ケサンラ点滴静注液 350 mg

2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.6　毒性試験の概要文 1
2.6.6.1　まとめ 1
2.6.6.2　単回投与毒性試験 3
2.6.6.3　反復投与毒性試験 4
2.6.6.3.1　ドナネマブのサル 6 週間反復投与毒性試験 及び 3 ヵ月間回復性試験 5
2.6.6.3.2　PDAPP マウスを用いた mE8c の反復投与毒性試験 6
2.6.6.3.2.1　6 週間反復投与毒性試験 6
2.6.6.3.2.2　6 ヵ月間反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.2.3　6 ヵ月間反復投与薬理及び毒性試験 7
2.6.6.4　遺伝毒性試験 8
2.6.6.5　がん原性試験 8
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 9
2.6.6.7　局所刺激性試験 10
2.6.6.8　その他の毒性試験 10
2.6.6.8.1　組織交差反応性試験 10
2.6.6.8.2　微小出血評価 11
2.6.6.8.3　不純物の評価 12
2.6.6.8.3.1　非遺伝毒性不純物 12
2.6.6.8.4　薬物乱用性 12
2.6.6.9　考察及び結論 13
2.6.6.10　図表 14
2.6.6.11　参考文献 14

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

ドナネマブ（LY3002813）は、アルツハイマー病（Alzheimer's disease：AD）の治療を目的としたヒト化抗アミロイドβ（amyloid-beta：Aβ）モノクローナル抗体である。ドナネマブは、脳内に沈着したアミロイドプラークにのみ存在する $Aβ_{p3-X}$（アミノ末端の 2 つのアミノ酸が欠失し、ピログルタミン酸修飾を受けた Aβ ペプチド）を認識するヒト化免疫グロブリン G（immunoglobulin G：IgG）1 抗体である（本承認申請資料中では $Aβ_{p3-X}$ は、N3pGAβ、N3pEAβ 又は N3pGlu Aβ とも称されている）。ドナネマブは、脳に沈着したアミロイドプラークを、食作用を介して除去すると考えられる。治療用抗体を介した食作用によるアミロイドプラーク除去の機序には、抗 Aβ 抗体の中枢神経系（central nervous system：CNS）への到達、CNS での沈着標的への結合、及びミクログリアによる沈着プラーク貪食の促進が含まれる（Schenk 2002）。

ドナネマブの非臨床安全性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。ドナネマブの毒性試験は ICH S6(R1) に準拠して計画、実施した。ドナネマブの非臨床安全性試験計画について考慮した点を以下に示す。

- ドナネマブの薬理学的標的である $Aβ_{p3-X}$ は、AD の沈着アミロイドプラーク内のみに存在し、毒性試験で汎用される若齢動物の脳内には存在しない。抗体薬の安全性評価には、標的エピトープを発現し、薬理作用を発現する動物種を用いることが推奨され、適切な動物種が存在しない場合には、ヒト型の標的を発現するトランスジェニック動物の使用が推奨される（ICH S6[R1]）。したがって、ドナネマブの非臨床安全性評価ではオンターゲット作用（脳内 Aβ 減少作用など）による影響の評価に高齢 PDAPP マウスを選択した。PDAPP マウスは、ヒト変異型アミロイド前駆体タンパク質（APP^{V717F}）を過剰発現する脳アミロイドーシスのトランスジェニックマウスモデルであり、AD の神経病理学的特徴が認められる（Games et al. 1995）。なお非臨床薬理試験にもこのモデルを用いた。また非げっ歯類の動物種としてカニクイザルを選択し、オフターゲット作用のみを評価した。
- カニクイザルでは、6 週間反復投与毒性試験のみ実施し、より長期の一般毒性試験は実施しなかった。6 週間反復投与毒性試験ではドナネマブ投与に関連した変化は認められておらず、リスク評価の観点から、薬理作用を発現しない動物種でのより長期の試験を実施する意義は低いと考えられる。
- 高齢 PDAPP マウスを用いた毒性試験では、ヒト化抗体であるドナネマブが免疫原性を示す可能性があるため、ドナネマブのマウス IgG2a サロゲート抗体である mE8c（LSN3026818）を用いた。ドナネマブと mE8c の結合エピトープは類似しており、$Aβ_{p3-X}$ の 3～10 位の間のアミノ酸残基にマッピングされる。mE8c は、高齢 PDAPP マウスにおいて強力なアミロイドプラーク減少作用を示すことが確認されている（CTD 第 2.6.2.1 項）。なお、アミロイドプラーク減少作用はエフェクター機能に依存することが示されている。エフェクター機能が最大となる IgG アイソタイプはヒトとマウスの間で異なり、マウスでのエフェクター機能は IgG1 が最小で IgG2a が最大であった（CTD 第 2.6.2.2.2 項）。
- 規制ガイドライン（ICH S1A、ICH S6[R1]）の推奨事項に従い、ドナネマブ投与によるがん原性リスクについて、利用可能な情報に基づく科学的評価を実施した。その結果、ドナネマブ投与に関連するがん原性リスク増加のエビデンスは示されず、がん原性を評価する非臨床

試験の実施は不要と判断した。

- ドナネマブの生殖発生毒性試験に用いる適切な動物種が存在しないことから、ドナネマブの生殖発生リスクについて、利用可能な情報に基づく科学的評価を実施した。その結果、ドナネマブの生殖発生に対する安全性上の懸念は示されず、生殖発生毒性を評価する非臨床試験の実施は不要と判断した。
- 高齢 PDAPP マウスに、Aβ のアミノ末端又はカルボキシル末端を認識する抗体を投与することにより、薬理作用であるプラーク減少作用の発現に伴い脳アミロイド血管症（cerebral amyloid angiopathy：CAA）関連微小出血が誘発されることが報告されている（Pfeifer et al. 2002; Wilcock and Colton 2009; Racke et al. 2005）。抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体を高齢 PDAPP マウスに週 1 回、3 ヵ月間投与したとき、プラーク減少作用の発現に伴い、脳内 CAA 関連微小出血の悪化又はその他の神経変性性変化が発現するか否かを評価するため、脳組織の神経病理学的評価に特化した試験を実施した。
- Weight of evidence に基づく評価によると、ドナネマブの乱用性は低いと考えられ、ドナネマブの乱用性を評価するための非臨床試験は不要と判断した。

カニクイザルを用いた 6 週間反復投与毒性試験（8242713 試験）、PDAPP マウスを用いた 6 週間反復投与毒性試験（504299 試験）、PDAPP マウスを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（504531 試験）、及び組織交差反応性試験（20008867 試験）は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）を遵守し、ICH M3(R2)及び S6(R1)ガイダンスに従って実施した。一部の手順に関する逸脱事項は各試験報告書に記載した。これらの逸脱は、試験の信頼性及び試験結果の解釈に影響を及ぼすものではなかった。PDAPP マウスを用いた 6 ヵ月間反復投与薬理及び毒性試験（8222743 試験）並びに 3 ヵ月間微小出血試験（MB135 試験）は GLP 適用試験ではないが、社内ガイドライン（Good Research Practices）に従って実施し、信頼性保証監査を受けた。

表 2.6.6-1. ドナネマブの毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種、系統	開始時の齢	投与物	資料 ID
反復投与毒性試験					
6 週間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験	IV	カニクイザル	2～4 歳	ドナネマブ	8242713
6 週間反復投与毒性試験	SC	マウス、PDAPP	12～15 ヵ月齢	mE8c	504299
6 ヵ月間反復投与毒性試験 [a]	SC	マウス、PDAPP	12～15 ヵ月齢	mE8c	504531
6 ヵ月間反復投与薬理及び毒性試験 [c]	SC	マウス、PDAPP	16 ヵ月齢	mE8c	8222743 [c]
その他の毒性試験					
組織交差反応性試験	Ex vivo	カニクイザル及びヒトの組織	該当せず	ドナネマブ	20008867
3 ヵ月間微小出血試験 [c]	IP	マウス、PDAPP	23～24 ヵ月齢	mE8c[b]	MB135 [c]

