killer Cells (cell/µL)								
Day 1 (predose)	338.7	951.7	871.0*	567.0	702.0	1149.3	660.3	506.7
Day 3	660.0	798.7	674.3	454.3	337.7‡	322.7‡	134.3§†	126.7§*
Day 8 (predose)	302.0	922.0	703.3	736.3	512.3	635.3	372.3	307.7‡*
Day 10	239.7	827.3	447.3	568.7	203.3	240.7§*	177.3	185.3§†
Day 30	306.3	943.3	689.3	836.7	521.0	755.7	440.3	339.3
Activated HLA-DR+ Helper (CD4+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	3.10	1.50	1.50	1.70	1.50	0.87	1.30‡	3.80
Day 3	2.67	1.23	2.57	2.80§†	3.20	2.20‡	3.50	3.97§†
Day 8 (predose)	2.90	1.53	2.30	2.47	3.63	2.37	2.97	3.10‡*
Day 10	2.00	1.40	2.23	2.60‡	3.83	3.57§†	2.47	4.90§†
Day 30	2.23	1.70	2.37	2.13	3.30	2.03	3.13	2.70
Activated HLA-DR+ Cytotoxic (CD8+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	8.17	4.57	4.80	5.43	3.83§*	2.73	3.23§†	5.80
Day 3	7.30	3.97	12.37	10.60*	10.43	7.17	8.20	12.60§*
Day 8 (predose)	8.87	4.27	9.17	9.03	10.47	5.07	6.40	5.93
Day 10	6.17	3.97	7.70	10.57*	7.07	4.80	4.10	5.53

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 30	6.57	5.70	7.63	9.03	7.77	6.47	11.23	8.17
Activated CD69+ Helper (CD4+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	1.53	0.43	0.37	0.70	0.93	0.33	0.30	0.37
Day 3	1.17	0.30	5.73‡	5.37§*	12.03§*	5.73‡	8.17‡*	10.17§†
Day 8 (predose)	2.13	0.43	3.10	2.17‡	9.20	3.67§*	3.70	3.80§*
Day 10	0.90	0.37	3.60*	4.40‡	8.37*	3.77‡	2.13	3.70‡
Day 30	1.63	0.93	2.47	3.23‡	9.30	3.90‡	1.80	3.80‡
Activated CD69+ Cytotoxic (CD8+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	4.43	2.67	3.10	2.87	2.47	3.97	1.93	3.47
Day 3	3.70	1.47	30.03‡	20.93‡	29.07§*	24.77‡	21.40‡	26.43‡
Day 8 (predose)	6.30	2.07	17.37‡	8.70‡	27.87§*	20.20§†	30.10§*	16.13§†
Day 10	2.83	1.73	17.43‡	16.30‡	30.10§*	29.70§†	26.20‡*	28.57§†
Day 30	4.27	4.60	14.07	14.13‡	23.87	24.47§*	11.70	27.80§*
Activated CD25+ Helper (CD4+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	2.667	3.433	2.200	1.900*	4.433	3.167	3.467	4.667
Day 3	2.033	3.700	1.867	2.000	4.733‡	4.233	3.100‡	6.133
Day 8 (predose)	2.800	3.767	2.433	2.233	4.733	3.567	3.133	6.867
Day 10	3.400	4.367	3.900	2.833	7.833§*	5.600	7.900§†	6.533
Day 30	3.333	3.433	3.233	1.600	4.500	2.000	2.667	3.633
Activated CD25+ Cytotoxic (CD8+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	0.400	0.733	0.800	0.567	0.833	0.700	0.800	0.967
Day 3	0.367	0.833	1.700	0.600	1.467	1.100	1.433	2.033
Day 8 (predose)	0.467	0.767	0.900	0.600	0.633	0.533	0.433	0.733
Day 10	0.667	1.033	1.233	0.867	2.133	1.233	1.400	2.033
Day 30	0.600	0.933	1.133	0.667	1.433	0.733	0.967	1.300
Proliferating Ki-67+ Helper (CD4+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	3.87	6.53	3.33	7.97	3.63	4.20§*	4.57	5.27‡
Day 3	5.67	5.40	10.97‡	12.10§*	17.27§†	17.07§†	33.57§†	28.93§†
Day 8 (predose)	4.60	8.20	12.40‡	18.93‡	27.20§†	33.40§†	43.93§†	45.13§†
Day 10	6.07	7.00	20.70‡	23.70‡	49.90§†	60.37§†	64.33§†	66.37§†
Day 30	5.30	7.03	15.43‡	10.63	21.93§*	22.93‡	22.20§*	16.67‡
Proliferating Ki-67+ Cytotoxic (CD8+) T Cells (%)								
Day 1 (predose)	4.83	6.00	4.30	7.80	2.73*	4.53	3.50	6.17

