目次

略語・略号一覧 2
注記 2
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 6
2.6.6.3　反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1　サルの 13 日間反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.2　サルの 7 週間反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.3　サルの 13 週間反復投与毒性試験 9
2.6.6.3.4　サルの 39 週間反復投与毒性試験 12
2.6.6.4　遺伝毒性試験 15
2.6.6.5　がん原性試験 15
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 16
2.6.6.6.1　胚・胎児発生に関する試験 16
2.6.6.6.2　幼若動物の 13 週間反復投与毒性試験 17
2.6.6.7　局所刺激性試験 19
2.6.6.7.1　サルを用いた硝子体内投与による眼刺激性試験 19
2.6.6.8　その他の毒性試験 20
2.6.6.8.1　抗体依存性細胞傷害試験 20
2.6.6.8.2　ヒト及びカニクイザルの正常組織を用いる交差反応性試験 20
2.6.6.8.3　溶血性及び血液適合性試験 20
2.6.6.9　考察及び結論 21
2.6.6.10　参考文献 23

表目次

表 2.6.6-1　テプロツムマブの毒性試験 5
表 2.6.6-2　サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 日間反復投与毒性試験） 7
表 2.6.6-3　サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値(7 週間反復投与毒性試験) 9
表 2.6.6-4　サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 週間反復投与毒性試験） 12
表 2.6.6-5　サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（39 週間反復投与毒性試験） 13
表 2.6.6-6　幼若カニクイザルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 週間反復投与毒性試験） 18

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
AUC	area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}48h}$	area under the concentration-time curve from 0 to 48 hours	投与後 0～48 時間の濃度－時間曲線下面積
C_{10min}	concentration at 10 minutes postdose	投与後 10 分の濃度
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
CTD	Common Technical Document	コモン・テクニカル・ドキュメント
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
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
IGF	insulin-like growth factor	インスリン様成長因子
IGF-1R	insulin-like growth factor-1 receptor	インスリン様成長因子 1 受容体
IV	intravenous	静脈内
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
TED	thyroid eye disease	甲状腺眼症
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス

注記

当初、テプロツムマブ（遺伝子組換え）は各種の悪性進行固形腫瘍（[redacted]社）及び糖尿病性黄斑浮腫［[redacted]（[redacted]）社］の治療を目的として開発が進められた。これらの開発はそれぞれ有効性の欠如及び被験者組み入れの困難さのため中止された。20[redacted]年[redacted]月に[redacted]社により、テプロツムマブの甲状腺眼症（TED）治療のための開発が開始された。20[redacted]年[redacted]月に Horizon Pharma, USA 社が[redacted]社を買収し、活動性 TED の開発プログラムを継承した。2020 年 1 月に米国食品医薬品局（FDA）は TED 治療用にテプロツムマブを承認した。

テプロツムマブは HZN-001（Horizon 社）、RV 001（[redacted]社）、並びに R1507 及び RO4858696（[redacted]社）の開発コードが使用されている。本文書ではプロトコール、試験報告書及び公表論文等の表題を除いて、主に「テプロツムマブ」の名称を使用する。

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

テプロツムマブは、甲状腺眼症（TED）の治療を目的とするインスリン様成長因子 1 受容体（IGF-1R）に結合する完全ヒト型モノクローナル抗体である。テプロツムマブの推奨用量は、初回 10 mg/kg の静脈内持続投与後、3 週間ごとに 20 mg/kg の静脈内注入である。推奨治療期間は 8 回投与である。

テプロツムマブは、カニクイザルの IGF-1R に対してヒトの IGF-1R と同等の親和性があり交差反応性を有すること、並びに毒性試験で一般的に使用される他の動物種に対して交差反応性がないこと（テプロツムマブが IGF-1R と交差反応を示す動物種[2.6.2.2.4]項、参照）から、テプロツムマブの毒性試験に使用する動物種としてカニクイザルを選定した。臨床投与経路として静脈内持続投与を予定していることから、in vivo 毒性試験ではテプロツムマブを静脈内投与した（眼局所刺激性試験を除く）。

サルを用いた最長 39 週間の反復投与毒性試験を実施した（表 2.6.6-1）。眼局所刺激性試験を除き、すべての in vivo 毒性試験でトキシコキネティクス（TK）データを収集した。特に重要な毒性試験及び TK 試験は、ICH ガイドライン及び GLP 基準に従って実施した。

また、非 GLP 眼局所刺激性試験、健康人及びカニクイザルの組織を用いた GLP 適用交差反応性試験、並びに溶血性及び血液適合性試験を実施した。非 GLP 適用の抗体依存性細胞傷害（ADCC）試験も実施した。すべての毒性試験の成績を毒性試験概要表[2.6.7]に示した。非臨床毒性試験のすべての試験報告書をモジュール 4 に掲載した。

テプロツムマブは、IGF-1R 発現が報告される健康人の組織で各種細胞／組織と交差反応性を示した。カニクイザルの組織でも同等の組織交差反応性が観察され、この霊長類がテプロツムマブの毒性試験に適切な動物種であることが示唆された。テプロツムマブは ex vivo で 25 mg/mL の濃度まで、ヒト及びカニクイザルの血液で溶血を引き起こさず、ヒト及びカニクイザルの血清／血漿と適合性を示した。抗体濃度 10 µg/mL までテプロツムマブは ex vivo で顕著な ADCC を誘発しない。

テプロツムマブは GLP 適用のカニクイザルを用いた毒性試験において、1 日目の初回負荷用量が最高 150 mg/kg、その後最高 75 mg/kg までの週 2 回 7 週間投与、又は最高 75 mg/kg の週 1 回 39 週間投与における忍容性は良好であった。これらの試験で投与と関連する死亡例はみられず、臨床症状、血液学的検査、血清生化学的検査、心電図検査及び眼科的検査で有害所見は認められなかった。テプロツムマブの 25 mg/mL 溶液を 3 mL/kg の容量で静脈内投与した結果、投与部位の忍容性は良好であり、注射部位反応を示す肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。

7 週間又はそれ以上の反復投与により認められた投薬に関連する唯一の病理組織学的変化として、すべての投与量で胸腺のリンパ球減少（胸腺退縮、胸腺の低細胞性）が観察された。7 週間及び 13 週間投与試験で所見の重症度に関して用量相関はみられず、成獣群及び若齢群のいずれも影響が認められた。反復投与毒性試験の種々の間隔で末梢血リンパ球を用いたイムノフェノ

タイピング検査を実施した結果、リンパ球サブセットの数にテプロツムマブ投与に起因すると考えられる明瞭な変化は認められなかった。循環血中白血球数の減少及び末梢リンパ系組織（リンパ節及び脾臓）の変化はいずれも観察されなかった。本試験では胸腺に顕著な変化がみられたものの、影響の認められたサルで日和見感染はみられなかった。胸腺所見の一部又は完全な回復性を示す病理組織学的エビデンスとして、外観は正常であり限局性のリンパ球過形成（再増殖）が認められた。胸腺で細胞密度減少の回復が不完全であったのは、回復性試験の動物が回復期間をとおして持続的に循環血中の高濃度のテプロツムマブに曝露されたことに起因する可能性が考えられる。投与に関連した完全に可逆的な変化が数種の血液学的及び血清生化学的検査パラメータで観察されたが、病理学的に関連する変化は認められなかった。テプロツムマブを最高 75 mg/kg までの用量で週 1 回 39 週間投与後に認められた臨床病理学的及び病理組織学的変化は、有害所見とは考えられなかった。また、7 及び 13 週間投与毒性試験で観察された所見と慢性（39 週間）毒性試験の所見を比較して、新規所見あるいは重症度の増強はみられなかった。

モノクローナル抗体治療薬では、通常は標準的な変異原性評価は必要とされない。バイオテクノロジー応用医薬品、特にモノクローナル抗体など高分子量のバイオ医薬品が体細胞や生殖細胞の核内で、デオキシリボ核酸（DNA）と求電子反応を引き起こす可能性は低い。

テプロツムマブのがん原性試験は実施していない。ICH S6(R1)ガイドラインに従い、バイオ医薬品においては標準的ながん原性試験は一般的に不適当である。

胚・胎児発生に関する試験では、妊娠カニクイザルにテプロツムマブを 0（対照群）又は 75 mg/kg の用量で、妊娠 20 日～妊娠 142 日の帝王切開まで週 1 回急速静脈内投与した（最大 18 回投与）。妊娠 142 日の帝王切開で胎児の薬物曝露を評価した結果、テプロツムマブは血液－胎盤関門を通過することが確認され、胎児と母動物の薬物濃度比は 0.10～0.17 であった。75 mg/kg 群の胎児は妊娠日齢に比してはるかに小さく、頭蓋骨の変形、小顎症及び複数の骨／歯の骨化異常など、頭部に多数の外表及び骨格異常が認められた。胎児で観察された影響は、胎児の成長／発達の調節に関与することが知られている、インスリン様成長因子（IGF）のシグナル伝達経路阻害薬であるテプロツムマブの薬理作用と一致した。

幼若カニクイザルにテプロツムマブを 3、15 又は 75 mg/kg/週の用量で、週 1 回 13 週間急速静脈内投与した結果、おおむね良好な忍容性を示した。テプロツムマブと関連する有害な変化は、すべてのテプロツムマブ投与群で認められた体重増加量の減少、並びに骨量の減少及び皮質菲薄化を伴った骨幅狭小のみであった。

テプロツムマブをカニクイザルに週 2 回 7 週間又は週 1 回 39 週間静脈内投与したとき、注射部位反応は認められなかった。硝子体内投与は忍容性に乏しく、動物はテプロツムマブの投与により眼炎症を発現した。テプロツムマブの臨床投与経路は静脈内注射である。

以上より、テプロツムマブの非臨床安全性プロファイルは、GLP 適用の反復投与毒性試験（7～39 週間）、生殖発生毒性試験、眼刺激性試験、組織交差反応性試験及び血液適合性試験の実施により、十分に特性が明らかとなっている。テプロツムマブの忍容性はおおむね良好であり、最

高 75 mg/kg までの用量で週 1 回 39 週間静脈内投与により有害所見は認められなかった。カニクイザルにテプロツムマブを反復投与したときに影響がみられた主要な標的器官は胸腺であった。胸腺で認められた所見として、リンパ球減少（胸腺退縮、胸腺の低細胞性）を特徴とする組織学的変化が観察された。これらの変化は、結果として末梢リンパ球の減少や日和見感染の増加をもたらすことはなく、動物の全身状態に影響を及ぼさず、十分な休薬期間の後に回復すると考えられた。テプロツムマブは、胚・胎児発生において胎児体重の減少及び IGF 抑制の影響と一致する催奇形性作用のエビデンスを示した。これらの所見はモニター可能な毒性を意味しており、医療現場で管理可能あるいは適用を予定する患者集団で受容可能なリスクと考えられる。したがって、テプロツムマブの非臨床安全性プロファイルから、この抗体医薬品を TED の治療に使用することが支持される。

表 2.6.6-1 テプロツムマブの毒性試験

Study Type and Duration	Method of Administration	Species	Doses (mg/kg)[a]	GLP[b]
Repeat-Dose Toxicity				
13-day	IV bolus	Monkey	Twice weekly: 15	No
7-week	IV bolus	Monkey	Day 1 (loading dose): 0, 15, 50, 150 Followed by twice weekly: 0, 7.5, 25, 75	Yes
13-week	IV bolus	Monkey	Once weekly: 0, 3, 15, 75	Yes
39-week	IV bolus	Monkey	Once weekly: 0, 3, 15, 75	Yes
Reproductive and Developmental Toxicity				
Embryo-fetal development	IV bolus	Monkey	Once weekly: 0, 75	Yes
13-week juvenile	IV bolus	Monkey	Once weekly: 0, 3, 15, 75	Yes
Local Tolerance				
In vivo ocular	Intravitreal	Monkey	0, 1.25, 2.5 mg/eye	No
Other Toxicity Studies				
Antibody-dependent cellular cytotoxicity	In vitro	Human/DU 145	0.64, 3.2, 16, 80, 400, 2000, 10,000 ng/mL	No
Tissue cross reactivity	In vitro	Monkey	2 and 10 µg/mL	Yes
Tissue cross reactivity	In vitro	Human	2 and 10 µg/mL	Yes
Hemolytic potential and blood compatibility	In vitro	Monkey and human	12.5 and 25 mg/mL	Yes
Whole blood hemolysis and plasma flocculation	In vitro	Monkey and human	6.25 and 12.5 mg/mL	Yes

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous

a) Doses are in mg/kg, unless otherwise indicated.

b) An entry of “Yes” indicates that the study includes a GLP-compliance statement.