略号：IP = 腹腔内、IV = 静脈内、mE8c = ドナネマブのマウスサロゲート抗体、PDAPP = APP^{V717F} トランスジェニック、SC = 皮下

[a] 本試験では、PDAPP マウスの加齢に関連した途中死亡例が認められたことから、投与終了時屠殺例として少なくとも 1 群雌雄各 5 例を確保するため、雄は 5 ヵ月間、雌は 4.6 ヵ月間の投与後に屠殺した。

[b] 本試験には他の投与群（mE8，3D6）をおいた。

[c] GLP 非適用

ドナネマブの非臨床毒性試験成績の概要を以下に示す。

- カニクイザルを用いたドナネマブの 6 週間反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験では、CNS、心血管系、及び呼吸系機能の安全性薬理評価、並びに脳の神経病理学的検査を含め、毒性学的に重要な変化は認められず、オフターゲット作用による安全性上の懸念は特定されなかった。また投与部位の刺激性や投与部位反応を示唆する変化も認められなかった。
- 高齢 PDAPP マウスに mE8c を最長 6 ヵ月間投与した反復投与毒性試験及びハザード検出試験（504299、504531、8222743、及び MB135 試験）では、脳の神経病理学的検査を含め、毒性学的に重要な変化は認められず、安全性の懸念は特定されなかった。
- これらの毒性試験では、ドナネマブ又は mE8c への持続的な全身曝露が示された。
- ドナネマブの生殖発生毒性及びがん原性リスクを、標的に関する公表文献、並びにドナネマブの非臨床及び臨床試験成績に基づき評価した結果、ドナネマブがヒトで生殖発生毒性及びがん原性を有する懸念は低く、更なる非臨床試験の実施は不要と判断した。
- ヒト及びカニクイザルの組織パネルを用いた組織交差反応性試験では、生物学的意義のある結合（細胞膜への結合）は認められなかった。
- 高齢 PDAPP マウスを用いた試験では、脳組織の神経病理学的検査により、潜在的な安全性上の問題点である CAA 関連微小出血の悪化（CTD 第 2.6.6.8.2 項）及び神経変性性変化（CTD 第 2.6.6.3.2 項及び CTD 第 2.6.6.8.2 項）の有無を評価した。その結果、mE8c 投与に関連した変化は認められなかった。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ドナネマブの単回投与毒性試験は実施していない。ドナネマブを単回静脈内（intravenous：IV）投与時の急性毒性は反復投与毒性試験での初回投与後の所見から評価した。カニクイザルを用い

た 6 週間反復投与毒性試験（安全性薬理評価項目を含む）では、検討した最高用量である 100 mg/kg まで死亡及びドナネマブ投与に関連した変化は認められなかったことから、概略の致死量は 100 mg/kg 超であった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

ドナネマブの毒性を評価するため、カニクイザルを用いた GLP 適用の 6 週間反復投与毒性試験を実施した。この試験では、通常の検査項目に加え、安全性薬理評価及び脳の神経病理学的評価を実施した。また 13 週間の休薬期間を設け、毒性の持続性及び回復性を評価した。カニクイザルを用いたドナネマブの毒性試験は、臨床投与経路と同じ IV 投与で実施し、臨床用製剤と同じ溶媒（注射用滅菌水［USP］で調製した 10 mM クエン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム、及び 0.02%［w/v］ポリソルベート 80［pH 6.0 ± 0.2］）を用いた。

脳からの $A\beta_{p3\text{-}X}$ 除去に関連する毒性を評価するため、Aβ 沈着を有する高齢 PDAPP マウスモデルを用いた最長 6 ヵ月間のハザード検出試験を 3 試験実施した（表 2.6.6-1）。PDAPP マウスの試験は、ヒト化抗体をマウスに反復投与した際の潜在的免疫原性に起因する制約を避けるため、ドナネマブのマウスサロゲート抗体である mE8c を用いた。このモデルでは週 1 回の反復 IV 投与が実施困難であるため、毒性を評価するための持続的な全身曝露を達成可能な他の投与経路として、皮下（subcutaneous：SC）投与で実施した。mE8c の血漿中濃度は、バリデートされた抗原捕捉酵素免疫測定法（enzyme-linked immunosorbent assay：ELISA）により測定した。これらの試験では、一般的な病理組織学的検査及び臨床検査に加え、脳の神経病理学的評価も実施した。

サルを用いたドナネマブの毒性試験での用量は、試験計画時に予定されていた臨床試験の用量範囲との比率に基づき設定した。高齢 PDAPP マウスを用いた mE8c のハザード検出試験の用量は、薬理学反応が飽和する用量に基づき設定した。高齢 PDAPP マウスでの mE8c の薬理学的飽和用量は 12.5 mg/kg/週であり、この用量で、海馬及び皮質での $A\beta_{1\text{-}42}$ 減少レベルは、薬物動態／薬力学モデルにより予測された最大反応のそれぞれ 89%及び 94%であった（CTD 第 2.6.2.2.8 項）。このモデリングから得られた用量反応プロファイルから、mE8c を 12.5 mg/kg/週を上回る用量で PDAPP マウスに投与しても、更なる薬理作用は得られないと予測される。

PDAPP マウスの試験では、投与期間を通して、mE8c の標的である脳内アミロイドプラークが存在する試験系として、投与開始時点で 12 ヵ月齢以上の高齢 PDAPP マウスを用いた。そのため、長期投与試験では、投与期間に生存状況による制約が生じた。高齢 PDAPP マウスを用いた GLP 適用の 6 ヵ月間反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3.2.2 項）では、加齢による死亡例が認められた。投与終了時の病理組織学的検査に少なくとも 1 群雌雄各 5 例を確保するため、雄は 5 ヵ月間、雌は 4.6 ヵ月間で投与を終了し、検査に供した。当該試験での死亡発現頻度は対照群と mE8c 投与群で同程度であり、薬物投与とは無関係であった。mE8c についての 3 つの毒性試験では、いずれも mE8c 投与に関連した所見は認められなかった。

ドナネマブの臨床曝露量との安全域は、サルを用いたドナネマブの 6 週間反復投与毒性試験データを用いて算出した（表 2.4-1）。PDAPP マウスを用いた mE8c の試験からは、ドナネマブのヒト用量との安全域は算出しなかった。mE8c のような相同タンパク質について実施した試験から有用な情報が得られる可能性があるものの、製造工程、不純物及び混入物質の程度、薬物動態、並びに厳密な意味での薬理学的作用機序は、臨床使用用製剤と異なる可能性がある（ICH

S6[R1]）。そのため、PDAPP マウスを用いて実施したマウスサロゲート抗体の試験からは、ハザード検出として有用な情報が得られるが、定量的なヒトリスク評価を目的とした安全域算出に用いることは適切ではないと考えられる。

2.6.6.3.1　ドナネマブのサル 6 週間反復投与毒性試験 及び 3 ヵ月間回復性試験

8242713 試験（4.2.3.2.4）、概要表 2.6.7.7-1

雌雄カニクイザル（雌雄各 3 例／群）に、ドナネマブを 0（溶媒対照）、1、10、又は 100 mg/kg の用量で週 1 回、6 週間 IV 投与したときの毒性及びトキシコキネティクス（toxicokinetics：TK）を評価した。また、0 又は 100 mg/kg 群では回復群（1 群雌雄各 3 例）を設け、13 週間の休薬期間後に、変化が認められた場合の回復性、持続性、又は遅発性を評価した。さらに、安全性薬理評価項目として、定量的及び定性的な呼吸系機能及び心血管系機能の評価、体温測定、並びに神経行動学的評価を実施した。溶媒には、注射用滅菌水（USP）で調製した 10 mM クエン酸ナトリウム、150 mM 塩化ナトリウム、及び 0.02%（w/v）ポリソルベート 80（pH 6.0 ± 0.2）を用いた。