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 3	7.80	4.30	21.03[§*]	19.63[§*]	30.70[§†]	25.60[§†]	64.03[§†]	42.27[§†]
Day 8 (predose)	5.00	5.37	16.03[‡]	29.10[‡]	34.53[§†]	46.53[§*]	49.03[‡†]	53.37[§†]
Day 10	7.13	6.53	24.20[‡]	33.07[‡]	41.70[§†]	56.83[§†]	44.70[§†]	58.70[§†]
Day 30	5.60	8.60	16.17[‡]	15.23	21.80[§*]	22.83[‡]	27.03[§†]	22.63[‡]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[c]								
Spleen								
Absolute (g)	8.832	6.816	1.84	1.03	1.71	1.56	1.57	1.17
Relative (g/100 g body weight)	0.155	0.178	1.83	1.14	1.70	1.79	1.57	1.31
Relative (g/g brain weight)	0.119	0.102	1.94	1.05	1.73	1.54	1.58	1.19
Gross Pathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Skin – Abnormal color	0	0	0	0	0	1	1	1
Histopathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Skin								
Hyperplasia, Epidermis								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, perivascular								
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	1
Erosion								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Ulcer								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Increased cellularity, White pulp								
Minimal	0	0	1	2	2	2	0	0
Mild	0	0	1	1	1	1	2	1
Increased cellularity, Germinal center								
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
Mild	0	0	0	1	0	1	0	0
Decreased cellularity, Germinal center								

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.01		0.05		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	0	0	1	0	1	1	2	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	3
Lymph node, Axillary								
Increased cellularity, Lymphocyte								
Minimal	0	0	2	0	0	1	2	1
Mild	0	0	1	0	1	1	1	0
Increased cellularity, Germinal center								
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Decreased cellularity, Germinal center								
Minimal	0	0	2	0	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	2	2	3	3
Lymph node, Mesenteric								
Increased cellularity, Lymphocyte								
Minimal	0	0	1	2	3	2	3	2
Mild	0	0	2	0	0	1	0	0
Increased cellularity, Germinal center								
Minimal	0	0	2	2	0	1	0	0
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Decreased cellularity, Germinal center								
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	1
Mild	0	0	0	0	2	0	3	2
Gut-Associated Lymphoid Tissue								
Increased cellularity, Lymphocyte								
Minimal	0	0	3	1	2	3	1	1
Mild	0	0	0	1	0	0	1	1
Decreased cellularity, Germinal center								
Minimal	0	0	0	0	2	2	2	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR380 (continued)

∗ p≤0.05; † p ≤0.01 = significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. ‡ p≤0.05; § p≤0.01 = significantly different from control based on appropriate trend comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HLA-DR = human leukocyte antigen - antigen D-related; M = male; NA = not applicable.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.
b. All samples below assay limit of quantitation (<40.0 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Subcutaneous Toxicity Study of PF-06863135 in Cynomolgus Monkeys

Test Article: PF-06863135

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: ~3-4 years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: NA
Method of Administration: Subcutaneous injection, once weekly (Days 1, 8, 15, 22, and 29), 0.03 mL/kg