2.6.6.2 単回投与毒性試験

標準的なテプロツムマブの単回投与毒性試験は実施していない。しかし、サルを用いた 7 週間投与毒性試験では、初回負荷用量の最高 150 mg/kg（1 日目のみ、急速静脈内投与）まで忍容性が良好であった（2.6.6.3.2 項）。血清中最高濃度（C_{max}）が 3390 μg/mL に達した投与可能な最高用量で 1 週目に有害な臨床症状が認められなかったことから、別途、単回投与毒性試験を実施する必要はないと考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 サルの 13 日間反復投与毒性試験

試験番号[2136-005]（非 GLP）、概要表[2.6.7.6]、CTD 4.2.3.2-1

材料と方法

カニクイザルを用いた 13 日間投与毒性試験では、テプロツムマブを 15 mg/kg の用量で週 2 回 13 日間急速静脈内投与した。雌雄各 1 匹のサルにテプロツムマブの 15 mg/kg を 1、4、7 及び 11 日目に投与した。溶媒はヒスチジン 10 mmol/L 及び塩化ナトリウム 150 mmol/L を含有する pH 6.0 に調整した溶液で、投与容量を 1 mL/kg とした。TK 測定用の血清サンプルを 1、4 及び 11 日目の 0 時間（投与前）、並びに 1 及び 11 日目の投与後 10 分、2、8、24 及び 48 時間に採取した。

結果

死亡例はなく、有害な臨床症状や肉眼的／病理組織学的変化は観察されなかった。テプロツムマブに関連する生化学的検査値の変化として、アルカリホスファターゼ（ALP）のわずかな低値及びリパーゼのわずかな高値が認められた。血液学的検査値の変化として、赤血球数、血色素量及びヘマトクリットの減少、並びに網状赤血球数の増加が認められた。試験期間を通して観察された血液学的検査値の変化は、おそらく反復して採血を行った結果と考えられた。

15 mg/kg/dose の用量で週 2 回 13 日間投与したとき、全身曝露量［投与後 0～48 時間の血清中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}48h}$）及び投与後 10 分の血清中濃度（C_{10min}）］に軽度～中等度の蓄積（蓄積係数 2～8）が認められた（表 2.6.6-2）。明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.6-2 サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 日間反復投与毒性試験）

Teprotumumab (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}48h}$ (µg•h/mL)		C_{10min} (µg/mL)	
	Day 1	Day 11	Day 1	Day 11
15	12,209	93,511	444	685

Source: Study No. [2136-005]
$AUC_{0\text{-}48h}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 48 hours; C_{10min} = concentration at 10 minutes postdose

結論

以上の所見に基づき、テプロツムマブを 15 mg/kg の用量で週 2 回 13 日間投与したとき、忍容性は良好であった。無毒性量は決定されなかった。

2.6.6.3.2 サルの 7 週間反復投与毒性試験

試験番号[6131-477]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.7.1]、CTD 4.2.3.2-2

材料と方法

カニクイザルを用いた 7 週間投与毒性試験では、各群雌雄各 5 匹にテプロツムマブを 0（対照群）、7.5、25 又は 75 mg/kg/dose の用量で週 2 回 7 週間急速静脈内投与し、8 週間の回復期間を設けた。溶媒は L-ヒスチジン/塩酸ヒスチジン 20 mmol/L、塩化ナトリウム 140 mmol/L 及び 0.01%ポリソルベート 20 を含有する pH 6.0 に調整した水溶液で、投与容量を 0、7.5、25 及び 75 mg/kg 群でそれぞれ 3、0.3、1 及び 3 mL/kg とした。試験の初回投与（1 日目）は、負荷用量として投与容量を倍増し 0、15、50 又は 150 mg/kg の用量で投与した。テプロツムマブ及び抗薬

物抗体（ADA）の血清中濃度測定のため、各動物から 1、22 及び 43 日目の 0 時間（投与前）、投与後 24、72 時間（週の 2 回目の投与前）、76、96 及び 144 時間（次回の投与前）に血液サンプルを採取した。回復期間中の 57、64、71、78、85、92、99 及び 106 日目に追加して血液サンプルを採取した。

結果

予定剖検日まで死亡動物はなかった。サルにテプロツムマブ投与に関連すると考えられる臨床症状は認められなかった。テプロツムマブを最高 75 mg/kg までの用量で週 2 回 7 週間急速静脈内投与したとき、投与部位に局所的な影響は認められなかった。

高用量（75 mg/kg）群の雌で、7 週間の投与期間終了時までに体重が対照群と比較してわずかに減少したが、これは雌で認められた摂餌量のわずかな減少と関連がみられた。

心拍数、呼吸数、体温、心電図、眼科的検査、血液学的検査、凝固検査、尿検査、尿化学的検査及び剖検所見にテプロツムマブと関連する変化は認められなかった。

投与期間終了時の剖検では、器官重量の変化として 7.5 及び 25 mg/kg 群の雄で胸腺の絶対重量、体重比重量及び脳比重量、75 mg/kg 群の雄（比重量のみ）並びに 7.5、25 及び 75 mg/kg 群の雌（すべてのパラメータ）で胸腺重量の統計学的に有意な減少が認められた。回復期間終了時の剖検においても器官重量の減少が認められたが、特に低及び中用量群で一部回復がみられた。投与期間終了時剖検では、これ以外に統計学的に有意な器官重量の変化として 25 mg/kg 群の雄で心臓重量（比重量のみ）の増加、25 mg/kg 群で子宮重量（絶対重量のみ）の減少、並びに 25 及び 75 mg/kg 群の雌で副腎重量（絶対重量及び比重量）の減少が認められたが、回復期間終了時の剖検では統計学的に有意な変化は認められなかった。

テプロツムマブを投与したすべての動物で病理組織学的に胸腺リンパ球の減少が観察されたが、用量依存的な重症度の増加はみられなかった。リンパ球減少は胸腺の全体的なサイズ減少がみられ、皮質は髄質と比較してサイズの縮小が認められた。皮質と髄質間の境界が存在し、細胞死や細胞断片の存在は認められなかった。回復性試験の大部分の動物でリンパ球減少が認められたが、テプロツムマブを投与した回復性試験動物の一部でリンパ球の過形成巣が認められ、リンパ球減少からの回復を示すと考えられた。さらに、低用量群の雌 1 例及び中用量群の雌 1 例は回復期間終了時の剖検で胸腺の外観が正常であり、完全な回復を示した。

回復期間に実施した胸腺及び末梢血リンパ球のイムノフェノタイピングでは、テプロツムマブを投与した動物と対照群の動物で明確な差異は確認されなかった。投与前のベースラインデータがないこと、サンプル数が少ないこと（各群雌雄各 2 例）並びに個体間のばらつきが大きいことからデータの解釈には注意が必要であるが、特定の変動パターンの出現、あるいは免疫調節の可能性を示唆するリンパ球サブセットの変化は認められなかった。本試験では、白血球数（循環血中又は末梢リンパ組織中）の変化や影響の認められたサルにおける日和見感染など、免疫抑制を示す臨床的又は病理組織学的な証拠は観察されなかった。

薬力学的マーカー（IGF-1R ダウンレギュレーション）アッセイの結果は、試料調製の過誤のため解析できなかった。

AUC と C_{max} は用量の増加をやや上回って、又はほぼ用量に比例して増加した。22 及び 43 日目には、1 日目と比較して軽度～中等度の薬物蓄積が認められた。ほぼ用量に比例するテプロツムマブの薬物動態から、線形の薬物動態と受容体結合の飽和が示唆された（Cohen et al. 2005）（表 2.6.6-3）。明らかな性差はみられなかった。投与期間中は血清中薬物濃度が高値を示し、8 週間の回復期間を通じて高値が持続したため、ADA のプロファイルを評価することはできなかった。

表 2.6.6-3 サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（7 週間反復投与毒性試験）

Teprotumumab (mg/kg/dose)	Sex	AUC (µg•h/mL)			C_{max} (µg/mL)		
		Day 1	Day 22	Day 43	Day 1	Day 22	Day 43
7.5	Male	29,300	52,700	78,000	374	475	808
	Female	27,100	38,400	55,200	306	427	621
25	Male	116,000	284,000	356,000	1160	2960	4070
	Female	108,000	267,000	247,000	1440	2700	2870
75	Male	263,000	597,000	793,000	3320	7190	12,700
	Female	276,000	579,000	613,000	3460	6720	8670

Source: Study No. [6131-477]

結論

以上より、カニクイザルにテプロツムマブを 7.5、25 及び 75 mg/kg/dose の用量で週 2 回、7 週間急速静脈内投与すると忍容性は良好であった。AUC と C_{max} は用量の増加をやや上回って、又はほぼ用量に比例して増加した。22 及び 43 日目には、1 日目と比較して軽度～中等度の薬物蓄積が認められた。摂餌量がわずかに減少し、75 mg/kg 群の雌で体重がわずかに減少した。すべての投与量で胸腺重量の減少と胸腺リンパ球の減少が観察されたが、用量依存的な重症度の増加はみられなかった。回復期間終了時の剖検では、すべてのテプロツムマブ投与群の雌雄で胸腺重量が減少したが、用量依存的な回復傾向を示した。回復性試験において、低用量群の雌 1 例及び中用量群の雌 1 例では胸腺リンパ球の減少は認められなかった。また、回復性試験の数例の雌雄ではリンパ球の過形成巣が認められた。回復期間に観察されたこれらの所見は、一部の動物で完全な又は部分的なリンパ球の再増殖を示している。すべてのテプロツムマブ投与群で胸腺リンパ球の減少が観察されたことから、カニクイザルにテプロツムマブを週 2 回 7 週間急速静脈内投与したときの無毒性量は、7.5 mg/kg/dose 未満と判断された。

2.6.6.3.3 サルの 13 週間反復投与毒性試験

試験番号[AGD00022]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.7.2]、CTD 4.2.3.2-3

材料と方法

カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験では、各群雌雄各 5 匹の成熟動物にテプロツムマブを 0（対照群）、3、15 又は 75 mg/kg/dose、若齢動物に 0（対照群）又は 15 mg/kg/dose の用量で週 1 回 13 週間急速静脈内投与し、12 週間の回復期間を設けた。溶媒として L-ヒスチジン/塩酸ヒスチジン 20 mmol/L（pH 5.5）、トレハロース 250 mmol/L 及び 0.01%ポリソルベート 20 を注射用滅菌水に溶解した。投与容量を成熟動物の 0、3、15 及び 75 mg/kg 群はそれぞれ 3、0.12、0.6 及び 3 mL/kg、若齢動物の 0 及び 15 mg/kg 群は 0.6 mL/kg とした。TK 測定及び ADA の評価のた

め、1 及び 85 日目の投与前及び投与後の様々な時点、並びに 2～12 週目の投与前の時点で血液サンプルを採取し、回復期間中も毎週採取した。

結果

1 例を除いてすべての動物が予定剖検日まで生存した。回復性試験で 3 mg/kg 群の 1 例が 109 日目に死亡して発見された。臨床症状及び肉眼的／病理組織学的所見から、本例は捕獲サルで一般的な自然発生病態の急性胃拡張（膨満）により死亡した可能性が示唆された。死亡原因はテプロツムマブ投与とは関連がないと考えられた。

13 週間の投与期間及び 12 週間の回復期間を通して、テプロツムマブと関連する有害な臨床症状は認められなかった。しかし、溶媒対照群（成熟動物及び若齢動物）の平均体重は 13 週間の投与期間中に増加したが、テプロツムマブ投与群の平均体重はこの期間に変化しないか減少した。回復期間にはテプロツムマブ投与群の大半の動物で体重が中等度に増加し、回復期間終了時には体重がそれぞれの投与前の水準に達した。テプロツムマブ投与群では全体的に成熟動物及び若齢動物のいずれも体重の減少又はプラトーが認められ、用量依存的なパターンは認められないものの、テプロツムマブ投与に関連するものと考えられた。しかし、体重変化の程度が小さいこと（一般にベースライン値の±0.3 kg 又は 10%未満）から、有害所見とは判断しなかった。

眼科的検査、心電図検査、凝固検査、尿検査及び尿化学的検査で、テプロツムマブと関連する変化は認められなかった。ALP はすべてのテプロツムマブ投与群で 4 及び 14 週目ともに、ベースライン値及び溶媒対照群と比べて減少した。成熟動物のみ 4～14 週目の間に ALP の影響が進行したが、回復期間には ALP は軽度～中等度の回復が認められた。