本試験の用量は、第 1 相臨床試験で予定されていた用量範囲との比率に基づき設定した。低用量の 1 mg/kg は、第 1 相臨床試験の開始用量である 0.1 mg/kg の 10 倍とし、高用量の 100 mg/kg は、第 1 相試験の予定最高用量である 10 mg/kg の 10 倍に設定した。中用量である 10 mg/kg は、低用量と高用量との対数間隔であった。

毒性評価項目は、生死確認、一般状態、体重、摂餌量、神経行動学的検査、呼吸及び体温の測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、器官重量、剖検、並びに脳の神経病理学的評価を含む病理組織学的検査であった。ドナネマブの血清中濃度は、抗原捕捉 ELISA アッセイを用いて、結合能を有する薬物濃度を測定した。抗薬物抗体量も評価した（方法は CTD 第 2.6.4.2 項に記載）。曝露量及び抗薬物抗体測定の結果は CTD 第 2.6.4.3 項に示す。

すべての動物が計画屠殺時まで生存した。投与期間中及び休薬期間中、ドナネマブ投与に関連した一般状態の変化、体重変化、摂餌量の定性的変化、及び眼科学的所見は認められなかった。呼吸系及び中枢神経系安全性薬理評価では、被験物質の影響は認められなかった。心血管系安全性薬理評価では、ドナネマブ投与に関連した PR 間隔、QRS 持続時間、QT 間隔、補正 QT（corrected QT：QTc）間隔、及び心拍数の変化は認められず、定性的心電図評価でドナネマブ投与に起因する調律異常及び定性的 ECG 変化は認められなかった。

投与期間中及び休薬期間中、血液学的検査、血球形態検査、血液凝固検査、及び血液生化学的検査のパラメータに、ドナネマブ投与に関連した変化は認められなかった。投与期間及び休薬期間の終了時に、ドナネマブ投与に関連した器官重量の変化及び剖検所見は認められず、投与期間終了時の病理組織学的検査で、被験物質関連の所見は認められなかった。投与期間終了時の検査でドナネマブ投与に関連した所見が認められなかったことから、休薬期間後の病理組織学的検査は実施しなかった。

以上、カニクイザルに、ドナネマブを 1、10、又は 100 mg/kg の用量で週 1 回、6 週間 IV 投与したとき、投与に関連した所見は認められず、無影響量（no-observed-effect level：NOEL）は 100 mg/kg であった。投与期間終了時（36 日目）での 100 mg/kg 群の雌雄平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}166hr}$ は、それぞれ 2590 µg/mL 及び 142000 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.2　PDAPP マウスを用いた mE8c の反復投与毒性試験

高齢 PDAPP マウスを用いて実施した mE8c の反復投与毒性試験では、毒性試験で標準的に検討する評価項目に加え、脳の神経病理学的評価を実施した。

先述のとおり、mE8c の試験はハザード検出試験であり、ヒトでのリスクに関する情報を得るために有用であるが、定量的なヒトリスク評価には適さないと考えられる。

2.6.6.3.2.1　6 週間反復投与毒性試験

504299 試験（4.2.3.2.3）、概要表 2.6.7.7-2

雌雄の高齢 PDAPP マウス（雌雄各 9 又は 10 例／群）に、mE8c を 0（溶媒対照）、10、30、又は 100 mg/kg/回の用量で週 1 回、6 週間 SC 投与したときの毒性を評価した。溶媒にはリン酸緩衝生理食塩液（phosphate buffered saline：PBS、pH 7.4）を用いた。またサテライト群（雌雄各 2～3 例／群／時点）を設け、血清中 mE8c 濃度を測定した。動物は投与開始時点で約 12～15 ヵ月齢であった。

mE8c の最高用量（100 mg/kg/週）は、この動物モデルで薬力学反応が飽和する用量（12.5 mg/kg/週、CTD 第 2.6.2.2.8 項）を超えており、ドナネマブの当初の予定最高臨床用量である 10 mg/kg の 10 倍であった。

毒性評価項目は、生死確認、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、器官重量、剖検及び脳の神経病理学的評価を含む病理組織学的検査であった。曝露量評価の結果は CTD 第 2.6.4.3 項に示す。

本試験では、mE8c 投与に関連した死亡及び一般状態の変化は認められず、体重、体重増加量、摂餌量、及び眼科学的検査に変化は認められなかった。

途中死亡が、2～43 日目に、13 例の主試験用動物及び 6 例の曝露量測定用動物で認められた。死亡発現頻度には用量反応性は認められなかった。

- 途中死亡例では、死亡前に一般状態の変化として、腹部膨満、削痩、背骨の顕在化、冷触感、活動性低下、衰弱、筋緊張度低下、皮膚蒼白、脱水、部分閉眼及び眼陥凹、努力性呼吸（呼吸数増加、浅い呼吸）が様々な組み合わせで認められた。
- 主試験群の死亡例では、病理組織学的検査において、死亡又は一般状態の変化に関連する血液リンパ系組織の悪性新生物が認められた。全例で転移が認められ、特に肝臓、脾臓、骨髄、リンパ節で高頻度に認められた。

上記の変化及び動物が高齢であったことに基づくと、これらの死亡は mE8c 投与の影響ではなく加齢によるもの判断された。曝露量測定用動物については病理組織学的検査を実施しなかったため、死因の検討はしなかった。

本試験の剖検、器官重量、及び病理組織学的検査（脳の神経病理学的評価を含む）では、mE8c 投与に関連した変化は認められなかった。

以上、高齢 PDAPP マウスに、mE8c を 10、30、及び 100 mg/kg の用量で週 1 回、6 週間 SC 投与したとき、mE8c 投与に関連した変化は認められず、NOEL は 100 mg/kg であった。100 mg/kg 群の 36 日目（最終投与の約 48 時間後）の mE8c 血清中濃度は 272.1 µg/mL であった。

2.6.6.3.2.2　6ヵ月間反復投与毒性試験

504531 試験（4.2.3.2.1）、概要表 2.6.7.7-3

雌雄の高齢 PDAPP マウス（雌雄各 19～20 例／群）に mE8c を 0（溶媒対照）、30、又は 100 mg/kg の用量で週 1 回、雌は 140 又は 141 日間、雄で 151 又は 152 日間 SC 投与したときの毒性及び曝露量（血漿中 mE8c 濃度）を評価した。本試験では 6 ヵ月間の投与を予定していたが、投与開始時の動物は約 12～15 ヵ月齢で、投与期間中に加齢による死亡が認められたため、雌は 140 又は 141 日目、雄で 151 又は 152 日目に投与を終了し、剖検を行った。溶媒には PBS（pH 7.4）を用いた。

本試験の高用量（100 mg/kg/週）は、この動物モデルで薬力学反応が飽和する用量（12.5 mg/kg/週、CTD 第 2.6.2.2.8 項）を超えており、ドナネマブの当初の予定最高臨床用量である 10 mg/kg の 10 倍であった。

毒性評価項目は、生死確認、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査、器官重量、剖検及び脳の神経病理学的評価を含む病理組織学的検査であった。曝露量評価の結果は CTD 第 2.6.4.3 項に示す。

本試験では、mE8c 投与に関連した死亡及び一般状態の変化は認められず、体重及び摂餌量には mE8c 投与に関連した変化は認められなかった。

投与期間中に 70 例の途中死亡（15 例は途中安楽殺、55 例は死亡発見）が認められた。死亡発現頻度は対照群と投与群で同程度であり、用量反応性は認められなかった。死因及び途中安楽殺の理由として最も多かったのは、加齢に関連した悪性リンパ腫であった。血液学的検査及び血液生化学的検査で認められた変化はすべて、複数の器官で生じたリンパ系細胞の腫瘍性増殖に起因するものであった。これ以外に、死亡及び途中安楽殺の理由となった所見は、高齢マウスで一般的又は散発的に認められるものであった。