Study Number: [redacted]GR290
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate 80, pH 5.8 / Solution
Special Features: Immunophenotyping
No Observed Adverse Effect Level: 0.3 mg/kg/week

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)		0.3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Toxicity	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL) Day 1 Day 22	NA[b] NA[b]		2090 2840	
AUC_{168} (ng•h/mL) Day 1 Day 22	NA[b] NA[b]		275000 378000	
Noteworthy Findings Died or Euthanized Moribund Toxicity	0	0	0	0
Body Weight (kg)	-	-	-	-
Food Consumption (visual assessment)	-	-	-	-
Immunophenotyping[c] IL-2 (pg/mL) D1_H0 D1_H6 D1_H24 IL-6 (pg/mL) D1_H0 D1_H6 D1_H24	 <3.20-14.66 <3.20-13.86 <3.20-14.79 <3.20-5.50 <3.20-6.88 5.00-60.33	 <3.20-18.98 <3.20-15.57 <3.20-13.86 <3.20-15.40 <3.20-5.35 <3.20-6.09	 <3.20 11.9x - <3.20 69.15x-445.48x -	 4.88-134.60 6.94x - <3.20-57.44 21.56x, 293.90x -

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR290 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**0.3**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**
IL-10 (pg/mL)				
D1_H0	<12.20-73.81	<12.20-61.91	<12.20-18.89	37.64-1406.62
D1_H6	<12.20-45.68	<12.20-106.10	26.04x, 95.75x, 824.61x	13.14x, 99.00x
D1_H24	<12.20-52.30	<12.20-46.42	7.09x	-
IFN-γ (pg/mL)				
D1_H0	<3.20-6.84	<3.20-16.70	<3.20	6.32-92.34
D1_H6	<3.20-4.83	<3.20-15.92	7.40x, 31.53x, 86.18x	7.16x, 10.40x
D1_H24	<3.20-5.70	<3.20-12.87	-	-
Organ Weights	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Histopathology				
Number Examined	2	3	3	3
Injection Site				
Inflammation	0	0	2	3
Minimal	-	-	1	3
Moderate	-	-	1	-

- = No noteworthy findings; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; C_{max} = maximum observed concentration; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IFN-γ = interferon gamma; IL = interleukin; M = male; NA = not applicable.

a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.

b. All samples below assay limit of quantitation (<40.0 ng/mL).

c. Range of ratios for control group and test article-related findings relative to corresponding baseline values are listed. Individual parameter values reported as less than or greater than limit of quantitation are set equal to the limit to calculate the ratio.

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 3-Month (Once Weekly) Subcutaneous Injection Toxicity Study of PF-06863135 in Cynomolgus Monkeys

Test Article: PF-06863135

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: 5-8 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 3 Months
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Subcutaneous injection, once weekly (14 doses), 2 mL/kg

Study Number: [redacted]GR302
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL edetate disodium, 0.2 mg/mL polysorbate 80, pH 5.8 / Solution
Special Features: Immunophenotyping, cytokine and plasma cell (ELISPOT) analyses were performed
No Observed Adverse Effect Level: Not determined – adverse effects at all doses

Dose[a] (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**0.3**		**3**		**6**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Toxicity	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA[b]		1.52		15.9		40.9	
Day 43	NA[b]		6.31		83.4		185	
Day 85	NA[b]		4.97		101		NA	
AUC_{last} (µg•h/mL)								
Day 1	NA[b]		208		2100		5630	
Day 43	NA[b]		826		12200		26900	
Day 85	NA[b]		647		15300		NA	
ADA Analysis (% incidence) Days 1-92	0.00		33.3		0.00		0.00	
Noteworthy Findings Died or Euthanized Moribund	0		1[c]		4[c]		6[c]	
Mean Body Weight Gain Days 1-92 (kg)[d]	+0.4	+0.5	-0.5	-0.4*	-1.0	-0.7	-0.7	-0.6
Food Consumption (visual assessment)	-	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Clinical Observations								
Decreased activity	1	0	2	2	1	1	2	0
Decreased skin turgor	0	0	1	2	0	1	0	0
Discoloration, red (skin)	0	0	2	3	0	2	1	1
Petechia	0	0	2	2	0	0	0	1