血清総 ALP の減少は 4 及び 14 週目の骨 ALP の変化と一致した。これらの総 ALP 及び骨 ALP の変化は、テプロツムマブに関連する影響と考えられたが、変化の大きさが小さく、相関する組織学的影響がみられないことから、有害所見ではないと考えられた。循環血中の赤血球量（赤血球数、血色素量及びヘマトクリット）パラメータは、すべての被験物質投与群でやや低値であり、主として成熟動物で投与期間中（13 週目）にわずかに低かった。しかし、回復期間終了時にはこれらのパラメータはそれぞれの投与前の水準まで回復した。また、網状赤血球数は多くは 4 週目にすべてのテプロツムマブ投与群で投与前値と比べて減少した。さらに、13 週目に 75 mg/kg 群で本薬投与と関連した好中球の減少が認められた。いずれのパラメータも投与終了後に回復を示した。血液学的変化から骨髄に対する影響の可能性が示唆されたが、骨髄や骨髄細胞検査で相関する病理組織学的所見は認められなかった。テプロツムマブと関連する骨髄細胞検査の変化は 75 mg/kg 群の成熟動物に限られており、骨髄で顆粒球系細胞/赤芽球系細胞（M/E）比がわずかに低値であった。血液学的検査値のわずかな変化は本薬投与に関連すると考えられるが、有害所見ではないと考えられた。

投与期間終了時の剖検では、3、15 又は 75 mg/kg/週を投与した成熟動物及び 15 mg/kg/週を投与した若齢動物において、テプロツムマブに関連した胸腺サイズの減少、胸腺の絶対重量及び比重量の減少、並びに病理組織学的な胸腺のびまん性萎縮（リンパ球減少）が観察された。対照群の成熟動物では胸腺萎縮（リンパ球減少）は軽度～中等度であったが、テプロツムマブ投与

群の動物では胸腺萎縮が中等度～重度であった。成熟動物で重度の胸腺萎縮は本薬投与に関連する変化と考えられ、全用量群で同程度に認められたことから、用量反応性の変化ではないことが示唆された。一方、若齢動物ではいずれの程度（軽度、中等度及び重度）の胸腺萎縮もテプロツムマブに関連する変化と考えられた。この胸腺で認められた本薬に関連するリンパ球減少は、循環血中のリンパ球数あるいは末梢血中の単核細胞サブセット数の変化には反映されなかった。胸腺の萎縮／リンパ球減少は加齢に伴う正常な結末であり、胸腺を除去してもヒトの免疫機能に悪影響を及ぼすことは示されていない（Sempowski et al. 2001）。末梢リンパ球数の変化や臨床的に日和見感染を示す影響が認められなかったことから、本試験ではこれらの胸腺の変化は有害な毒性学的変化とは判断しなかった。

回復期間終了時の剖検では、対照群を含むすべての成熟動物で胸腺萎縮が認められたが、対照群とテプロツムマブ投与群で重症度の範囲に差異はなかった。しかし、75 mg/kg 群の動物は対照群の動物と比較して重度の胸腺萎縮の発現頻度が高かったため、75 mg/kg 群では被験物質による影響の完全な回復は確認できなかった。若齢動物では、テプロツムマブ投与群で 92 日目と比べて胸腺萎縮の発現頻度及び重症度が低下し、若齢のサルでは 12 週間の回復期間により胸腺萎縮の回復傾向が示された。

サルにテプロツムマブを週 1 回静脈内投与したとき、一般に全身曝露量は 1 及び 85 日目に用量をやや上回って、又はおおよそ用量に比例して増加した（表 2.6.6-4）。反復投与により、雌雄ともに全用量群で軽度～中等度の蓄積が認められた。明らかな性差はみられなかった。成熟動物と若齢動物で曝露量はほぼ同程度であった。大部分のテプロツムマブ投与群の試料で ADA の産生が確認された。3 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例の 3 例では、15 日目以降に血清中で測定可能な濃度のテプロツムマブは認められなかった。若齢動物の 15 mg/kg 群の雌 1 例は 71～84 日目以降に測定可能な濃度の薬物が認められず、回復性試験の動物 16 例中 8 例は、少なくとも回復期間の一時期に血清中で測定可能な濃度の薬物が認められなかった。その結果、これらの動物は TK 解析から除外した。15 及び 75 mg/kg 群では回復期間を通じてかなりの濃度のテプロツムマブが定量可能であり、このため、これらの群では本薬に関連する変化が 12 週間の回復期間後にも部分的な回復であった原因と考えられた。

表 2.6.6-4 サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 週間反復投与毒性試験）

Teprotumumab (mg/kg/week)	Sex	$AUC_{10\text{-}168h}$ (μg•h/mL)		C_{max} (μg/mL)	
		Day 1	Day 85	Day 1	Day 85
3	Male	4010	13,000	57.1	145
	Female	4180	12,500	55.2	121
15	Male	28,000	61,100	374	641
	Female	24,600	44,400	288	502
75	Male	151,000	283,000	2110	3560
	Female	146,000	213,000	1710	2650
15 [a]	Male	22,100	40,900	317	404
	Female	23,000	45,700	290	492

Source: Study No. [AGD00022]
a) Juvenile animals

結論

以上より、カニクイザルの成熟動物及び若齢動物にテプロツムマブを 3、15 又は 75 mg/kg/週の用量で週 1 回 13 週間、急速静脈内投与したところ忍容性は良好であった。本試験では少数のテプロツムマブに関連する変化が確認されたが、その変化は軽度あるいは相関する組織学的変化が認められない、又は臨床的に有害な影響を及ぼさなかった。したがって、本試験におけるテプロツムマブの無毒性量は成熟動物で検討した最高用量の 75 mg/kg/週と考えられ、この投与量における $AUC_{10\text{-}168h}$ は 248,000 μg•h/mL、C_{max} は 3105 μg/mL であった。テプロツムマブと関連する変化に動物の年齢による差はなかった。しかし、若齢動物でより顕著であった胸腺萎縮（リンパ球減少）を除き、若齢動物では一般に変化が軽度であった。

2.6.6.3.4 サルの 39 週間反復投与毒性試験

試験番号[AGD00061]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.7.3]、CTD 4.2.3.2-4

材料と方法

カニクイザルを用いた 39 週間投与毒性試験では、各群雌雄各 6 匹にテプロツムマブを 0（対照群）、3、15 又は 75 mg/kg/dose の用量で週 1 回 39 週間急速静脈内投与し、24 週間の回復期間を設けた。被験物質の溶媒として L-ヒスチジン/塩酸ヒスチジン 20 mmol/L（pH 5.5）、トレハロース 250 mmol/L 及び 0.01%ポリソルベート 20 を注射用滅菌水に溶解した。投与容量を 0、3、15 及び 75 mg/kg/dose 投与群で、それぞれ 3、0.12、0.6 及び 3 mL/kg とした。-1 日目の 0 時間（投与開始前）、1、85 及び 267 日目の投与後 24、72、120 及び 168 時間、84 及び 266 日目、4、8、16、20、24、28、32 及び 36 週目の投与前、回復期間の 44、48、52、56、60 週目及び 62 週目の回復期間終了時に血液サンプルを採取し、TK 解析を行った。

当初 15 mg/kg 群は雌雄各 6 匹を割付けたが、投与期間終了時の剖検で雌 1 例は陰茎陰嚢転位の先天性異常を有する雄と判明した。このため、本例のデータはすべて 15 mg/kg 群の雄のデータから除外した。

結果

死亡例はなかった。サルにテプロツムマブを週 1 回投与したとき、すべての用量で忍容性が良好であった。39 週間の投与期間及び 24 週間の回復期間を通じて、いずれの評価パラメータにも

テプロツムマブに関連した有害所見は認められなかった。さらに、臨床症状、眼科的検査、心電図、凝固検査、尿検査及び尿化学検査でテプロツムマブに関連する変化は認められなかった。

カニクイザルにテプロツムマブの 3 mg/kg を週 1 回 39 週間連続投与し、免疫組織化学的検査を実施した結果、膀胱の移行上皮、膵島、胸腺の扁平上皮、皮膚、乳腺の筋上皮細胞及び前立腺上皮で軽微な IGF-1R のダウンレギュレーションが観察されたが、高用量（15 及び 75 mg/kg）でも反応の増強はみられなかった。

本薬投与に関連する主要な所見として、3 mg/kg 群の雌、15 及び 75 mg/kg 群の雌雄で可逆的な体重増加量の減少、15 及び 75 mg/kg 群でコレステロール及び ALP の可逆的な軽度の減少、15 及び 75mg/kg 群で循環血中の赤血球量（赤血球数、血色素量及びヘマトクリット）並びに網状赤血球数の可逆的で軽微な低値、15 及び 75 mg/kg 群で好中球数の軽度低値が認められた。

15 及び 75 mg/kg 群で B リンパ球、T リンパ球、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞及びナチュラルキラー細胞の軽度減少が認められ、すべての投与群で可逆的な胸腺萎縮が認められた。しかし、これらの変化は統計学的に有意ではなく、しばしば用量反応性もみられなかった。

これらの投与に関連した変化はいずれも可逆的でその程度が小さく、動物の全身状態に影響を及ぼさなかったことから、有害所見ではないと考えられた。

サルにテプロツムマブを週 1 回急速静脈内投与したとき、薬物の血清中濃度－時間プロファイルから、一般に動物は投与期間中持続的にテプロツムマブに曝露されたことが確認された。1 及び 267 日目に、テプロツムマブの全身曝露量が用量に比例して増加することが示された（表 2.6.6-5）。85 日目には、ほとんどの動物で $AUC_{0\text{-}168h}$ と C_{max} が用量比をやや上回って増加した。1、85 及び 267 日目における用量比例性の違いはわずかであることから、全体的に全身曝露量は用量に比例すると結論された。

蓄積係数は 85 及び 267 日目に、1 例を除いてすべての用量で軽度～中等度に高値であった。この結果は、テプロツムマブが長い半減期を有する特性と一致した。いずれの投与量でも性差はみられなかった。回復期間終了時には、すべての投与量で全身曝露量が定量下限未満であった。一部の試料で ADA の存在が確認され、これによりテプロツムマブのクリアランスが促進された。

表 2.6.6-5 サルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（39 週間反復投与毒性試験）

Teprotumumab (mg/kg/week)	Sex	$AUC_{0\text{-}168h}$ (µg•h/mL)			C_{max} (µg/mL)		
		Day 1	Day 85	Day 267	Day 1	Day 85	Day 267
3	Male	5440	9790	14,300	56.9	87.2	117
	Female	5900	10,600	18,700	59.8	85.7	137
15	Male	31,300	82,800	72,500	310	698	611
	Female	31,000	101,000	84,500	300	785	647
75	Male	189,000	449,000	399,000	1990	3690	3520
	Female	196,000	367,000	314,000	1960	3490	2900

Source: Study No. [AGD00061]

結論

以上より、カニクイザルにテプロツムマブを 3、15、75 mg/kg/週の用量で週 1 回、39 週間急速静脈内投与したところ忍容性は良好であった。本試験では少数のテプロツムマブに関連する変化が認められたが、その変化は軽度あるいは相関する組織学的変化が認められない、又は臨床的に有害な影響を及ぼさなかった。したがって、本試験におけるテプロツムマブの無毒性量は検討した最高用量の 75 mg/kg/週と考えられ、この投与量における $AUC_{0\text{-}168h}$ 及び C_{max} はそれぞれ 356,500 µg•h/mL 及び 3210 µg/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

モノクローナル抗体治療薬では、通常は標準的な変異原性評価は必要とされない。バイオテクノロジー応用医薬品、特にモノクローナル抗体など高分子量のバイオテクノロジー応用医薬品が、体細胞や生殖細胞の核内で DNA と求電子反応を引き起こす可能性は低い。

2.6.6.5 がん原性試験

テプロツムマブのがん原性試験は実施していない。ICH S6(R1)ガイドラインに従い、バイオテクノロジー応用医薬品においては標準的ながん原性試験は一般的に不適当である。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 胚・胎児発生に関する試験

試験番号[AGD00065]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.13.1]、CTD 4.2.3.5.2-1