本試験の剖検、器官重量、及び病理組織学的検査では、mE8c 投与に関連する変化は認められなかった。

以上、高齢 PDAPP マウスに mE8c を 0、30、又は 100 mg/kg の用量で週 1 回、140 もしくは 141 日間（雌）又は 151 もしくは 152 日間（雄）SC 投与したとき、mE8c 投与に関連した変化は認められず、NOEL は 100 mg/kg であった。途中死亡はすべて、悪性リンパ腫又は高齢マウスで一般的又は散発的に認められる他の症状によるものであった。100 mg/kg 群の雄での 151 又は 152 日目の mE8c 血漿中濃度は 463.8 µg/mL であった。

2.6.6.3.2.3　6ヵ月間反復投与薬理及び毒性試験

8222743 試験（4.2.3.2.2）、概要表 2.6.7.6-1

雌の高齢 PDAPP マウス（30 例／群）に mE8c を 0（対照）、1.5、4、又は 12.5 mg/kg の用量で週 1 回、6 ヵ月間 SC 投与したときの薬理作用及び毒性を評価した。対照群には IgG2a 対照抗体（LSN2404997）を 12.5 mg/kg の用量で 6 ヵ月間 SC 投与した。投与期間終了後、生存例のうち 1 群 15 例を毒性評価用動物として、臨床検査及び病理学的検査に供した。また、すべての生存例から血液及び脳組織を採取し、それぞれ血漿中 mE8c 濃度及び有効性評価項目を評価した。動物は投与開始時点で約 16 ヵ月齢であった。有効性及び曝露量の結果は、NDG78 試験で報告する（それぞれ CTD 第 2.6.2.2.7 項及び 2.6.4.3.2.1 項）。

本試験の高用量である 12.5 mg/kg/週は、3 ヵ月間微小出血試験（CTD 第 2.6.6.8.2 項）の投与量に合わせて設定した。この用量は、高齢 PDAPP マウスでの薬理学反応が飽和する用量である（CTD 第 2.6.2.2.8 項）。

毒性評価項目は、生死確認、臨床検査、器官重量、剖検、及び脳の神経病理学的検査を含む病理組織学的検査であった。

本試験では mE8c 投与に関連した死亡は認められなかった。

試験期間中に、IgG2a 対照群を含む各投与群で 6～7 例のマウスが死亡した。これらのマウスの死因は不明であったが、死亡の発現頻度は、この齢の PDAPP マウスで予測される自然発生的死亡の発現頻度に一致していたことから、mE8c 投与に関連しないと考えられた。

血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、及び脳の神経病理学的評価を含む病理組織学的検査では、mE8c 投与に関連した変化は認められなかった。すべての変化は、この齢のマウスで発現する自然発生性疾患に起因するするものであった。

以上、高齢 PDAPP マウスに mE8c を 1.5、4、及び 12.5 mg/kg の用量で週 1 回、6 ヵ月間 SC 投与したとき、mE8c 投与に関連した変化は認められず、NOEL は 12.5 mg/kg であった。12.5 mg/kg 群の最終投与約 72 時間後の血漿中 mE8c 濃度は 234.6 μg/mL であった（概要表 2.6.5.4A）。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

ドナネマブはモノクローナル抗体であることから、遺伝毒性試験は実施しなかった。一般的に、モノクローナル抗体は細胞内の DNA や他の染色体成分と直接相互作用しないと考えられる。また、大量のペプチド又はタンパク質を投与した場合、解釈不可能な結果が起こる可能性がある（ICH S6[R1]）。

2.6.6.5　がん原性試験

Carcinogenicity Assessment for Donanemab（4.3.56）

ドナネマブのがん原性を評価するための動物試験は実施しなかった。ICH S1A ガイドライン、ICH S6(R1)ガイドライン、及び Biotechnology Industry Organizations Preclinical Safety Committee の推奨事項（Vahle et al. 2010）に従い、ドナネマブのがん原性リスクの評価のため、以下の情報を精査した。

- 標的（Aβ プラーク）の生物学的作用に関する公表文献
- ドナネマブが特異性の高いモノクローナル抗体であること
- ドナネマブ又は mE8c の毒性試験成績（CTD 第 2.6.6.3 項及び 2.6.6.8.2 項）
- 組織交差反応性試験成績に基づく組織内分布（CTD 第 2.6.6.8.1 項）
- 薬理作用が認められるがん原性評価モデルの利用可能性
- ドナネマブ（CTD 第 2.7.4 項）及びその他の抗 Aβ 抗体薬の臨床的安全性データ

以下に評価の概要を示す。

(1) CNS 内での Aβ プラークの減少はがん原性に影響を及ぼさないと予測され、むしろ多くの文献では Aβ の細胞傷害性が報告されている。
(2) ドナネマブはアミロイドプラークにのみ存在する $A\beta_{p3\text{-}X}$ に高い特異性を示すモノクローナル

抗体であることから、ドナネマブがオフターゲット作用により腫瘍形成に関与する可能性は低いと考えられる。

(3) ドナネマブはヒト化抗体であり、ヒトと共通したN結合糖鎖構造を産生するチャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary：CHO）細胞株を用いて製造される。ドナネマブは天然型アミノ酸及び単糖で構成されることから、生体内ではペプチド及びアミノ酸に異化され、排出又は組織に取り込まれると予測され、がん原性リスクを示唆する古典的な警告構造を持たない。

(4) ドナネマブの薬理作用及び高い特異性から予測されるとおり、非臨床試験では、がん原性を示唆する所見（細胞傷害性、炎症、ホルモン変動のエビデンス、腫瘍増加、組織過形成などの前腫瘍性病変、免疫調節作用又は免疫抑制作用の徴候など）は認められなかった。

(5) ヒト及びカニクイザルの組織パネルを用いた組織交差反応性試験では、いずれの組織にも生物学的意義のある結合（細胞膜への結合）は認められなかった。

(6) ドナネマブの標的は脳内のアミロイドプラークにのみ存在する。標準的ながん原性試験に用いられ、がん原性試験の背景データが存在するげっ歯類にはドナネマブの標的が存在しないことから、ドナネマブのがん原性を評価する利用可能な動物種は存在しない。

(7) ドナネマブの臨床試験での悪性腫瘍報告の頻度を評価した結果、悪性腫瘍のリスク増加は示されなかった（CTD第2.7.4項）。また他の抗Aβ抗体薬（すなわち、ソラネズマブ、アデュカヌマブ、bapineuzumab、及びガンテネルマブ）の大規模臨床試験の安全性データから、この患者集団でのこれらの治療薬への曝露による悪性腫瘍の発現頻度増加は、プラセボと比較して高くないことが示されている。

以上より、ドナネマブの長期投与に関連するがん原性のリスク増加のエビデンスは示されなかった。この包括的な評価に基づき、がん原性を評価する非臨床試験実施は不要と判断した。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

Reproductive Safety Assessment for Donanemab（4.3.57）

ドナネマブについて生殖発生毒性試験は実施しなかった。ドナネマブはヒト化モノクローナル抗体であり、汎用される動物種に薬理学的標的は存在しないことから、生殖発生毒性試験に用いる適切な動物種が存在せず、標準的な生殖発生毒性試験の実施意義はないと考えられる。したがって、ドナネマブの生殖発生における安全性リスクは、以下の情報に基づき評価した。