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Feces (liquid/soft/mucoid)	3	3	3	3	3	3	3	3
Emesis	0	0	3	1	3	3	3	2
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Hematocrit (%)								
Day 66/67 (F/M)	46.23	44.60	39.67	42.43	44.75	35.00	46.60	42.30
Day 93	44.73	44.13	36.35	43.20	40.00	47.10	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)								
Day 66/67 (F/M)	13.60	12.70	11.77	12.03	12.75	10.05	13.80	11.75
Day 93	13.57	12.53	10.90	12.43	11.30	14.20	NA	NA
Red blood cells (10^6/µL)								
Day 66/67 (F/M)	6.563	6.480	5.943	6.503	6.770	5.200	6.380	6.565
Day 93	6.250	6.263	5.165	6.527	5.760	7.130	NA	NA
Red cell distribution width (%)								
Day 66/67 (F/M)	14.83	14.37	14.57	14.37	13.65	17.25	13.55	14.60
Day 93	14.77	14.63	17.25	15.07	17.10	14.10	NA	NA
Large unstained cells (10^3/µL)								
Day 66/67 (F/M)	0.117	0.093	0.200	0.113	0.505	0.300	0.175	0.465
Day 93	0.117	0.110	0.190	0.210	0.390	0.620	NA	NA
Reticulocytes (10^3/µL)								
Day 66/67 (F/M)	41.3	40.7	52.7	41.0	33.5	155.5	54.5	69.0
Day 93	48.0	52.3	114.5	60.7	86.0	64.0	NA	NA
Activated partial thromboplastin time (sec)								
Day 93	21.83	22.47	25.10	22.77	24.00	22.80	NA	NA
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 93	208.0	197.3	336.5	187.0	450.0	217.0	NA	NA
Clinical Chemistry – Day 93								
Calcium (mg/dL)	9.80	9.83	9.40	10.30	8.80	9.80	NA	NA
Chloride (mmol/L)	111.3	108.7	103.5	108.3	108.0	113.0	NA	NA
Potassium (mmol/L)	4.20	4.47	4.60	4.40	3.80	4.50	NA	NA
Total protein (g/dL)	7.90	8.23	5.85	6.57*	5.20	5.80	NA	NA
Albumin (g/dL)	4.63	4.60	4.30	4.93	3.70	4.40	NA	NA