材料と方法

胚・胎児発生に関する試験では、各群 6～7 匹の妊娠カニクイザルにテプロツムマブを 0（対照群）又は 75 mg/kg/dose の用量で、妊娠 20 日～妊娠 142±1 日の帝王切開まで週 1 回急速静脈内投与した（最大 18 回投与）。溶媒として L-ヒスチジン/塩酸ヒスチジン 20 mmol/L（pH 5.5）、トレハロース 250 mmol/L 及び 0.01%ポリソルベート 20 を注射用滅菌水に溶解した。投与容量を 3 mL/kg とした。

結果

TK プロファイルから、母動物が持続的にテプロツムマブに曝露されたことが確認された。妊娠 142±1 日の帝王切開時にも、十分な胎児の曝露が確認された。反復投与により軽度の薬物蓄積（2 倍）が認められた（妊娠 20 及び 105 日の $AUC_{0\text{-}168h}$ は、それぞれ 190,000 及び 385,000 μg•h/mL）。テプロツムマブは胎盤を通過し、妊娠 142±1 日に胎児の血清中濃度は母動物の 8.5～16%の範囲であった。テプロツムマブを投与した雌から投与前に採取した 1 試料以外では、投与期間中は本薬を投与したいずれの妊娠動物でも ADA 陽性の試料は確認されなかった。胎児の試料では ADA の測定を実施しなかった。

妊娠 32 日の超音波検査前に 3 例の流産が起こり、1 例は対照群、2 例はテプロツムマブ 75 mg/kg 群であった。対照群の胎児死亡率（6 例中 1 例、16.7%）は試験施設における背景データ（妊娠 360 例中、妊娠 20～50 日で 7.2%）よりも高かったが、これは 1 群の例数が小さいことと関連すると考えられた。テプロツムマブ 75 mg/kg 群の高い胎児死亡率（7 例中 2 例、28.6%）は本薬投与に起因するとは確定できないが、帝王切開時に本薬と関連した胎児への影響が認められたことから、テプロツムマブ投与に関連する影響を完全に除外することはできない。なお、対照群の 1 例は妊娠 140 日に自然分娩により生児を出産した（出生児を胎児検査に供した）。

雌の成獣では臨床症状、摂餌量及び臨床病理（血清生化学的検査及び血液学的検査）パラメータに、テプロツムマブと関連する影響は認められなかった。妊娠 8～20 週までの体重増加量は、対照群と比較して 75 mg/kg 群で減少した。これは本薬投与に関連すると考えられるが、母動物に対する直接的な影響ではなく、胎盤重量、羊水量及び胎児発育に対するテプロツムマブの複合的な影響の可能性が高いと考えられた。

胎児では、75 mg/kg 群で対照群と比べて多数の異常が認められ、胎児の成長及び発達に対するテプロツムマブの影響を反映している。このような異常として、胎盤や羊水への影響、胎児の体重、器官重量及び身体計測値の変化、並びに外表異常とそれに対応する骨格 X 線写真所見が認められた。観察された影響は、胎児の成長／発達の調節に関与することが知られている、IGF シグナル伝達経路の阻害剤である本薬の薬理作用と一致した。

テプロツムマブに関連した胎盤及び羊水への影響として、胎盤重量、胎盤 1 次ディスク測定値及び羊水量の減少が認められた。75 mg/kg 群の胎児は、体重（対照群の胎児の約 50%）、器官重量及び胎児測定値の減少に反映されるように、対照群の胎児と比べて全体的にかなり小さかった。75 mg/kg 群の胎児では、外表検査により 5 例全例でテプロツムマブに関連する明らかな頭部の異常が認められた。このような頭部の異常として、ドーム状の頭蓋、両眼の近接、大泉門の開大、顔面下部の発育不全、鼻先端の狭小化、頭蓋骨の菲薄化などが認められた。外表検査で観察された頭部の異常は、X 線写真で対応する所見が認められた。75 mg/kg 群の胎児 1 例で認められた胸椎側弯症（外表検査及び X 線写真でみられた）は、サルでは自然発生所見として側弯症がときおりみられることから、テプロツムマブとの関連は不明であった。

心臓の外表及び内部観察でテプロツムマブに関連する所見はみられず、胎児の臨床病理学的（血清生化学的検査及び血液学的検査）パラメータにも変化は認められなかった。

テプロツムマブが免疫系の発達に及ぼす影響を、リンパ組織におけるリンパ球サブセット解析により評価した。すべての胎児から採取したリンパ組織を、CD3、CD4、CD8、CD16 及び CD20 等の種々の抗体で染色した。抗体で染色されたリンパ組織の染色パターン、あるいはリンパ組織の解剖学的構造にテプロツムマブと関連する差異は認められなかった。

結論

以上より、母動物に明らかな毒性が認められない投与量で、テプロツムマブに関連した胎児の成長及び発達への影響が観察された。75 mg/kg 群の胎児は妊娠日齢の割にかなり小さく、頭蓋骨の変形、小顎症及び複数の骨／歯の骨化異常など、頭部に多数の外表及び骨格異常が認められた。観察された影響は、胎児の成長／発達の調節に関与することが知られている、IGF シグナル伝達経路の阻害剤であるテプロツムマブの薬理作用と一致した。母動物に対する無毒性量は 75 mg/kg/週、胎児の無毒性量は 75 mg/kg/週未満と考えられた。

2.6.6.6.2 幼若動物の 13 週間反復投与毒性試験

試験番号[AGD00071]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.15.1]、CTD 4.2.3.5.4-1

材料と方法

幼若カニクイザルを用いた 13 週間投与毒性試験では、各群雌雄各 5 匹にテプロツムマブを 0（対照群）、3、15 又は 75 mg/kg の用量で週 1 回急速静脈内投与し、13 週間の回復期間を設けた。TK 測定、免疫学的検査［キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する抗体反応］及び ADA 分析のため、試験期間の種々の時点で血液を採取した。

結果

サルにテプロツムマブを 3、15 及び 75 mg/kg の用量で週 1 回 13 週間投与したとき、おおむね忍容性が良好であり、全例が予定剖検日まで生存した。また、臨床症状、眼科的検査、心電図、骨格成長（骨長）、凝固検査、尿検査、尿生化学的検査及び一次／二次免疫反応にテプロツムマブと関連する変化は認められなかった。

テプロツムマブ投与に関連する有害所見として、3、15 及び 75 mg/kg 群でおおむね可逆的な体重増加量の減少、3、15 及び 75 mg/kg 群の雄でおおむね可逆的な骨量（骨塩量及び骨密度）の

減少、さらに 3、15 及び 75 mg/kg 群の雄並びに 75 mg/kg 群の雌で可逆的な骨幅の狭小及び皮質の菲薄化が認められた。

以下の所見は変化の程度が小さいこと、あるいはテプロツムマブの薬力学的作用に起因し有害な生理学的反応が認められないことから、有害所見とは判断しなかった。3、15 及び 75 mg/kg 群で認められた可逆的な ALP の減少、15 及び 75 mg/kg 群で認められた一部可逆的でごく軽度の赤血球数、血色素量及びヘマトクリットの低下、並びに可逆的なごく軽度の網状赤血球数の減少、すべてのテプロツムマブ投与群で認められた一部可逆的な胸腺リンパ球の減少、15 及び 75 mg/kg 群で認められた一部可逆的な脾臓胚中心の大きさ／数の減少。

13 週間の投与期間中、テプロツムマブを投与したすべての動物で被験物質の持続的な曝露が認められた。一部の例外を除いて、全身曝露量が 1 日目は投与量に比例して増加したが、85 日目には用量比を上回って増加した（表 2.6.6-6）。反復投与後の蓄積係数（1 日目対 85 日目）は、AUC 及び C_{max} がそれぞれ 1.87～2.79 及び 1.34～1.84 であった。いずれの投与量及び測定時期においても性差は認められなかった。数例の動物（3 及び 15 mg/kg 群）で、投与期間及び回復期間に ADA 産生が確認された。3 mg/kg 群の 3 例はテプロツムマブの血清中濃度が著しく低下したため、85 日目の TK 解析から除外した。回復期間終了時には、一部の動物の血清中濃度は予測を下回る又は定量下限を下回った。

表 2.6.6-6 幼若カニクイザルにおけるテプロツムマブの TK パラメータ平均値（13 週間反復投与毒性試験）

Teprotumumab (mg/kg/week)	Sex	AUC (µg•h/mL)		C_{max} (µg/mL)	
		Day 1	Day 85	Day 1	Day 85
3	Male	3530	6440	42	62.3
	Female	3920	7810	48.9	68.3
15	Male	23,000	64,000	249	448
	Female	23,000	55,600	244	446
75	Male	128,000	250,000	1500	2470
	Female	147,000	274,000	1620	2710

Source: Study No. [AGD00071]

結論

以上より、幼若カニクイザルにテプロツムマブを 3、15 及び 75 mg/kg/週の用量で週 1 回 13 週間急速静脈内投与したとき、おおむね忍容性が良好であった。テプロツムマブ投与に関連する有害な変化として、すべてのテプロツムマブ投与群で体重増加量の減少、骨量の減少及び皮質の菲薄化を伴う骨幅の狭小が認められたのみであった。これらの所見に基づき、本試験における無毒性量は 3 mg/kg/週未満と考えられた。試験に用いた最低用量の 3 mg/kg における 85 日目の AUC 及び C_{max}（雌雄合算）は、それぞれ 7220 µg•h/mL 及び 65.7 µg/mL であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

サルにテプロツムマブを 150 mg/kg までの用量で週 2 回 7 週間又は週 1 回 39 週間静脈内投与したとき、注射部位反応は認められなかった（2.6.6.3.2 項及び 2.6.6.3.4 項参照）。

2.6.6.7.1 サルを用いた硝子体内投与による眼刺激性試験

試験番号[8250539]（非 GLP）、概要表[2.6.7.16]、CTD 4.2.3.6-1

各群雌 3 匹のカニクイザルに、テプロツムマブを 0、1.25 及び 2.5 mg/eye の用量で硝子体内投与した眼刺激性試験を実施した。1.25 又は 2.5 mg/eye のテプロツムマブ投与により、重度のブドウ膜炎が高頻度で様々な時期に発現した。眼の症状観察により、テプロツムマブの 1.25 mg/eye を 1 回投与した 1 例及び 2.5 mg/eye を 2 回投与した 1 例で、用量制限となる重度の眼の炎症が認められたため、予定投与期間終了前にこれら 2 例を安楽死させた。両群で観察された前眼部及び後眼部の炎症を示す臨床症状として、様々な程度の結膜充血、眼房水の濁り、前眼房性細胞、前眼房内のフィブリン凝集、白色ケラチン沈殿物、虹彩腫脹、瞳孔不整、縮瞳、散瞳剤投与後の不完全瞳孔散大、硝子体性細胞、眼底の退縮像、及び網膜血管の周囲に炎症性の鞘形成が認められた。

一部の動物から採取した眼房水及び硝子体液の細胞診又は細菌／真菌培養で眼内感染の証拠がなかったことから、これらの動物で観察された眼内炎は投与手法に伴う感染性眼内炎ではないことが確認された。

テプロツムマブの硝子体内投与により、1.25 mg/eye の初回投与後に早期に発症する比較的軽度で一過性の炎症が観察され、1.25 及び／又は 2.5 mg/eye の投与後に遅発性で発症時期が様々な重度かつ持続性の炎症が観察された。早期に発症した一過性の炎症反応は、ADA が介在する反応ではなく、テプロツムマブに対する直接的な反応の可能性が高く、これまでに報告されている抗体の硝子体内投与により認められる炎症と一致する（O’Neil et al. 2000、O’Neil et al. 2001、O’Neil et al. 2003）。遅発性で重度の眼炎症は、抗テプロツムマブ抗体を発現した動物で認められる免疫介在性の炎症反応に伴う変化と考えられた。いずれの投与量においても有害所見と考えられ、本試験で無毒性量は決定できなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗体依存性細胞傷害試験

試験番号[1019288]（非 GLP）、概要表[2.6.7.17]、CTD 4.2.3.7.7-1

テプロツムマブを健康ドナーの全血から分離した免疫エフェクター細胞とインキュベートし、IGF-1R 発現ヒト腫瘍細胞 DU145（Jones et al. 2004）の溶解誘発能について検討した。10 μg/mL までの抗体濃度では、顕著な細胞溶解は認められなかった。対照的に、同濃度で 2 種類の対照抗体（KLH 及び B 型肝炎ウイルス）は免疫エフェクター細胞を活性化し、標的細胞を 31%まで溶解した。以上より、テプロツムマブは顕著な ADCC を誘発しなかった。