- ドナネマブの対象疾患及び患者集団
- 標的（Aβプラーク）の生物学的作用に関する公表文献
- ドナネマブが特異性の高いモノクローナル抗体であること
- ドナネマブ又はmE8cの毒性試験での生殖器官に対する影響（CTD第2.6.6.3項）
- 組織交差反応性試験成績に基づく組織内分布（CTD第2.6.6.8.1項）
- 薬理作用が認められる生殖発生毒性評価モデルの利用可能性
- ドナネマブ（CTD第2.7.4項）及びその他の抗Aβ抗体薬の臨床的安全性データ

以下に評価の概要を示す。

(1) ドナネマブはADの進行を遅らせる可能性のある治療薬として開発された薬剤である。ADは

主に高齢の患者が罹患し、重篤かつ生命を脅かす可能性のある神経変性性疾患である。現時点では AD 患者が利用可能な疾患修飾治療の選択肢がないため、ベネフィット／リスク比が高い。

(2) 標的である Aβ の生物学的作用及び性質に関する報告に基づくと、ドナネマブにより $A\beta_{p3\text{-}X}$ 含有アミロイドプラークを除去しても、生殖安全性への影響はないと予測される。

(3) ドナネマブは特異性の高いモノクローナル抗体であり、その標的は高齢の動物の CNS にのみ存在するアミロイドプラークであるため、オフターゲット作用により生殖発生に関与する可能性は低いと考えられる。

(4) 毒性試験（GLP 適用の長期試験を含む）では、サロゲート抗体を投与した雌雄の性成熟げっ歯類及びドナネマブを投与した非ヒト霊長類で、生殖組織での所見は認められなかった。また、高齢 PDAPP マウスを用いた mE8c の 6 週間反復投与毒性試験では、精巣の病理組織学的検査で正常な精子形成の特徴が認められたことから、ドナネマブをヒトに投与した際の受胎能リスクは低いと考えられた。

(5) ヒト組織を用いた組織交差反応性スクリーニングでは、生殖組織を含め、いずれの組織でも、生物学的に意義があるとされる細胞膜への特異的結合は認められなかった。

(6) ドナネマブが薬理作用を発現する動物は高齢で受胎能が低下しているため、生殖発生毒性試験に適していない。

(7) ドナネマブ（CTD 第 2.7.4 項）及び他の抗 Aβ 免疫治療薬の臨床試験の安全性データから、薬理作用に関連した生殖発生のリスクは報告されていない。

以上より、ドナネマブをヒトに投与したときの生殖に関する潜在的リスクは低いことが示唆された。さらに、ドナネマブの生殖発生毒性試験に利用可能な、適切な動物モデルはない。これらの包括的評価に基づき、生殖発生毒性を評価する非臨床試験実施は不要と判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ドナネマブの局所刺激性は、カニクイザルを用いた 6 週間反復投与毒性試験の一環として評価した。カニクイザルにドナネマブを 100 mg/kg/週までの用量で週 1 回、6 週間 IV 投与したとき、注射部位の刺激性又は反応を示す一般状態の変化及び肉眼所見は認められなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 組織交差反応性試験

20008867 試験（4.2.3.7.7.1）、概要表 2.6.7.17-1

正常なヒト及びカニクイザルの組織パネルを用いて、ドナネマブの標的抗原特異的結合及び交差反応性結合を評価した。ヒト及びカニクイザル由来の凍結切片をドナネマブで処理し、ビオチン標識抗ヒト IgG 二次抗体を用いて免疫組織化学的に検出した。結合したドナネマブ二次抗体複合体を、アビジン・ビオチン・ホースラディッシュペルオキシダーゼ複合体（avidin-biotin-horseradish peroxidase complex：ABC）及びジアミノベンジジン（diaminobenzidine：DAB）色原体基質により可視化した。

ドナネマブ特異的な結合はすべて細胞質で認められた。抗体薬は in vivo で細胞質に到達できないとされ、組織交差反応性試験での細胞質領域へのモノクローナル抗体の結合は、一般に毒性学

的意義は低いとされている（Hall et al 2008; Leach et al. 2010）。複数のヒト組織で、リンパ球の細胞質にドナネマブ特異的結合が認められたが、カニクイザルの組織でも同様の結合が認められた。ヒト、カニクイザルの両方で、結腸、小腸、及び胃を含む腸管の様々な部分の腸管関連リンパ組織、並びにリンパ節、脾臓、及び扁桃腺のリンパ球において、細胞質にドナネマブ特異的結合が認められた。また結合強度のスコアの範囲は、ヒト及びカニクイザルの組織で同程度であった。ヒト組織でのドナネマブの結合は主に濾胞内に認められ、全体として B リンパ球の関与が示されたのに対し、カニクイザル組織でのドナネマブの結合は B 及び T リンパ球領域の両方に認められた。カニクイザル組織では、肺の気管支関連リンパ組織及び胸腺にもドナネマブの結合が認められた。

カニクイザル組織に特異的なドナネマブの結合が、末梢神経のミエリン、複数の組織の核、並びに甲状腺、卵管、及び下垂体の様々な種類の細胞の細胞質に認められた。ヒト組織に特異的なドナネマブの結合は認められなかった。

2.6.6.8.2　微小出血評価

MB135 試験（4.2.3.7.7.2）、概要表 2.6.7.17-1

高齢 PDAPP マウスに、Aβ のアミノ末端又はカルボキシル末端を認識する抗体を投与すると、薬理作用であるプラーク減少作用の発現に伴い CAA 関連微小出血が誘発されることが報告されている（Pfeifer et al. 2002; Wilcock and Colton 2009; Racke et al. 2005）。本試験では、抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体がプラーク減少作用の発現に伴い CAA 関連微小出血の悪化又は他の神経変性性変化を誘発するかを評価するため、高齢 PDAPP マウスに種々の抗 Aβ 抗体を週 1 回、3 ヵ月間投与し、脳組織の神経病理学的検査を実施した。神経病理学的評価の結果を本項に示し、プラーク減少作用の評価結果は NDG77 試験（CTD 第 2.6.2.2.5 項）で報告する。

雌雄の高齢 PDAPP マウス（雌は 1 群 23～27 例、雄は 1 群 15～16 例）に、IgG2a（IgG 対照群）、mE8（抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体、IgG1）、mE8c（抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体、IgG2a）、又は 3D6（抗 $A\beta_{1\text{-}X}$ 抗体、IgG2b、陽性対照抗体）を、12.5 mg/kg/週の用量で腹腔内投与した。3D6 は、抗 Aβ アミノ末端抗体であり、微小出血を著しく悪化させることが報告されている（Racke et al. 2005）ことから、微小出血評価の陽性対照として用いた。本試験で使用した PDAPP マウスの齢（試験開始時に 23～24 ヵ月齢）及び投与期間は、高齢動物の十分な生存期間を確保するとともに、背景病変レベルの微小出血が被験薬投与により悪化した場合の変化を検出できる条件を選択した。本試験で設定した用量（12.5 mg/kg/週）は、高齢 PDAPP マウスでの mE8c の薬理学的飽和用量（CTD 第 2.6.2.2.8 項）であり、公表された微小出血試験（Pfeifer et al. 2002; Wilcock and Colton 2009; Racke et al. 2005）の大半で使用された用量である。

本試験の結果、抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体である mE8c 及び mE8 による微小出血の悪化は認められなかった。報告された試験と同様、高齢 PDAPP マウスに 3D6 を投与したところ、微小出血が顕著に増加した（MB135 試験の図 2）。神経病理学的検査では、いずれの投与群にも神経変性性変化を示唆する変化は認められなかった。最終投与の約 72 時間後（90 日目）における mE8c 12.5 mg/kg 群の血漿中 mE8c 濃度は 82 µg/mL であった（概要表 2.6.5.4B）。