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Globulin (g/dL)	3.27	3.63	1.55	1.63*	1.50	1.40	NA	NA
Albumin/Globulin Ratio	1.40	1.27	2.80	3.00*	2.50	3.10	NA	NA
Triglycerides (mg/dL)	79.7	62.0	356.5	59.7	55.0	67.0	NA	NA
Gamma glutamyl transferase (U/L)	118.3	76.0	71.5	64.7	74.0	53.0	NA	NA
IgA (mg/dL)	384.20	370.50	12.00	12.00†	12.00	12.00	NA	NA
IgM (mg/dL)	85.70	119.00	8.00	16.60*	8.00	8.00	NA	NA
IgG (mg/dL)	897.3	1212.7	124.5	104.3*	50.0	50.0	NA	NA
CRPHS[e]								
Day 57 (24 HPD)	1.06x-1.75x	0.36x-1.89x	-	-	33x-86x	21x-23x	340x	18x-50x
Day 58-91 (unscheduled deaths)	NA	NA	21x	NA	21x	358x	20x-133x	229x
Day 93	1.35x-2.38x	1.09x-3.00x	53x	-	-	-	NA	NA
Immunophenotyping-Blood[f]	**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**	
B cells	0.72x-1.23x		0.00x-0.01x		0.00x		0.00x	
T cells	0.82x-1.38x		0.33x-0.61x		0.20x-0.62x		0.18x-0.70x	
CD4+T cells	0.80x-1.33x		0.33x-0.68x		0.23x-0.53x		0.23x-0.72x	
CD8+T cells	0.64x-1.57x		0.30x-0.51x		0.10x-0.59x		0.10x-0.56x	
NK cells	0.58x-1.62x		2.01x-2.95x		1.95x-2.24x		1.89x-4.13x[g]	
CD69+CD4+T cells (%)	1.14x-4.34x		5.44x-13.11x		4.84x-7.23x		5.51x-11.03x	
CD69+CD8+T cells (%)	0.95x-3.63x		6.96x-14.02x		4.25x-5.03x		4.57x	
Ki-67+CD4+T cells (%)	0.63x-4.24x		5.38x-11.35x		4.47x-9.13x		4.70x-7.36x	
Ki-67+CD8+T cells (%)	0.86x-13.17x		14.38x-32.80x		18.36x-29.42x		14.41x-29.44x	
Cytokines[e]	**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**	
IL2								
Day 57 (0 HPD)	0.69x-1.29x		-		-		5.95x	
Day 57 (7 HPD)	0.69x-1.00x		-		-		4.95x	
Unscheduled euthanasia	NA		-		-		5.63x	
Day 92 (0 HPD)	0.69x-1.39x		26.75x		-		NA	
IL2RA								
Day 57 (24 HPD)	0.88x-1.65x		2.17x-5.52x		2.87x-5.23x		4.02x-11.62x	
Unscheduled euthanasia	NA		13.94x		2.83x-8.13x		3.79x-15.05x	
Day 93 (0 HPD)	1.02x-2.21x		3.96x-8.47x		3.04x-6.90x		NA	
IL6								
Day 1 (7 HPD)	1.00x-2.28x		116.64x-377.03x		287.13x-1179.36x		223.57x-1349.14x	
Day 57 (0 HPD)	1.00x		-		16.39x		605.74x	

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**0.3**		**3**		**6**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
	Combined Sexes		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**	
Day 57 (7 HPD)	1.00x		-		7.74x		2.39x-768.31x	
Unscheduled euthanasia	NA		10.94x		2.42x-216.82x		2.04x-3.32x	
Day 92 (0 HPD)	1.00x		3.75x-6.91x		3.69x		NA	
Day 92 (7 HPD)	1.00x		4.75x		5.18x		NA	
IL10 (pg/mL)								
Day 1 (7 HPD)	1.00x-1.69x		32.36x-112.54x		22.72x-1166.71x		285.49x-805.00x)	
Day 57 (0 HPD)	1.00x		2.21x		3.07x		17.41x-39.65x	
Day 57 (7 HPD)	1.00x		-		-		18.48x-39.86x	
Unscheduled euthanasia	NA		21.07x		2.56x-12.22x		2.01x-2.42x	
Day 92 (0 HPD)	1.00x		2.22x		-		NA	
IFNγ (pg/mL)								
Day 1 (7 HPD)	1.00x		12.65x -80.13x		78.37x-296.01x		59.11x-235.50x	
Day 57 (0 HPD)	1.00x		-		-		3.91x	
Day 92 (7 HPD)	1.00x		3.89x		-		NA	
Antibody-Secreting Cell Analysis (in PBMCs)[h]	**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**	
Mean ASCs/10^6 cells – Day 43	587-1156		0-3		1-3		1-15	
Urinalysis								
pH	7.33	-	6.75	-	7.50	-	NA	-
Protein (100g/dL)	-	-	present	present	present	-	-	-
Blood	-	-	present	present	present	-	-	-
Organ Weights – Unscheduled Deaths[c]	NA	NA	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Gross Pathology – Unscheduled Deaths[c]								
Number Examined	0	0	1	0	2	2	3	3
Small intestine, duodenum								
Abnormal color, dark	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Stomach								
Abnormal surface, raised	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Kidney								
Abnormal color, pale	NA	NA	0	0	0	2	0	0
Liver								
Abnormal color, pale	NA	NA	0	0	0	1	1	1
Lung								
Abnormal color, pale	NA	NA	0	0	0	1	1	1