2.6.6.8.2 ヒト及びカニクイザルの正常組織を用いる交差反応性試験

試験番号[IM1163]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.17]、CTD 4.2.3.7.7-3

免疫組織化学的検査により、正常ヒト組織の凍結切片を用いてテプロツムマブ（濃度：2 及び 10 μg/mL）の交差反応性を検討した。ヒトの上皮細胞、内皮細胞、平滑筋、軸索、神経節細胞、赤血球、単核細胞、神経網、網膜、眼水晶体線維、間質細胞、心筋細胞、甲状腺コロイド、内分泌細胞、神経フィラメント、細網内皮細胞、間質細胞（ライディッヒ細胞）、精子形成細胞及び精子細胞でテプロツムマブに特異的な反応が認められた。テプロツムマブに特異的な染色はすべて、IGF-1R 発現を報告する文献と一致した（Anversa et al. 1995、Hodak et al. 1996、Kaiser et al. 1993、Naz and Padman 1999）。本試験ではこれ以外の反応や他の交差反応性は認められなかった。

試験番号[IM1202]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.17]、CTD 4.2.3.7.7-2

正常なカニクイザルの組織で認められた所見はヒト組織の所見と類似しており、テプロツムマブの毒性試験に適切な動物種としてカニクイザルを選定した。

2.6.6.8.3 溶血性及び血液適合性試験

試験番号[6131-491]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.17]、CTD 4.2.3.7.7-4

テプロツムマブの溶血性及び血液適合性を検討した。テプロツムマブの 12.5 又は 25 mg/mL 溶液及びその溶媒のみでも、in vitro でカニクイザル及びヒトの赤血球に溶血反応を誘発しなかった。テプロツムマブは、ヒトとカニクイザルの血清及び血漿と適合性を示した（沈殿や凝固を生じなかった）。

試験番号[600237]（GLP 適用）、概要表[2.6.7.17]、CTD 4.2.3.7.7-5

また、他の in vitro 試験でヒトとカニクイザルの全血をテプロツムマブの最終濃度 6.25 及び 12.5 mg/mL で処理したところ、著しい赤血球の溶血や凝集はみられなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

テプロツムマブは、IGF-1R 発現が報告される正常なヒト組織において、種々の細胞や組織に交差反応性を示した（Kaiser et al. 1993、van der Laan, Freeman, and Asa 1995）。カニクイザルの組織で同程度の組織交差反応性が観察されたことから、霊長類はテプロツムマブの毒性試験に適切な動物種であることが示唆された。テプロツムマブは 25 mg/mL までの濃度で、ヒト及びカニクイザルの血液で溶血反応を誘発せず、ヒトとカニクイザルの血清及び血漿と適合性を示した。テプロツムマブは 10 µg/mL までの抗体濃度で顕著な ADCC を誘発しなかった。

テプロツムマブはカニクイザルに 1 日目の負荷用量が最高 150 mg/kg、その後最高 75 mg/kg までの週 2 回 7 週間投与、又は最高 75 mg/kg の週 1 回 39 週間投与で忍容性が良好であった。これらの試験で投与と関連する死亡例はみられず、臨床症状、血液学的検査、血清生化学的検査、心電図検査及び眼科的検査で有害所見は認められなかった。テプロツムマブの 25 mg/mL 溶液を 3 mL/kg の容量で静脈内投与した結果、投与部位の忍容性は良好であり、注射部位反応を示す肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。

反復投与により認められた投薬に関連する唯一の病理組織学的変化として、すべての投与量で胸腺のリンパ球減少（胸腺退縮、胸腺の低細胞性）が観察された。所見の重症度に関して用量相関はみられず、成獣及び若齢動物のいずれも影響が認められた。反復投与毒性試験の種々の間隔で末梢血リンパ球を用いたイムノフェノタイピング検査を実施した結果、リンパ球サブセットの数にテプロツムマブ投与に起因すると考えられる明瞭な変化は認められなかった。循環血中の白血球数の有意な減少や末梢リンパ系組織（リンパ節及び脾臓）の変化は観察されなかった。当該試験では胸腺に顕著な変化がみられたものの、影響の認められたサルで日和見感染はみられなかった。胸腺所見の一部又は完全な回復性を示す病理組織学的エビデンスとして、外観は正常であり限局性のリンパ球過形成（再増殖）が認められた。胸腺で細胞密度減少の回復が不完全であったのは、回復性試験の動物が回復期間をとおして持続的に循環血中の高濃度のテプロツムマブに曝露されたことに起因する可能性が考えられる。投与に関連した完全に可逆的な変化が数種の血液学的及び血清生化学的検査パラメータで観察されたが、病理学的に関連する変化は認められなかった。これらの変化は有害所見とは判断しなかった。7 及び 13 週間投与毒性試験で観察された所見と慢性（39 週間）毒性試験の所見を比較して、新規所見あるいは重症度の増強はみられなかった。

胚・胎児発生に関する試験では、妊娠カニクイザルにテプロツムマブを 0（対照群）又は 75 mg/kg/週の用量で、妊娠 20 日～妊娠 142 日の帝王切開まで週 1 回急速静脈内投与した（最大 18 回投与）。妊娠 142 日の帝王切開時には、十分な胎児の曝露が確認された。75 mg/kg 群の胎児は妊娠日齢の割にかなり小さく、頭蓋骨の変形、小顎症及び複数の骨／歯の骨化異常など、頭部に多数の外形及び骨格異常が認められた。観察された影響は、胎児の成長／発達の調節に関与することが知られている、IGF シグナル伝達経路の阻害剤であるテプロツムマブの薬理作用と一致した。

幼若カニクイザルにテプロツムマブを 3、15 又は 75 mg/kg/週の用量で、週 1 回 13 週間急速静脈内投与した結果、おおむね良好な忍容性を示した。テプロツムマブと関連する有害な変化は、

すべてのテプロツムマブ投与群で認められた体重増加量の減少、並びに骨量の減少及び皮質菲薄化を伴った骨幅狭小のみであった。

テプロツムマブをカニクイザルに週 2 回 7 週間又は週 1 回 39 週間静脈内投与したとき、注射部位反応は認められなかった。硝子体内投与は忍容性に乏しく、動物はテプロツムマブの投与により眼炎症を発現した。テプロツムマブの臨床投与経路は静脈内注射である。

テプロツムマブの安全域を非臨床試験の概括評価[2.4]に示す。

以上より、テプロツムマブの非臨床安全性プロファイルは、GLP 適用の反復投与毒性試験（7～39 週間）、生殖発生毒性試験、眼刺激性試験、組織交差反応性試験及び血液適合性試験の実施により、十分に特性が明らかとなった。テプロツムマブの忍容性はおおむね良好であり、最高 75 mg/kg までの用量で週 1 回 39 週間静脈内投与により有害所見は認められなかった。カニクイザルにテプロツムマブを反復投与したときに影響がみられた主要な標的器官は胸腺であった。胸腺で認められた所見として、リンパ球減少（胸腺退縮、胸腺の低細胞性）を特徴とする組織学的変化が観察された。これらの変化は、結果として末梢リンパ球の減少や日和見感染の増加をもたらすことはなく、動物の全身状態に影響を及ぼさず、十分な休薬期間の後に回復すると考えられた。テプロツムマブは、胚・胎児発生において胎児体重の減少及び IGF 抑制の影響と一致する催奇形性作用のエビデンスを示した。これらの所見は、モニター可能な毒性を意味しており、臨床現場で管理可能あるいは適用を予定する患者集団で受容可能なリスクと考えられる。したがって、テプロツムマブの非臨床安全性プロファイルから、この抗体医薬品を TED の治療に使用することが支持される。

2.6.6.10 参考文献

Anversa, P., K. Reiss, J. Kajstura, W. Cheng, P. Li, E. H. Sonnenblick, and G. Olivetti. 1995. "Myocardial infarction and the myocyte IGF_1 autocrine system." Eur Heart J 16 Suppl N:37-45.

Cohen, B. D., D. A. Baker, C. Soderstrom, G. Tkalcevic, A. M. Rossi, P. E. Miller, M. W. Tengowski, F. Wang, A. Gualberto, J. S. Beebe, and J. D. Moyer. 2005. "Combination therapy enhances the inhibition of tumor growth with the fully human anti-type 1 insulin-like growth factor receptor monoclonal antibody CP-751,871." Clin Cancer Res 11 (5):2063-73. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-04-1070.

Hodak, E., A. B. Gottlieb, M. Anzilotti, and J. G. Krueger. 1996. "The insulin-like growth factor 1 receptor is expressed by epithelial cells with proliferative potential in human epidermis and skin appendages: correlation of increased expression with epidermal hyperplasia." J Invest Dermatol 106 (3):564-70.

Jones, H. E., L. Goddard, J. M. Gee, S. Hiscox, M. Rubini, D. Barrow, J. M. Knowlden, S. Williams, A. E. Wakeling, and R. I. Nicholson. 2004. "Insulin-like growth factor-I receptor signalling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839; Iressa) in human breast and prostate cancer cells." Endocr Relat Cancer 11 (4):793-814. doi: 10.1677/erc.1.00799.

Kaiser, U., C. Schardt, D. Brandscheidt, E. Wollmer, and K. Havemann. 1993. "Expression of insulin-like growth factor receptors I and II in normal human lung and in lung cancer." J Cancer Res Clin Oncol 119 (11):665-8.

Naz, R. K., and P. Padman. 1999. "Identification of insulin-like growth factor (IGF)-1 receptor in human sperm cell." Arch Androl 43 (2):153-9.

O'Neil, C. A., Christian, B., Murphy, C. J., Miller, P., Ver Hoeve, J., Leedle, R., Dubielzig, R. R., Beyer, J. C., Albert, D. M., and Davis, M., "Safety Evaluation of Intravitreal Administration of rhugFab VEGF in Cynomolgus Monkeys for 3 Months," Investigative Ophthalmology and Visual Science, 40:Abstract 732 (2000).

O'Neil, C. A., Miller, P. E., Christian, B., Leedle, R., Dubielzig, R., Beyer, J. C., Nork, T. M., Wabers, H., Neider, M., and Murphy, C. J., "Safety Evaluation of Differing Schedules of Intravitreal Administration of rhuFab VEGF in Cynomolgus Monkeys for Two Months," Investigative Ophthalmology and Visual Science, 41:Abstract 1212 (2001).

O'Neil, C. A., Miller, P. E., Christian, B. J., Beyer, J. C., Bentley, E., Ver Hoeve, J. N., Nork, T. M., Leedle, R. A., Dubielzig, R. R., and Albert, D. M., "26-Week Intravitreal Injection Toxicity Study with rhuFab VEGF in Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery," Investigative Ophthalmology and Visual Science, 44:ARVO E-Abstract 3929 (2003).

Sempowski, G., J. Thomasch, M. Gooding, L. Hale, L. Edwards, E. Ciafaloni, D. Sanders, J. Massey, D. Douek, R. Koup, and B. Haynes. 2001. "Effect of thymectomy on human peripheral blood T cell pools in myasthenia gravis." J Immunol 166 (4):2808-17.

van der Laan, B. F., J. L. Freeman, and S. L. Asa. 1995. "Expression of growth factors and growth factor receptors in normal and tumorous human thyroid tissues." Thyroid 5 (1):67-73. doi: 10.1089/thy.1995.5.67.