2.6.6.8.3　不純物の評価

2.6.6.8.3.1　非遺伝毒性不純物

ドナネマブ不純物の毒性は、ドナネマブの毒性試験の一環として評価した。すべての不純物の体内動態はドナネマブと同様で、動物種に依存しないと仮定し、1 ヵ月当たりの投与量に基づき、毒性試験の NOEL での不純物の曝露量を、規格値及び臨床用量（1400 mg を 4 週に 1 回投与）でのヒトでの曝露量と比較した（表 2.6.6-2）。その結果、適切な安全域が得られていることから、不純物の規格設定は毒性学的観点から妥当と考える。

表 2.6.6-2. 原薬の規格値における不純物の安全域

動物種	ドナネマブの用量（mg/kg/月）	総凝集体（SEC）		不純物（[redacted] CE-SDS）		総フラグメント（[redacted] CE-SDS）		不純物（[redacted] CE-SDS）	
		用量（mg/kg/月）	MOS[a]	用量（mg/kg/月）	MOS[a]	用量（mg/kg/月）	MOS[a]	用量（mg/kg/月）	MOS[a]
サル									
NOEL[c]	400[b]	[redacted]	–	[redacted]	–	[redacted]	–	[redacted]	–
ヒト[d]									
臨床用量[e]	20	[redacted]	2.7	[redacted]	9.8	[redacted]	9.4	[redacted]	9

略号：CE-SDS = キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム、Max = 最大、MOS = 安全域（「用量比」と同じ）、NOEL = 無影響量、SEC = サイズ排除クロマトグラフィー

[a] MOS = 動物の NOEL での総不純物用量（ロット [redacted] 中に存在）／ヒト総不純物用量（概要表 2.6.7.4 の規格設定に基づく）

用量比＝毒性試験に用いたロットの不純物含量(%)＊ NOEL(mg/kg)
規格値(%)　＊臨床用量（mg/kg）

[b] サル 6 週間反復投与毒性試験（8242713 試験、週 1 回［月 4 回］投与）の NOEL = 100 mg/kg/週 = 400 mg/kg/月

[c] ドナネマブの毒性試験用ロット [redacted]：SEC による総凝集体濃度は [redacted]%、[redacted] CE-SDS による総不純物濃度は [redacted]%（すなわち純度［[redacted]］は [redacted]%）、[redacted] CE-SDS による総フラグメント（[redacted]）濃度は [redacted]%及び不純物濃度は [redacted]%（すなわち純度［[redacted]］は [redacted]%）

[d] 1400 mg の用量で月 1 回、体重を 70 kg と仮定。

[e] ドナネマブの規格値：SEC による総凝集体濃度は [redacted]%、[redacted] CE-SDS による総不純物濃度は [redacted]%（すなわち純度［[redacted]］は [redacted]%）、[redacted] CE-SDS による総フラグメント濃度は [redacted]%及び総不純物濃度は [redacted]%（すなわち純度［[redacted]］は [redacted]%）。

2.6.6.8.4　薬物乱用性

ドナネマブの乱用性を評価するための試験は実施しなかった。非臨床試験成績及び規制ガイダンス（ICH M3[R2]、FDA 2017）に記載された基準を考慮し、weight of evidence に基づき評価した結果、ドナネマブの乱用の可能性は低く、乱用の非臨床モデルを用いた更なる試験の実施は不要と考えられた。以下に評価の詳細を示す。

- ドナネマブはアミロイドプラークにのみ存在する $A\beta_{p3\text{-}X}$ に高度に特異的なモノクローナル抗体であり、その薬理作用及び本薬の作用機序のいずれからも、乱用及び依存のリスクは示唆されない。
- ドナネマブはモノクローナル抗体であるため、既知の乱用薬物と化学的及び薬理学的類似性

はなく、代謝物により乱用の懸念が生じることもないと考えられる。これまでに乱用性を有するモノクローナル抗体は確認されていない。

- 非臨床試験において、ドナネマブは向精神作用を示さないことが示唆された。またカニクイザル 6 週間反復投与毒性試験の休薬期間後に乱用の可能性を示唆する一般状態の変化（離脱症状など）は認められなかった（CTD 第 2.6.6.3 項）。
- ドナネマブについて、乱用、離脱、及びリバウンドの臨床的エビデンスはない（CTD 第 2.7.4 項）。

2.6.6.9　考察及び結論

ドナネマブ及びマウスサロゲート抗体の mE8c について、一連の非臨床安全性試験を実施した。

ドナネマブの毒性試験では、ドナネマブを 100 mg/kg/週までの用量で、カニクイザルに 6 週間 IV 投与した結果、投与に関連した変化は認められなかった。またハザード検出を目的とした高齢 PDAPP マウスの試験では、100 mg/kg までの用量の mE8c を週 1 回の頻度で最長 5 ヵ月間投与したとき、又は 12.5 mg/kg までの用量で 6 ヵ月間投与したとき、投与に関連した変化は認められなかった。これらの結果から、ドナネマブの長期投与による安全性上の懸念は示されなかった。

標準的な生殖発生毒性試験及びがん原性試験は実施しなかったが、標的（Aβ プラーク）に関連する利用可能な公表文献、ドナネマブ及び mE8c の薬理及び毒性試験成績、並びにドナネマブ及びその他の抗 Aβ 抗体薬の臨床的安全性データに基づく評価の結果、ドナネマブがヒトで生殖発生及びがん原性のリスクを有する可能性は低いと考えられた。

カニクイザルの 6 週間反復投与毒性試験において、ドナネマブの曝露量は、用量の増加に伴ってほぼ用量比例的に増加した。また、曝露量に明らかな性差は認められず、反復投与による蓄積は認められなかった。抗薬物抗体（anti-drug antibody：ADA）が、1 又は 10 mg/kg の用量での週 1 回投与群では各群 6 例中 1 例に、100 mg/kg の用量での週 1 回投与群では 12 例中 4 例に、それぞれ検出されたが、ドナネマブ曝露量への明らかな影響は認められなかった（CTD 第 2.6.4.3 項）。マウスを用いた mE8c の反復投与毒性試験では、血漿中曝露量に用量依存性が示された（CTD 第 2.6.4.3 項）。

高齢 PDAPP マウスを用いた微小出血評価では、マウスサロゲート抗体 mE8c（抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体、IgG2a）及び mE8（抗 $A\beta_{p3\text{-}X}$ 抗体、IgG1）は、プラーク減少作用を示す用量で微小出血を悪化させないことが示された（CTD 第 2.6.6.8.2 項）。なお、動物モデルで報告された微小出血と、ヒトで報告されている画像検査異常（出血及びヘモジデリン沈着を伴うアミロイド関連画像異常［amyloid-related imaging abnormality hemorrhage/hemosiderin deposition：ARIA-H］など）（Salloway et al. 2009）との関連性は不明である。

カニクイザルを用いたドナネマブの 6 週間反復投与毒性試験において、NOEL を投与したときの不純物の曝露量は、臨床用量の 1400 mg を 4 週に 1 回投与した場合のヒトでの予測曝露量を上回ったことから、不純物の規格値設定は毒性学的観点から妥当と考えられる（表 2.6.6-2）。

Weight of evidence 評価に基づくと、ドナネマブの乱用の可能性は低いと考えられる。

組織交差反応性試験では、ヒトのリンパ系組織でリンパ球の細胞質に特異的結合が認められたが、対応するカニクイザルの組織でも結合が認められた。したがって、これらの組織への結合により生じる有害な影響については、サル 6 週間反復投与毒性試験で評価されていると考えられる。

また、これらの組織で特異的結合が認められたのは細胞質のみであり、通常 in vivo で抗体が到達できないと考えられる領域であることから、その生物学的意義は低いと考えられる（ICH S6[R1]）。

以上、非臨床安全性試験で標的器官毒性は特定されず、オンターゲット及びオフターゲットの安全性上の懸念は特定されなかった。サルを用いたドナネマブの 6 週間反復投与毒性試験における NOEL と臨床曝露量との間に適切な曝露量比が確認された（表 2.4-1）。高齢 PDAPP マウスを用いた mE8c の毒性試験からドナネマブの臨床用量との安全域を算出することは適切でないと考えられるが、これらの試験では、標的を介したリスクを詳細に評価するため、薬理学反応が飽和する用量を上回る用量まで検討された。非臨床安全性試験成績に基づくと、申請する用法・用量での臨床使用が支持される。

2.6.6.10　図表

図表は適切な項に含まれている。

2.6.6.11　参考文献

[FDA] US Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Assessment of Abuse Potential of Drugs. 2017. Available at: https://www.fda.gov/media/116739/download. Accessed March 21, 2021.

Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C et al. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F β-amyloid precursor protein. *Nature*. 1995; 373: 523-527.

Hall W, Price-Schiavi S, Wicks J, Rojko JL. Tissue Cross-Reactivity Studies for Monoclonal Antibodies: Predictive Value and Use for Selection of Relevant Animal Species for Toxicity Testing. In: Cavagnaro JA, editor. Preclinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals: A Science-Based Approach to Facilitating Clinical Trials. Wiley-Interscience; 2008. p. 207-240.

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

Pfeifer M, Boncristiano S, Bondolfi L, Stalder A, Deller T, Staufenbiel M et al. Cerebral hemorrhage after passive anti-Aβ immunotherapy. *Science*. 2002; 298: 1379.

Racke MM, Boone LI, Hepburn DL, Parsadainian M, Bryan MT, Ness DK et al. Exacerbation of cerebral amyloid angiopathy-associated microhemorrhage in amyloid precursor protein transgenic mice by immunotherapy is dependent on antibody recognition of deposited forms of amyloid β. *J. Neurosci*. 2005; 25(3): 629-636.

Salloway S, Sperling R, Gilman S, Fox NC, Blennow K, Raskind M et al. Bapineuzumab 201 Clinical Trial Investigators. A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology*. 2009 Dec 15; 73(24): 2061-70.

Schenk D. Amyloid-β immunotherapy for Alzheimer's disease: the end of the beginning. *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3(10): 824-828.

Vahle JL, Finch GL, Heidel SM, Hovland DN Jr, Ivens I, Parker S et al. Carcinogenicity Assessments of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals: A Review of Approved Molecules and Best Practice Recommendations. *Toxicol Pathol*. 2010; 38(4): 522-553.

Wilcock DM, Colton CA. Immunotherapy, vascular pathology, and microhemorrhages in transgenic mice. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2009 Mar; 8(1): 50-64.

Carcinogenicity Assessment for Donanemab. *Eli Lilly and Company 社内報*. 20[redacted];1-20.

Reproductive Safety Assessment for Donanemab. *Eli Lilly and Company 社内報*.20[redacted];1-22.

ケサンラ点滴静注液 350 mg

2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.7. Toxicology Tabulated Summary 1
2.6.7.1. Toxicology: Overview 1
2.6.7.2. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 3
2.6.7.3. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 4
2.6.7.4. Toxicology: Drug Substance 5
2.6.7.5. Single-Dose Toxicity 6
2.6.7.6. Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies 6
2.6.7.7. Repeat-Dose Toxicity 7
2.6.7.8. Genotoxicity: In Vitro 13
2.6.7.9. Genotoxicity: In Vivo 13
2.6.7.10. Carcinogenicity 13
2.6.7.11. Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies 13
2.6.7.12. Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development 13
2.6.7.13. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development 13
2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development 13
2.6.7.15. Studies in Juvenile Animals 13
2.6.7.16. Local Tolerance 13
2.6.7.17. Other Toxicity Studies 14

2.6.7. Toxicology Tabulated Summary

Note: In the tabulated summaries and individual study reports,

- donanemab may also be referred to as LY3002813, and
- mE8c (the murine surrogate antibody) may also be referred to as LSN3026818.

2.6.7.1. Toxicology: Overview

Table 2.6.7.1–1. Overview of Toxicology Studies

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Test Article: Doses (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Document ID	Section #
Single-Dose Toxicity								
Not applicable								
Repeat-Dose Toxicity								
Toxicity and toxicokinetics	Monkey, cynomolgus	IV	6 weeks + 3-month recovery	Donanemab: 0, 1, 10, 100	Yes	[redacted] USA	8242713	4.2.3.2.4
Toxicity and exposure	Mouse, PDAPP	SC	6 weeks	mE8c: 0, 10, 30, 100	Yes	[redacted] Canada	504299	4.2.3.2.3
Toxicity and exposure	Mouse, PDAPP	SC	6 months[a]	mE8c: 0, 30, 100	Yes	[redacted] Canada	504531	4.2.3.2.1
Pharmacology and toxicity	Mouse, PDAPP	SC	6 months	IgG2A control: 12.5 mE8c: 1.5, 4, 12.5	No	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA and [redacted] USA	8222743	4.2.3.2.2
Genotoxicity								
Not applicable								
Carcinogenicity								
Not applicable								

(continued)

Table 2.6.7.1–1. Overview of Toxicology Studies (Concluded)

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Test Article: Doses	GLP	Testing Facility	Document ID	Section #
Reproductive and Developmental Toxicity								
Not applicable								
Local Tolerance								
Not applicable								
Dependence								
Not applicable								
Other Toxicity Studies								
Tissue cross-reactivity	Monkey (cynomolgus) and human tissues	Ex vivo	Not applicable	Donanemab: 5, 25 µg/mL	Yes	[redacted] USA	20008867	4.2.3.7.7.1
Cerebral micro-hemorrhage and neuropathology	Mouse, PDAPP	IP	3 months	IgG2a[b]: 12.5 mg/kg 3D6[c]: 12.5 mg/kg mE8: 12.5 mg/kg mE8c: 12.5 mg/kg	No	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	MB135	4.2.3.7.7.2

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practices; IP = intraperitoneal injection; IV = intravenous injection; M = male; SC = subcutaneous injection, # = number.

[a] Due to age-related attrition of PDAPP mice, this study was terminated after 5 months of treatment in males and 4.6 months of treatment in females to ensure at least 5 mice/sex/group were available for terminal evaluations.

[b] Negative antibody control.

[c] Positive antibody control.

2.6.7.2. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Table 2.6.7.2–1. Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species	Route	Test Article	Doses (mg/kg)	GLP	Document ID
Repeat dose, 6 weeks + 3-month recovery	Monkey, cynomolgus	IV	Donanemab	1, 10, 100	Yes	8242713
Repeat dose, 6 weeks	Mouse, PDAPP	SC	mE8c	10, 30, 100	Yes	504299
Repeat dose, 6 months	Mouse, PDAPP	SC	mE8c	30, 100	Yes	504531

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

2.6.7.3. Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

Table 2.6.7.3–1. Overview of Toxicokinetics Data for Donanemab

Daily Dose (mg/kg)	Steady State C_{max} (µg/mL) and AUC (µg•hr/mL)			
	Monkey[a]			
	C_{max}		AUC	
	M	F	M	F
1	26.5	24.7	1950	1620
10	255	264	20900	17600
100	2650	2540	139000	146000

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve, C_{max} = maximal observed plasma concentration, F = female, M = male.

[a] Mean C_{max} and $AUC_{0\text{-}166hr}$ on Day 36 (8242713).

2.6.7.4. Toxicology: Drug Substance

Table 2.6.7.4–1. Drug Substance (Pivotal Studies)

Lot Number	Purity (%)	Specified Impurities (%)				Document ID	Type of Study
		Total Aggregates (SEC) (%)	Total Impurities ([redacted] CE-SDS) (%)	Total Fragments ([redacted]) (%)	Total Impurities ([redacted] CE-SDS) (%)		
Estimated NDP Specification:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	8242713	Repeat dose, 6 week, monkey
						20008867	Tissue cross-reactivity

Abbreviations: CE-SDS = capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate; NDP = new drug product; SEC = size exclusion chromatography.