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Adrenal gland								
Abnormal color, dark	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Thymus								
Abnormal size, small	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Histopathology – Unscheduled deaths[c]								
Number Examined	0	0	1	0	2	2	3	3
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid follicle								
Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Mild	NA	NA	0	0	0	2	0	0
Marked	NA	NA	1	0	2	0	3	1
Deposition pigment, red pulp								
Minimal	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Mild	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Lymph node, mesenteric								
Necrosis								
Mild	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Marked	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	NA	NA	1	0	1	0	0	0
Mild	NA	NA	0	0	0	1	3	1
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Lymph node, axillary								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Lymph node, draining								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	NA	NA	0	0	1	0	1	1
Mild	NA	NA	0	0	1	1	2	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Gut-associated lymphoid tissue								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	NA	NA	1	0	0	0	2	1

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mild	NA	NA	0	0	2	1	0	1
Marked	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Small intestine, duodenum								
Atrophy, mucosa								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	0	1
Mild	NA	NA	0	0	1	1	0	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	1
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	0	1	1	1	1
Mild	NA	NA	0	0	1	1	0	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	1
Small intestine, jejunum								
Atrophy, mucosa								
Mild	NA	NA	0	0	2	1	0	1
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	1	1
Mild	NA	NA	0	0	2	1	1	1
Small intestine, ileum								
Atrophy, mucosa								
Minimal	NA	NA	0	0	0	2	1	1
Mild	NA	NA	0	0	1	0	1	0
Moderate	NA	NA	0	0	1	0	0	1
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	1	0	0	2	2	1
Mild	NA	NA	0	0	2	0	0	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Large intestine, cecum								
Atrophy, mucosa								
Minimal	NA	NA	0	0	1	2	1	1
Mild	NA	NA	0	0	1	0	1	1
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	0	1	1	1	2
Mild	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Large intestine, colon								
Atrophy, mucosa								
Minimal	NA	NA	1	0	1	2	1	1
Mild	NA	NA	0	0	1	0	1	0
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	1	0	1	1	0	1
Mild	NA	NA	0	0	0	1	1	1
Moderate	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Necrosis, crypt								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	1	0
Mild	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Stomach								
Atrophy, mucosa								
Minimal	NA	NA	1	0	0	1	0	1
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Kidney								
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	0	0	2	2	2
Mild	NA	NA	1	0	2	0	0	1
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Degeneration/regeneration, tubular epithelium								
Minimal	NA	NA	1	0	1	2	0	0
Mild	NA	NA	0	0	1	0	0	1
Moderate	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Liver								
Inflammation, neutrophilic								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	1	2
Vacuolation, hepatocyte								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	2	0
Mild	NA	NA	1	0	1	1	0	1
Lung								

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Inflammation, neutrophilic								
Minimal	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Epididymis								
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	NA	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Mild	NA	NA	1	NA	1	NA	1	NA
Organ Weights[i] – Day 93								
Kidney								
Absolute (g)	25.983	15.316	1.22	1.08	1.29	1.09	NA	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.317	0.364	1.51	1.25	1.58	1.04	NA	NA
Relative (g/g brain weight)	0.335	0.237	1.15	1.11	1.23	1.25	NA	NA
Thymus								
Absolute (g)	4.3657	3.1150	0.45	0.73	0.63	0.97	NA	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.0534	0.0746	0.60	0.84	0.76	0.92	NA	NA
Relative (g/g brain weight)	0.0558	0.0486	0.45	0.73	0.60	1.10	NA	NA
Brain								
Absolute (g)	78.007	64.575	1.01	0.98	1.05	0.87	NA	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.951	1.537	1.36	1.14	1.28	0.83	NA	NA
Gross Pathology – Day 93								
Number Examined	3	3	2	3	1	1	NA	NA
Adrenal gland								
Abnormal color, pale	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Kidney								
Abnormal color, pale	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Liver								
Abnormal color, pale	0	1	1	0	0	0	NA	NA
Lung								
Abnormal color, pale	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Stomach								
Abnormal color, pale	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Thymus								
Abnormal size, small	0	0	1	0	0	0	NA	NA