目次

2.6.7　毒性試験概要表 2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3　トキシコキネティクス：試験成績の一覧 5
2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧 6
2.6.7.5　単回投与毒性試験 7
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 9
2.6.7.7.1　サルの 7 週間静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 9
2.6.7.7.2　サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 11
2.6.7.7.3　サルの 39 週間静脈内投与毒性試験及び 24 週間回復性試験 16
2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験 20
2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験 20
2.6.7.10　がん原性試験 20
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 20
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 20
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 21
2.6.7.13.1　RO4858696 の妊娠カニクイザルにおける静脈内投与胚・胎児発生に関する試験 21
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 24
2.6.7.15　幼若動物を用いた試験 25
2.6.7.15.1　RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 25
2.6.7.16　局所刺激性試験 30
2.6.7.17　その他の毒性試験 31

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Teprotumumab

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) [a]	GLP [b]	Testing Facility	Study No.	CTD Document No.
Repeat-Dose Toxicity							
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	13 days	15 (twice weekly)	No	[redacted] Germany	[2136-005]	4.2.3.2-1
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	7 weeks	0, 7.5, 25, 75 (twice weekly)	Yes	[redacted]	[6131-477]	4.2.3.2-2
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	13 weeks	0, 3, 15, 75 (once weekly)	Yes	[redacted]	[AGD00022]	4.2.3.2-3
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	39 weeks	0, 3, 15, 75 (once weekly)	Yes	[redacted]	[AGD00061]	4.2.3.2-4
Reproductive and Developmental Toxicity							
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	GD20-GD142	0, 75 (once weekly)	Yes	[redacted]	[AGD00065]	4.2.3.5.2-1
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	13 weeks	0, 3, 15, 75 (once weekly)	Yes	[redacted]	[AGD00071]	4.2.3.5.4-1
Local Tolerance							
Monkey/Cynomolgus	Intravitreal	43 days	0, 1.25, 2.5 mg/eye	No	[redacted]	[8250539]	4.2.3.6-1

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Teprotumumab

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study No.	CTD Document No.
Other Toxicity Studies							
Human/DU145	In vitro	NA	0.64, 3.2, 16, 80, 400, 2000, 10,000 ng/mL	No	[redacted] Germany	[1019288]	4.2.3.7.7-1
Monkey/Cynomolgus	In vitro	NA	2 and 10 µg/mL	Yes	[redacted]	[IM1202]	4.2.3.7.7-2
Human	In vitro	NA	2 and 10 µg/mL	Yes	[redacted]	[IM1163]	4.2.3.7.7-3
Monkey & Human	In vitro	NA	12.5 and 25 mg/mL	Yes	[redacted]	[6131-491]	4.2.3.7.7-4
Monkey & Human	In vitro	NA	6.25 and 12.5 mg/mL	Yes	[redacted] Canada	[600237]	4.2.3.7.7-5

CTD = Common Technical Document; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; No. = number

a) Unless otherwise specified for repeat-dose toxicity studies, the highest no observed adverse effect level (NOAEL) is underlined.

b) 'Yes' indicates study includes a GLP compliance statement.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP [a]	Study No.	CTD Document No.
13-Day Repeat Dose	Cynomolgus Monkey	IV bolus	15	No	[2136-005]	4.2.3.2-1
7-Week Repeat Dose	Cynomolgus Monkey	IV bolus	7.5, 25, 75	Yes	[6131-477]	4.2.3.2-2
13-Week Repeat Dose	Cynomolgus Monkey	IV bolus	3, 15, 75	Yes	[AGD00022]	4.2.3.2-3
39-Week Repeat Dose	Cynomolgus Monkey	IV bolus	3, 15, 75	Yes	[AGD00061]	4.2.3.2-4
Embryo/Fetal Development	Cynomolgus Monkey	IV bolus	75	Yes	[AGD00065]	4.2.3.5.2-1
13-Week Repeat Dose - Juvenile	Cynomolgus Monkey	IV bolus	3, 15, 75	Yes	[AGD00071]	4.2.3.5.4-1

CTD = Common Technical Document; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; No. = number

a) 'Yes' indicates study includes a GLP compliance statement.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：試験成績の一覧

Test Article: Teprotumumab

	AUC (mg•h/mL)	
Species	Cynomolgus monkey	
Method of Administration	IV bolus	
Gender (M/F)	M	F
Dose (mg/kg)		
3	4.01 [f], 13.0 [g], 5.44 [h], 9.79 [i], 14.3 [j], 3.53 [m], 6.44 [n]	4.18 [f], 12.5 [g], 5.9 [h], 10.6 [i], 18.7 [j], 3.92 [m], 7.81 [n]
7.5	52.7 [d], 78.0 [e]	38.4 [d], 55.2 [e]
15	12.2 [a], 93.5 [b], 29.3 [c], 28.0 [f], 61.1 [g], 22.1 [f], 40.9 [g], 31.3 [h], 82.8 [i], 72.5 [j], 23.0 [m], 64.0 [n]	12.2 [a], 93.5 [b], 27.1 [c], 24.6 [f], 44.4 [g], 23.0 [f], 45.7 [g], 31.0 [h], 101 [i], 84.5 [j], 23.0 [m], 55.6 [n]
25	284 [d], 356 [e]	267 [d], 247 [e]
50	116 [c]	108 [c]
75	597 [d], 793 [e], 151 [f], 283 [g], 189 [h], 449 [i], 399 [j], 128 [m], 250 [n]	579 [d], 613 [e], 146 [f], 213 [g], 196 [h], 367 [i], 314 [j], 190 [k], 385 [l], 147 [m], 274 [n]
150	263 [c]	276 [c]

AUC = area under the concentration-time curve; F = female; GD = gestation day; IV = intravenous; M = male

a) 2136-005 (Day 1) male/female combined
b) 2136-005 (Day 11) male/female combined
c) 6131-477 (Day 1)
d) 6131-477 (Day 22)
e) 6131-477 (Day 43)
f) AGD00022 (Day 1)
g) AGD00022 (Day 85)
h) AGD00061 (Day 1)
i) AGD00061 (Day 85)
j) AGD00061 (Day 267)
k) AGD00065 (GD20)
l) AGD00065 (GD105)
m) AGD00071 (Day 1)
n) AGD00071 (Day 85)

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

Test Article: Teprotumumab

Batch No.	Purity (%) [a]	Production Cell Line	Concentration	pH	Endotoxin (EU/mL)	Osmolality (mOsm/kg)	Type of Study
Proposed Specification:	≥ 95.0	CHO	50 ± 5 mg/mL	5.5 ± 0.5	≤ 2.6	340 ± 30	–
原薬ロットA*	98.5	SP2/0	25 mg/mL	6.0	< 1.7	290	Repeat Dose [b], Other [i]
原薬ロットB*	–	–	–	–	–	–	Repeat Dose [c]
原薬ロットC*	99	CHO	Lyophilized	5.5	< 0.5	317	Repeat Dose [d], Other [j]
原薬ロットD*	99	CHO	Lyophilized	5.5	< 0.5	319	Repeat Dose [d]
原薬ロットE*	99	CHO	Lyophilized	5.4	< 0.5	324	Repeat Dose [e]
原薬ロットF*	98	CHO	Lyophilized	5.4	< 0.5	327	Repeat Dose [e]
原薬ロットG*	99	CHO	Lyophilized	5.4	< 0.5	316	Repeat Dose [e]
原薬ロットH*	99	CHO	Lyophilized	5.4	< 0.5	326	Local Tolerance [f], Repro [h]
原薬ロットI*	99.3	CHO	Lyophilized	5.5	< 0.5	346	Repro [g]

CHO = Chinese hamster ovary; EU = endotoxin units; No. = number; Repro = reproductive and developmental; SE-HPLC = size exclusion HPLC; SP2/0 = murine myeloid cells

a) Reported as monomer measured by SE-HPLC
b) Used for study number 6131-477
c) Used for study number 2136-005
d) Used for study number AGD00022
e) Used for study number AGD00061
f) Used for study number 8250539
g) Used for study number AGD00065
h) Used for study number AGD00071
i) Used for study numbers IM1202, IM1163, and 6131-491
j) Used for study number 600237

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Teprotumumab

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No. CTD Document No.
Monkey/Cynomolgus	IV bolus	13 days	15 mg/kg (Days 1, 4, 7, and 11)	1M/1F	ND	No mortality, clinical observations, or anatomic or histopathologic changes were observed. Serum chemistry changes included slight decrease in ALP and increase in lipase. Hematology changes included decreases in RBC, Hb, and Hct were observed in addition to increased reticulocyte count. Changes were likely the result of repeated blood draws.	[2136-005] 4.2.3.2-1

ALP = alkaline phosphatase; CTD = Common Technical Document; F = female; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; IV = intravenous; M = male; ND = not determined; No. = number; NOAEL = no observed adverse effect level; RBC = red blood cell

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 サルの 7 週間静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

Test Article: Teprotumumab

Report Title: A 7-Week Intermittent Intravenous Toxicity, Toxicokinetic, and Immunogenicity Study with Ro 485-8696/F01-01 (huMab-IGF-1R) in Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period

Study No.: [6131-477]

Species / Strain: Cynomolgus monkeys

Duration of Dosing: Twice weekly for 7 weeks

CTD Document No.: 4.2.3.2-2

Initial Age: 2-3 years

Duration of Postdose: 8 weeks

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: IV bolus

Lot Number: 原薬ロットA*

Vehicle: Aqueous solution containing 20 mmol/L L-histidine, 140 mmol/L NaCl, and 0.01% polysorbate 20, pH 6.0

Special Features: Loading dose of 15, 50, and 150 mg/kg administered on Day 1, immunophenotyping, pharmacodynamics (IGF-1R) analysis

No Observed Adverse Effect Level: < 7.5 mg/kg/dose

Twice per week dose (mg/kg/dose)	0 (Control)		7.5		25		75	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics: AUC (µg•h/mL)								
Day 1	NA [a]	NA [a]	29,300	27,100	116,000	108,000	263,000	276,000
Day 22	NA [a]	NA [a]	52,700	38,400	284,000	267,000	597,000	579,000
Day 43	NA [a]	NA [a]	78,000	55,200	356,000	247,000	793,000	613,000
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA [a]	NA [a]	374	306	1160	1440	3320	3460
Day 22	NA [a]	NA [a]	475	427	2960	2700	7190	6720
Day 43	NA [a]	NA [a]	808	621	4070	2870	12,700	8670

2.6.7.7.1 サルの 7 週間静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Twice per week dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**7.5**		**25**		**75**	
Gender:Number of Animals	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
Body Weight (kg) [b]	0.0	0.0	0.0	−0.1	−0.1	−0.1	−0.1	−0.1*
Electrocardiography	No treatment-related findings							
Number Evaluated – Terminal	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weights [b]								
Thymus (g)	5.63	4.20	0.99*	0.85*	1.19*	0.97*	1.58	0.93*
Thymus (% of body weight)	0.227	0.198	0.036*	0.047*	0.050*	0.054*	0.070	0.052*
Histopathology								
Lymphocyte depletion	−	−	++	++	+	+	+	++
Number Evaluated – Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Organ Weights								
Thymus (g)	9.52	6.32	4.04	3.66	2.15	1.89	2.60	1.30
Thymus (% of body weight)	0.355	0.325	0.172	0.167	0.088	0.099	0.103	0.076
Histopathology								
Lymphocyte depletion	−	−	+	+	++	++	+	++
Lymphocyte hyperplasia	−	−	+	+	+	−	−	+

AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; CTD = Common Technical Document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; + = mild; ++ = moderate; − = comparable to control animals or no treatment-related findings; * = $p < 0.05$ (ANOVA)

a) Values below the lower limit of quantitation.

b) Weeks 1 to 7

2.6.7.7.2 サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

Test Article: Teprotumumab

Report Title: A 13-Week Toxicity and Toxicokinetic Study Administered Once Weekly by Intravenous Injection to Cynomolgus Monkeys, with a 12-Week Recovery Period

Study No.: [AGD00022]

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: Once a week for 13 weeks

CTD Document No.: 4.2.3.2-3

Initial Age: 4.6-6.3 year (Groups 1-4); 1.9-2.3 (Groups 5 and 6)

Duration of Postdose: 12 weeks

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: IV bolus

Lot Number: 原薬ロットC* and 原薬ロットD*

Vehicle: Sterile water for injection, USP/20 mmol/L L-histidine/histidine-HCl (pH 5.5), 250 mmol/L trehalose, and 0.01% polysorbate 20

Special Features: Groups 5 and 6 used juvenile animals

No Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/week

Weekly Dose (mg/kg/week)	0 (Control) [a]		3 [a]		15 [a]		75 [a]		0 (Control) [b]		15 [b]	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics: AUC (µg•h/mL)												
Day 1	NA [c]	NA [c]	4010	4180	28,000	24,600	151,000	146,000	NA [c]	NA [c]	22,100	23,000
Day 85	NA [c]	NA [c]	13,000	12,500	61,100	44,400	283,000	213,000	NA [c]	NA [c]	40,900	45,700
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)												
Day 1	NA [c]	NA [c]	57.1	55.2	374	288	2110	1710	NA [c]	NA [c]	317	290
Day 85	NA [c]	NA [c]	145	121	641	502	3560	2650	NA [c]	NA [c]	404	492