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology – Day 93								
Number Examined	3	3	2	3	1	1	0	0
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid follicle								
Mild	0	0	0	1	0	1	NA	NA
Moderate	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Marked	0	0	2	0	1	0	NA	NA
Deposition pigment, red pulp								
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Lymph node, mesenteric								
Necrosis								
Moderate	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	0	2	1	0	0	1	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Lymph node, axilary								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Mild	0	0	1	0	1	0	NA	NA
Lymph node, draining								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	0	0	2	1	1	1	NA	NA
Gut-associated lymphoid tissue								
Decreased cellularity, lymphocyte								
Minimal	0	0	1	0	1	1	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Small intestine, jejunum								
Atrophy, mucosa								
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Small intestine, ileum								
Atrophy, mucosa								
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Large intestine, cecum								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Large intestine, colon								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	0	2	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	0	0	2	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Necrosis, crypt								
Minimal	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Stomach								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Kidney								
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	1	0	3	1	1	NA	NA
Mild	0	0	2	0	0	0	NA	NA
Degeneration/regeneration, tubular epithelium								
Minimal	0	0	2	1	0	0	NA	NA
Liver								
Inflammation, neutrophilic								
Minimal	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Vacuolation, hepatocyte								
Mild	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Lung								

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Dose[a] (mg/kg/week)	0 (Control)		0.3		3		6	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Inflammation, granulomatous								
Minimal	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Mild	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Lymph node, mesenteric								
Necrosis								
Moderate	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Epididymis								
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Mild	0	NA	2	NA	0	NA	NA	NA

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; ADA = anti-drug antibody; ASC = antibody secreting cell; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from the start of dose administration to the last observed quantifiable concentration; C_{max} = maximum observed concentration; CRPHS = c-reactive protein, high sensitivity; ELISPOT = enzyme-linked immune absorbent spot; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPD = hours postdose; IgA = immunoglobulin A; IFN = interferon; IgG = immunoglobulin G; IgM = immunoglobulin M; IL = interleukin; M = male; NA = not applicable; NE = not evaluated; NK = natural killer; PBMC = peripheral blood mononuclear cells.

a. All doses are expressed as mg of protein per kg of body weight per week.

b. All samples below assay limit of quantitation (<0.040 μg/mL).

c. Unscheduled euthanasia were the following: one 0.3 mg/kg/week animal on Day 91. Four 3 mg/kg/week animals on Days 59, 64, 70, and 78; six 6 mg/kg/week animals on Days 58, 61, 77, 78, 81, and 82. All deaths were considered test article related. Additional details regarding sex, clinical signs and toxicological considerations are in the table below.

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR302 (continued)

Text Table. Unscheduled Euthanasia and Clinical Signs

Dose (mg/kg)	Sex	Animal	Day of Euthanasia	Toxicologically Noteworthy Clinical Signs Associated with Secondary Infection and Declining Clinical Condition
0.3	Male	4	91	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces; decreased activity, hunched posture
3	Male	8	78	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces
	Male	9	59	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces; decrease activity, recumbency
	Female	19	70	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces
	Female	20	64	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces; decreased skin turgor, decreased activity, hunched posture
6	Male	10	82	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces, dilated right pupil
	Male	11	61	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces; decreased activity; hunched posture
	Male	12	78	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces; decreased activity; hunched posture
	Female	22	81	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces, thin appearance, distended abdomen
	Female	23	77	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces
	Female	24	58	Intermittent and recurrent discolored or liquid feces, cool to touch, low body temperature

d. Day 92 or final body weight (based on final weight collected prior to unscheduled euthanasia).
e. Ratio of the largest change from baseline values in control animals, and test article-related findings relative to individual baseline values are listed for low to high dose groups among all time points analyzed.
f. Range of the largest change (among all time points analyzed) in ratio to baseline observed in individual animals. Ratio to baseline was calculated using either the absolute cell numbers or the percentages (as indicated by "%").
g. One 6 mg/kg/week female had a marked decrease in NK cells (0.11x) from baseline prior to unscheduled euthanasia.
h. Range of individual values of both males and females per group.
i. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article.