2.6.7.7.2 サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	**0 (Control) [a]**		**3 [a]**		**15 [a]**		**75 [a]**		**0 (Control) [b]**		**15 [b]**	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings												
Body Weight (%) [d] - Week 13	14.2	10.0	0.5	−0.7	−4.8	−2.1	1.4	−5.5	14.6	11.0	0.0*	−6.3*
Clinical Observations	No test article related findings											
Ophthalmoscopy	No test article related findings											
Hematology												
RBC (10^6/μL)												
Week −1	5.76	5.39	5.81	5.30	5.79	5.25	5.50	5.33	5.38	6.14	5.54	5.65
Week 4	5.79	5.26	5.96	4.97	5.53	5.09	5.13	4.93	5.58	6.07	4.71*	5.46*
Week 13	5.54	5.19	5.41	4.61	5.05*	4.66*	5.02*	4.42*	5.65	5.99	5.31*	5.10*
Hematocrit (%)												
Week −1	44.1	41.4	42.6	40.4	43.5	38.7	42.2	40.1	41.3	43.2	42.6	44.7
Week 4	44.4	40.9	44.7	38.5	42.3	38.2	39.6*	37.3*	43.3	43.6	36.5	43.0
Week 13	43.0	40.2	40.4	36.0	39.4*	34.8*	39.3*	34.3*	44.6	43.2	40.8*	40.6*
Reticulocytes (10^5/μL)												
Week −1	0.83	1.15	1.04	0.83	0.70	1.17	0.80	0.63	0.98	1.14	0.72	0.77
Week 4	0.55	0.77	0.51	0.49	0.45*	0.41*	0.33*	0.28*	0.67	0.77	0.92*	0.37*
Week 13	0.66	0.89	0.82	0.75	0.78	0.84	0.60	0.56	0.95	1.04	0.52*	0.78*
Hemoglobin (g/dL)												
Week −1	14.1	13.3	13.9	13.6	14.4	12.7	13.8	13.0	13.3	13.9	13.6	14.0
Week 4	14.7	13.3	14.8	13.2	14.4	12.7	13.3	12.5	14.0	14.4	12.3	14.3
Week 13	13.8	12.8	13.0	11.9	12.8*	11.2*	12.7*	10.9*	13.8	13.8	13.1*	12.9*

2.6.7.7.2 サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control) [a]		3 [a]		15 [a]		75 [a]		0 (Control) [b]		15 [b]	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Neutrophils (/μL)												
Week −1	4198	5547	3918	5069	4396	3344	4028	3321	3381	2739	5996*	3859*
Week 4	4482	4119	4757	2775	2794	3077	3271	1890	2462	1773	4507	5622
Week 13	4450	4934	4715	3042	3829	2346	2590*	1649*	2113	2277	3014	2099
Serum Chemistry												
ALP (U/L)												
Week −1	308	230	360	210	335	182	324	206	394	447	321*	346*
Week 4	302	238	307	149	207*	121*	208	134	502	507	219*	202*
Week 14	308	218	233*	104*	128*	97*	149*	84*	594	513	218*	211*
BAP (U/L)												
Week −1	1042.1	630.3	1122.3	609.5	1008.2	559.2	1118.7	631.7	1146.9	1783.4	1095.7	1550.1
Week 4	1022.1	697.3	943.8	446.1	612.5	292.9	657.6	371.0	1578.6	1671.6	897.7	948.1
Week 14	1399.9	789.7	1054.8	306.0	384.4	250.1	505.1	255.0	2470.7	2004.2	1014.7	1100.4
Urinalysis	No test article related findings											
Bone Marrow Cytology												
Myeloid Precursors	−	−	−	−	−	−	↓	↓	−	−	−	−
Erythroid Precursors	−	−	−	−	−	−	↑	↑	−	−	−	−
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weights												
Thymus (g)	2.1743	3.1460	0.8690*	0.3440*	0.5707*	0.3947*	1.0787*	0.3827*	5.1770	4.5760	0.6410*	0.7037*
Gross Pathology												
Thymus size	↓	−	↓	↓	↓	↓	↓	↓	−	−	↓	↓

2.6.7.7.2 サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control) [a]		3 [a]		15 [a]		75 [a]		0 (Control) [b]		15 [b]	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology												
Thymus – Atrophy, diffuse												
Mild	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	2
Marked	0	0	2	2	3	3	2	3	0	0	1	0
Gender:Number of Animals (Recovery)	M: 2	F: 2	M: 1	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Died or sacrificed moribund	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serum Chemistry												
BAP (U/L)												
Week 26	601.8	239.2	185.5	208.5	483.9	183.4	215.1	322.8	896.5	726.0	673.6	406.4
Bone Marrow Cytology												
Myeloid Precursors	–	–	–	–	–	–	–	↓	–	–	–	–
Erythroid Precursors	–	–	–	–	–	–	–	↑	–	–	–	–
Gross Pathology												
Thymus size	–	–	–	–	–	↓	↓	–	–	–	–	↓
Histopathology												
Thymus – Atrophy, diffuse												
Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Marked	1	0	0	0	2	0	1	2	0	0	0	0

2.6.7.7.2 サルの 13 週間静脈内投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（続き）

ALP = alkaline phosphatase; AUC = area under the concentration-time curve; BAP = bone alkaline phosphatase; C_{max} = maximum concentration; CTD = Common Technical Document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; RBC = red blood cell; USP = United States Pharmacopeia; − = comparable to control animals or no treatment-related findings; ↑ = increased; ↓ = decreased; * = $p \leq 0.05$ (ANOVA)

a) Adult animals
b) Juvenile animals
c) Values below the lower limit of quantitation.
d) For controls and treated groups, percent differences from base line are shown. Statistical significance is based on combined sexes versus age respective control group.

2.6.7.7.3 サルの 39 週間静脈内投与毒性試験及び 24 週間回復性試験

Test Article: Teprotumumab

Report Title: A 39-Week Toxicity Study of RO4858696 Administered Once Weekly by Intravenous Injection to Cynomolgus Monkeys, with a 24-Week Recovery Period

Study No.: [AGD00061]

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: Once a week for 39 Weeks

CTD Document No.: 4.2.3.2-4

Initial Age: 2.5-3.9 years

Duration of Postdose: 24 weeks

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: IV bolus

Lot Number: 原薬ロットE*, 原薬ロットF*, 原薬ロットG*

Vehicle: Sterile water for injection, USP/20 mmol/L L-histidine/histidine-HCl (pH 5.5), 250 mmol/L trehalose, and 0.01% polysorbate 20

Special Features: Histopathology for selected tissues to evaluate IGF-1R down-regulation

No Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/week

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**3**		**15**		**75**	
Gender:Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 5[c]	M: 6	F: 6
Toxicokinetics: AUC (µg•h/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	5440	5900	31,300	31,000	189,000	196,000
Day 85	NA[a]	NA[a]	9790	10,600	82,800	101,000	449,000	367,000
Day 267	NA[a]	NA[a]	14,300	18,700	72,500	84,500	399,000	314,000
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	56.9	59.8	310	300	1990	1960
Day 85	NA[a]	NA[a]	87.2	85.7	698	785	3690	3490
Day 267	NA[a]	NA[a]	117	137	611	647	3520	2900

2.6.7.7.3 サルの 39 週間静脈内投与毒性試験及び 24 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**3**		**15**		**75**	
Gender:Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 5[c]	M: 6	F: 6
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[b]	35	7.5	18	1.3	−1.8*	−7.2*	−2.5*	−4.1*
Food Consumption (%)	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Electrocardiography	No treatment-related findings							
Hematology[d]								
RBC (10^6/μL)								
Week 13	5.82	5.65	5.53	5.26	5.42*	5.16*	5.22*	5.07*
Week 39	5.70	5.30	5.43	5.08	5.12*	4.92*	5.11*	4.79*
Hematocrit (%)								
Week 13	43.0	41.5	40.6	39.9	39.8*	37.6*	37.8*	37.0*
Week 39	42.1	39.0	40.1	38.9	37.8*	36.1*	37.3*	35.2*
Hemoglobin (g/dL)								
Week 13	13.6	13.4	13.0	12.6	12.9*	12.1*	12.3*	12.0*
Week 39	13.5	12.6	12.9	12.2	12.3*	11.7*	11.9*	11.5*
Reticulocyte counts (10^5/μL)								
Week 13	0.52	0.41	0.50	0.43	0.38	0.35	0.29*	0.28*
Week 39	0.47	0.52	0.49	0.47	0.52	0.51	0.44	0.43

2.6.7.7.3 サルの 39 週間静脈内投与毒性試験及び 24 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**3**		**15**		**75**	
Gender:Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 5[c]	M: 6	F: 6
Serum Chemistry[d]								
ALP (U/L)								
Week 13	547	287	406	258	209*	130*	215*	149*
Week 39	550	228	375	223	248*	110*	221*	121*
Cholesterol (mg/dL)								
Week 13	119	135	126	134	131	104	116	115
Week 39	127	136	118	134	119	99	104*	100*
Coagulation	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Number Evaluated	4	4	4	4	4	3	4	4
Organ Weights								
Thymus (g)[d]	1.8655	2.5310	1.3898*	0.5598*	0.9325*	0.615*	0.3495*	0.4825*
Gross Pathology								
Thymus size decreased (n)	0	0	0	1	1	2	1	2
Histopathology								
Thymus – Atrophy, diffuse								
Minimal	0	0	0	2	3	1	1	1
Mild	0	0	0	0	1	0	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Marked	0	0	0	1	0	1	2	1
IGF-1R expression[e]	–	–	↓	↓	↓	↓	↓	↓

2.6.7.7.3 サルの 39 週間静脈内投与毒性試験及び 24 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Dose (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 5[c]	M: 6	F: 6
Flow Cytometry (counts/μL)								
CD20+	1246.5	1194.2	1351.8	889.7	1308.5	820.6	1282.3	1010.7
CD3+	4193.7	4175.5	3851.3	3903.8	3452.5	3469.2	4303.3	3028.3
CD3+/CD4+	2386.0	2365.5	1998.0	2297.2	1950.3	1787.0	2420.2	1737.3
CD3+/CD8+	1799.5	1834.3	1863.2	1582.2	1503.5	1669.0	1859.8	1214.0
CD3−/CD16+	667.7	570.7	739.8	721.7	482.3	510.0	659.7	650.5
Gender:Number of Animals (Recovery)	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Serum Chemistry[d]								
ALP (U/L)								
Week 62	686	187	313	226	659	187	620	242
Flow Cytometry (counts/μL)								
CD20+	942.0	1024.5	821.0	998.0	818.5	442.5	519.0	321.5
CD3+	3486.5	3544.0	2366.5	4731.0	2112.5	1891.0	3016.5	1868.5
CD3+/CD4+	2472.5	1778.0	1363.0	2699.0	1196.5	1302.0	1691.5	1194.5
CD3+/CD8+	1006.5	1746.0	963.5	1911.0	905.5	541.5	1237.5	582.5
CD3−/CD16+	437.5	740.0	441.5	976.5	361.0	390.0	291.0	473.0

ALP = alkaline phosphatase; AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; CTD = Common Technical Document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; RBC = red blood cell; USP = United States Pharmacopeia; − = comparable to control animals or no treatment-related findings; ↑ = increased; ↓ = decreased; * = $p \leq 0.05$ (ANOVA)

a) Values below the lower limit of quantitation.

b) Percent differences from baseline are shown. Statistical significance is based on combined sexes versus control.

c) One animal assigned to the study as a female was determined at Week 40 necropsy to have a congenital defect of penoscrotal transposition. Data for this animal is excluded from table.

d) Statistical significance is based on combined sexes versus control.

e) Histopathology evaluation of selected tissues (thymus, pancreas, prostate, urinary bladder, and mammary gland) to investigate IGF-1R down-regulation. Results showed a weekly dose of 3 mg/kg IGF-1R antibody RO4858696-000, administered for at least 39 weeks to cynomolgus monkeys resulted in a minimal to slight down-regulation of IGF-1R in specified epithelia, which was not enhanced at higher doses (15 or 75 mg/kg).

2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験

In vitro 遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験

In vivo 遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.10　がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

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

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 RO4858696 の妊娠カニクイザルにおける静脈内投与胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Teprotumumab

Report Title: Embryo-Fetal Development Study of RO4858696 Administered by Intravenous Injection to Pregnant Cynomolgus Monkeys

Study No.: [AGD00065]

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: F: Once weekly GD20-22 through GD142 (maximum 18 doses)

CTD Document No.: 4.2.3.5.2-1

Initial Age: 4.8-8.8 years

Day of Mating: GD0 (Day 2 of 3-day mating)

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: [redacted]20[redacted]

Day of C-Section: GD142 ± 1

Lot Number: 原薬ロット1*

No Observed Adverse Effect Level

F_0 Females: 75 mg/kg/week

F_1 Litters: < 75 mg/kg/week

Method of Administration: IV bolus

Design Similar to ICH 4.1.3? No

Vehicle: Sterile water for injection, USP/20 mmol/L L-histidine/histidine-HCl (pH 5.5), 250 mmol/L trehalose, and 0.01% polysorbate 20

Special Features: Anti-drug antibody; immunohistochemistry of fetal lymphoid tissue

Weekly Dose (mg/kg/week)		0 (Control)	75
Dams/Does	Toxicokinetics: (GD105)		
	C_{max} (µg/mL)	–	3510
	AUC (µg•h/mL)	–	385,000
	Fetal:Maternal Ratio	–	0.124
	Anti-drug antibody[a]		
	GD19	0/6	1/7
	GD105	0/5	0/5
	No. Pregnant	6	7
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0

2.6.7.13.1 RO4858696 の妊娠カニクイザルにおける静脈内投与胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Weekly Dose (mg/kg/week)		**0 (Control)**	**75**
Dams/Does	No. Aborted or with Total Resorption	1 [b]	2 [b]
	Body Weight, GW20 (%) [c]	5.2 kg	−19
	Hematology	No treatment-related findings	
	Serum Chemistry	No treatment-related findings	
Weekly Dose (mg/kg/week)		**0 (Control)**	**75**
Litters	No. Fetal Evaluations	5	5
	Gender	2M, 3F	1M, 4F
	Embryo/Fetal Evaluations (Ultrasound), GD101/103:		
	Biparietal Diameter (mm)	34.06	28.24
	Occipitofrontal Diameter (mm)	42.86	35.04
	Head Circumference (mm)	125.60	106.30
	Abdominal Circumference (mm)	101.12	76.10
	Humerus Length (mm)	21.84	17.32
	Femur Length (mm)	19.88	17.16
	Postmortem Fetal Evaluations (C-section GD142 ± 1)		
	No. Fetal Evaluations	4/5 [d]	5
	Fetal Body Weight (g)	272	149
	Placenta Weight (g)	81.0	56.3
	Placenta:Body Weight Ratio (g/g)	0.27	0.38
	Primary Disk Length (mm)	108.3	88.2
	Primary Disk Width (mm)	86.4	72.9
	Amniotic Fluid Volume (mL)	83	33

2.6.7.13.1 RO4858696 の妊娠カニクイザルにおける静脈内投与胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Weekly Dose (mg/kg/week)		0 (Control)	75
Litters	Fetal Measurements, Decreased [e]	1/5	5/5
	External Evaluations and Skeletal Radiographs:		
	Abnormalities to the head [f]	0/5	5/5
	Visceral Evaluations	–	–
	Clinical Pathology (chemistry, hematology)	–	–

– = no noteworthy findings; AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; CTD = Common Technical Document; F = female; GD = gestation day; GW = gestation week; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; No. = number; USP = United States Pharmacopeia

a) Number of animals with this finding per number of animals evaluated.

b) Aborted prior to the GD32 ultrasound evaluation and were replaced with additional pregnant females. Fetal loss in the 75 mg/kg/week group could not definitely be attributed to the test article; however, the possibility could not be ruled out as test article-related effects were observed in fetuses at C-section.

c) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

d) One infant delivered on GD140 prior to scheduled C-section; therefore, unable to determine placental, umbilical cord, and amniotic fluid evaluations.

e) Number of animals with this finding per number of animals evaluated. Fetal measurements included body and limb lengths, head and chest circumference, anogenital distance, and occipitofrontal diameter.

f) External evaluation abnormalities noted included rounding of the cranium viewed from front and side, closely set eyes, open fontanelles, underdevelopment of the lower portion of the face (most with pronounced underbite), pointing and narrowing of the nose, and thinning of the cranial bones. Radiographic skeletal findings included underdevelopment of the lower portion of the skull, micrognathia (correlated with underbite seen at external evaluation), smaller and less radio-dense teeth, closely set eyes, rounding of the skull as viewed from the front and side, and skulls that were generally less radio-dense.

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

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は実施しなかった。

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

2.6.7.15.1 RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

Test Article: Teprotumumab

Report Title: RO4858696: A 13-Week Toxicity Study of RO4858696 Administered by Intravenous Injection to Juvenile Cynomolgus Monkeys, with a 13-Week Recovery Period

Study No.: [AGD00071]

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: Once a week for 13 weeks

CTD Document No.: 4.2.3.5.4-1

Initial Age: 10-14 months

Duration of Postdose: 13 weeks

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: IV bolus

Lot Number: 原薬ロットH*

Vehicle: Sterile water for injection, USP/20 mmol/L L-histidine/histidine-HCl (pH 5.5), 250 mmol/L trehalose, and 0.01% polysorbate 20

Special Features: Skeletal growth evaluations (radiographs); bone densitometry; keyhole limpet hemocyanin (KLH) challenge

No Observed Adverse Effect Level: < 3 mg/kg/week

Dose Level (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics: AUC (µg•h/mL)								
Day 1	NA [a]	NA [a]	3530	3920	23,000	23,000	128,000	147,000
Day 85	NA [a]	NA [a]	6440	7810	64,000	55,600	250,000	274,000
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA [a]	NA [a]	42.0	48.9	249	244	1500	1620
Day 85	NA [a]	NA [a]	62.3	68.3	448	446	2470	2710
Anti-drug Antibody [b]	0/5	0/5	3/5	3/5	1/5	2/5	0/5	0/5
Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) Challenge [c]	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

2.6.7.15.1 RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings, Week 13/14								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%) [d]	21.6	14.5	12.9	8.8	13.4	9.0	14.1	3.0
Food Consumption	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Electrocardiography	No treatment-related findings							
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Skeletal Growth (Radiography)	No treatment-related findings							
Hematology [e]								
RBC (10^6/μL)								
Day 85	5.53	5.64	5.61	5.70	5.29	5.12	4.97	5.44
Hematocrit (%)								
Day 85	38.8	40.1	40.1	38.8	38.0	36.9	36.5*	36.8*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 85	12.6	13.1	13.2	12.6	12.6	11.9	11.9*	11.7*
Reticulocyte counts (10^5/μL)								
Day 85	0.67	0.73	0.68	0.58	0.51*	0.50*	0.53*	0.42*
Serum Chemistry [e]								
ALP (U/L)								
Day 85	647	696	377*	373*	332*	382*	324*	338*
Urinalysis	No treatment-related findings							

2.6.7.15.1 RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weight (g) [e]								
Thymus	3.578	3.163	1.879*	1.207*	0.737*	1.079*	0.500*	0.709*
Spleen	5.397	2.652	2.176*	1.890*	1.714*	2.258*	2.333*	1.734*
Gross Pathology								
Thymus size decreased (n)	0	0	1	0	0	0	1	1
Histopathology								
Thymus – Lymphoid depletion								
Minimal	0	0	1	1	0	1	1	1
Mild	0	0	0	0	3	0	0	0
Moderate	0	0	1	1	0	1	2	2
Spleen – Decreased germinal centers								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone Densitometry [f]								
Femur								
Global Area (cm^2)	10.3645	9.5019	9.0486	10.4017	9.3632	9.3023	10.0465	9.3125
Global Bone Mineral Content (g)	3.3535	2.8671	2.3694	3.0314	2.5107	2.6804	2.8071	2.4835
Global Bone Mineral Density (g/cm^2)	0.3234	0.3009	0.2614*	0.2900*	0.2673**	0.2881**	0.2799**	0.2620**

2.6.7.15.1 RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Gender:Number of Animals (Recovery)	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Body Weight (%) [d]	18.2	34.1	28.6	25.0	26.9	30.6	19.7	9.8
Hematology [e]								
RBC (10^6/μL)								
Day 175	5.90	5.79	5.81	6.34	5.37	5.31	4.86*	5.23*
Hematocrit (%)								
Day 175	41.9	41.0	41.4	43.2	39.4	39.9	37.2*	37.9*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 175	13.4	13.0	13.7	13.2	13.0	12.7	11.9*	12.5*
Reticulocyte counts (10^5/μL)								
Day 175	0.65	0.72	0.64	1.11	1.05	1.22	0.98	0.76
Histopathology								
Thymus – Lymphoid depletion								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen – Decreased germinal centers								
Mild	1	0	0	0	0	0	0	2

2.6.7.15.1 RO4858696 の幼若カニクイザルにおける 13 週間静脈内投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Test Article: Teprotumumab

Daily Dose (mg/kg/week)	0 (Control)		3		15		75	
Gender:Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Bone Densitometry [f]								
Femur								
Global Area (cm^2)	10.8025	10.3560	11.8528	9.8740	9.7116	10.0414	9.7471	9.5188
Global Bone Mineral Content (g)	3.6127	3.3548	4.2742	3.1964	3.2409	3.3232	3.2843	2.7209
Global Bone Mineral Density (g/cm^2)	0.3339	0.3224	0.3603	0.3236	0.3333	0.3292	0.3365	0.2858

ALP = alkaline phosphatase; AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; CTD = Common Technical Document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; KLH = keyhole limpet hemocyanin; M = male; NA = not applicable; RBC = red blood cell; USP = United States Pharmacopeia;
* = $p \leq 0.05$ (ANOVA); ** = $p \leq 0.01$ (ANOVA)

a) Values below the lower limit of quantitation.
b) Number of animals immunopositive per number of animals evaluated (prestudy through recovery).
c) A primary humoral immune response was observed in all control and RO4858696-dosed animals following KLH immunization. A memory humoral response was also observed following the second immunization with KLH in all animals and following the third immunization with KLH in recovery animals.
d) Percent differences from baseline are shown. Statistical significance is based on combined sexes versus control.
e) Statistical significance is based on combined sexes versus control.
f) Group Least-Squares Mean Bone Densitometry values for data obtained by Dual Energy X-Ray Absorptiometry.

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Dose	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study No. CTD Document No.
In vivo	Cynomolgus monkeys	Intravitreal	0, 1.25, 2.5 mg/eye	3F/group	An early onset, relatively mild, and transient inflammation observed following the first administration of 1.25 mg/eye and a delayed, variable onset, marked and persistent inflammation observed following doses of either 1.25 and/or 2.5 mg/eye. The early onset, transient inflammatory response was likely a more direct response to the test article not mediated by an anti-drug antibody and is consistent with inflammation previously described following intravitreal administration of antibodies. The later onset, marked ocular inflammation was considered to be secondary to an immune-mediated inflammatory response in which animals developed antibodies to the test article. NOAEL: Not determined	[8250539] 4.2.3.6-1

F = female; NOAEL = no observed adverse effect level

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test Article: Teprotumumab

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No. CTD Document No.
ADCC	Human/DU145	In vitro	NA	0.64, 3.2, 16, 80, 400, 2000, 10,000 ng/mL	Male cell line	Teprotumumab does not induce significant ADCC.	[1019288] 4.2.3.7.7-1
Tissue cross reactivity	Cynomolgus Monkey	In vitro	NA	2 and 10 µg/mL	1-2 donors/ tissue	Teprotumumab was cross-reactive with normal cynomolgus monkey tissues. The cells and tissue types that showed cross-reactivity were similar to that of human tissues.	[IM1202] 4.2.3.7.7-2
Tissue cross reactivity	Human	In vitro	NA	2 and 10 µg/mL	1-3 donors/ tissue	Teprotumumab-specific reactivity was present in epithelium, endothelium, smooth muscle, axons (peripheral nerves and nerve roots), ganglion cells, erythrocytes, mononuclear cells, neuropil (including glial cells and neuron cytoplasm), retina, ocular lens fibers, stroma, cardiomyocytes, colloid, endocrine cells, neurofilaments, reticulo-endothelium, Leydig cells, spermatogenic cells, and spermatids. All test article-specific staining was consistent with published reports of IGF-1R expression.	[IM1163] 4.2.3.7.7-3
Hemolytic potential and blood compatibility	Cynomolgus Monkey & Human	In vitro	NA	12.5 and 25 mg/mL	NR	Negative for hemolytic potential. Compatible with human serum and plasma as well as monkey serum and plasma.	[6131-491] 4.2.3.7.7-4
Whole blood hemolysis and plasma flocculation	Cynomolgus Monkey & Human	In vitro	NA	6.25 and 12.5 mg/mL	1/sex/ species	Teprotumumab did not result in hemolysis or flocculation.	[600237] 4.2.3.7.7-5

ADCC = antibody-dependent cellular cytotoxicity; CTD = Common Technical Document; IGF-1R = insulin-like growth factor-1 receptor; NA = not applicable; No. = number; NR = not reported