2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE

Test Article: PF-06863135

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/dose)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Monkey/Cynomolgus	Subcutaneous, 0.03 mL/kg (20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate 80, pH 5.8 / Solution) Lot [redacted]	29 days[b,c]	0, 0.3	3M/3F	**0.3 mg/kg:** Minimal or moderate inflammation was present at the injection site. Injection site inflammation was not adverse because the epidermis and adnexa were not compromised (indicating no loss of function), and there were no associated clinical signs or macroscopic findings.	[redacted]GR290 / Yes

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.
b. Doses were administered on Days 1, 8, 15, 22, and 29.
c. Refer to Tabulated Summary 2.6.7.7B for toxicokinetic values.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06863135

Type of Test	Test System	Test Article Lot Number	Concentrations	Number	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Immunotoxicity Studies						
In vitro cytokine release assay	Human whole blood	[redacted]	0, 0.005, 0.5, 50 µg/mL	Human: 8 donors	IFN-γ production in all donors' blood, and TNF-α and IL-6 in a subset of the donors' blood.	[redacted]GR008 /No
Impurity Studies						
In vitro cytokine release assay	Human PBMCs	[redacted]	0.0032 to 50 nM; ≤[redacted]% [redacted]; ≤[redacted]% [redacted]	Human: 4 donors	Up to [redacted]% of [redacted] or [redacted]% of [redacted] did not increase inflammatory cytokine release (eg, TNF-α, IL-2, and IFN-γ) above that induced by PF-06863135 alone.	[redacted]LJ023 /No
Other Studies						
In Vitro						
BCMA Expression	Cynomolgus monkey tissues[b]/blood; Human blood	NA	NA	Monkey: 2 donors/tissue, 7 blood donors; Human: 5 blood donors	BCMA+ cells from monkey and human blood were of similar frequency and displayed a similar phenotype. In monkey tissues, BCMA+ cells were rare (<0.4% of white blood cells), most abundant in bone marrow, and displayed a more mature/terminally differentiated phenotype than B cells.	[redacted]LJ024 /No
Tissue Cross-Reactivity Methods Development	Human cerebellum, kidney, lymph node, spleen, thymus, tonsil	[redacted]	0.5 to 20 µg/mL	2 donors/tissue	PF-06863135 concentrations of 1 and 5 µg/mL were selected for the pivotal tissue cross-reactivity staining. Additionally, the staining method and positive/negative controls were qualified for use.	20104929 ([redacted]LJ087) /No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06863135

Type of Test	Test System	Test Article Lot Number	Concentrations	Number	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Tissue Cross-Reactivity	Monkey/ Cynomolgus, Human tissues	[redacted]	1 and 5 µg/mL	Monkey: 2 donors/tissue Human: 3 donors/tissue	Staining was generally similar in monkey and human tissues. There was expected membrane and cytoplasm staining of resident, migrating, and/or infiltrating mononuclear cells, and bone marrow cells, in most human and monkey tissues examined, including lymphocytes in human blood smears. Unexpected cytoplasmic staining occurred in several epithelia in the human and monkey tissues. Due to the similar staining pattern in monkey and human and the cytoplasmic nature of the unexpected staining, it was considered of low toxicological relevance for the clinic.	20105532 ([redacted]LJ088) /Yes

BCMA = B cell maturation antigen; GLP = Good Laboratory Practice; IFN = interferon; IL = interleukin; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TNF = tumor necrosis factor.
a. [redacted] or [redacted].
b. Spleen, mesenteric lymph node, and bone marrow.