2.6.7.5. Single-Dose Toxicity

Not applicable.

2.6.7.6. Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies

Table 2.6.7.6–1. Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies

Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	#Sex /Group	Noteworthy Findings	Document ID
Mouse, PDAPP	SC	6 months	IgG2A control: 12.5 mE8c: 1.5, 4, 12.5	30 F/group[a]	No mE8c-related mortality[b] or changes in hematology, clinical chemistry, organ weight, macroscopic or microscopic endpoints occurred, including an expanded neuropathology assessment. NOEL = 12.5 mg/kg See Table 2.6.5.4-1 for exposure data.	8222743

Abbreviations: # = number; F = female; NOEL = no-observed- effect level; SC = subcutaneous injection.

[a] 15 females/group were evaluated for toxicity endpoints.

[b] 6 to 7 mice were found dead in each treatment group, including the IgG2a control, during the course of the study. The number of mice that died is consistent with the expected incidence of spontaneous mortality for the age of PDAPP mice used in this study, and therefore was not considered compound-related.

2.6.7.7. Repeat-Dose Toxicity

Table 2.6.7.7–1. 6-Week Study in Monkeys with a 3-Month Recovery Phase

Report title: A Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys Given LY3002813 by Intravenous Injection Once Weekly for 6 Weeks with a 3-Month Recovery Phase						
Species/strain: Monkey / cynomolgus	Duration of dosing: 6 weeks			Document ID: 8242713		
Initial age: 2-4 years	Duration of reversibility: 3 months			GLP compliance: Yes		
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]	Route: IV			Test Article: Donanemab		
NOEL: 100 mg/kg	Vehicle: 10 mM sodium citrate, 150 mM sodium chloride, and 0.02% (w/v) polysorbate 80 prepared in Sterile Water for Injection, USP (pH 6.0 ± 0.2)					
Special features:						
Mean Toxicokinetics ± SD						
Sample: Serum	Analyte: Donanemab			Number of animals: 3/sex/group/time point		
Feeding condition: Fed	Dose frequency: Weekly			Assay / Method: Exposure: ELISA / 8237417 Donanemab-reactive antibodies: ELISA / 8237419		
Dose (mg/kg):	1		10		100[a]	
Sex	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_0 (µg/mL)	17.5 ± 2.85	16.0 ± 3.03	213 ± 20.2	195 ± 24.7	2460 ± 521	3010 ± 652
C_{max} (µg/mL)	17.1 ± 2.66	15.7 ± 2.85	202 ± 17.2	184 ± 21.1	2270 ± 431	2710 ±538
$AUC_{0\text{-}166hr}$ (µg•hr/mL)	1060 ± 107	1060 ± 95.1	11000 ± 646	10200 ± 1240	87100 ± 7990	94600 ± 15200
Day 36						
C_0 (µg/mL)	27.7 ± 5.91	25.8 ± 3.72	252 ± 16.5	278 ± 23.7	2800 ± 936	2680 ± 414
C_{max} (µg/mL)	26.5 ± 5.40	24.7 ± 3.77	255 ± 13.9	264 ± 20.8	2650 ± 798	2540 ± 365
$AUC_{0\text{-}166hr}$ (µg•hr/mL)	1950 ± 536	1620 ± 621	20900 ± 835	17600 ± 2660	139000 ± 21400	146000 ± 20300

(continued)

Table 2.6.7.7–1.　6-Week Study in Monkeys with a 3-Month Recovery Phase (Concluded)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		10		100	
Sex: Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 6	F: 6
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical signs	–	–	–	–	–	–	–	–
Immunogenicity[b]	0	1	0	1	1	0	3	1
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–
Body weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Food consumption	–	–	–	–	–	–	–	–
Neurological Examinations	–	–	–	–	–	–	–	–
Respiratory Examinations	–	–	–	–	–	–	–	–
Body Temperature	–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiogram	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–	–	–
Coagulation	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical chemistry	–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–
Gross pathology	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology	–	–	–	–	–	–	–	–

Abbreviations: – = no important findings; AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_0 = concentration extrapolated to time 0 hour; C_{max} = maximum serum concentration; F = female; M = male; NOEL = no-observed-effect level; SD = standard deviation.

[a] 6 animals/sex/group/time point.

[b] Number of animals with positive anti-drug antibody (ADA) titers.

Table 2.6.7.7–2. 6-Week Study in PDAPP Mice

Report title: A Repeat-Dose Toxicity and Exposure Study in PDAPP Mice Given LSN3026818, mE8 Derivitive c (mE8c, Murine Analog of LY3002813) by Subcutaneous Injection Once Weekly for 6 Weeks

Species/strain: Mouse, PDAPP
Duration of dosing: 6 weeks (once weekly)
Document ID: 504299
Initial age: Approximately 12 to 15 months old
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]
Route: Subcutaneous injection
Test Article: mE8c (LSN3026818)
NOEL: 100 mg/kg/dose
Vehicle: Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.4
Special features:

Concentrations (µg/mL) ± SD

Sample: Serum
Analyte: mE8c (LSN3026818)
Number of animals: 4/sex/group/time point
Feeding condition: Fed
Dose frequency: Weekly
Assay/Method: ELISA / 8243113

Dose (mg/kg):	10		30		100	
Sex	M	F	M	F	M	F
Day 1 48hr	0.454 ± 0.516	NS	1.80 ± 1.25	NS	25.7 ± 29.8	NS
Day 25 terminal	NS	NS	17.5[a] ± NE	NS	NS	NS
Day 36 48hr	1.86 ± 1.09	3.90[a] ± NE	8.52[b] ± NE	9.01[a] ± NE	272[c] ± 165	NS
Day 43 terminal	2.64[d] ± 1.48	2.55[e] ± 2.05	7.75[e] ± 4.36	9.00[f] ± 6.41	62.8[d] ± 63.7	53.9[g] ± 62.5

(continued)

Table 2.6.7.7–2.　6-Week Study in PDAPP Mice (Concluded)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		100	
Sex:Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:9	M:9	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	1[h]	3[h]	2[h]	3[h]	2[h]	–	2[h]	–
Clinical signs[i]	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–
Body weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Food consumption	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical chemistry	–	–	–	–	–	–	–	–
Gross pathology	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology[j]	–	–	–	–	–	–	–	–

Abbreviations:– = no important findings, F = female, M = male, NE = not evaluated, NOEL = no-observed-effect level, NS = no sample, SD = standard deviation.

[a] 1 animal.

[b] 2 animals.

[c] 3 animals.

[d] 7 animals.

[e] 5 animals.

[f] 9 animals.

[g] 10 animals.

[h] Deaths were considered age-related and not an mE8c-related effect. The cause of death or clinical signs leading to preterminal euthanasia was determined to be malignant neoplasia of the hemolymphatic tissue. Additional early deaths occurred among animals designated for exposure assessment in the control group (2/4 males, 1/2 females), 30-mg/kg group (2/8 males), and 100-mg/kg group (1/1 females); cause of death was not investigated for these animals.

[i] No mE8c-related clinical observations were noted. Prior to death, animals were observed with various combination of the following clinical signs: abdominal distension, thinness, prominent backbone, cold to the touch, decreased activity level, weakness, decreased in muscle tone, skin pallor, dehydration, partly closed/sunken eyes, and labored breathing (increased rate, shallow breathing). These changes were considered age-related and not an mE8c-related effect.

[j] No mE8c-related histopathology findings were noted. Histopathological examination revealed the death or clinical signs to be malignant neoplasia of the hemolymphatic tissue. Metastasis was noted in all cases, most commonly in the liver, spleen, bone marrow, and/or lymph nodes. These changes were considered age-related and not an mE8c-related effect.

Table 2.6.7.7–3. 6-Month Study in PDAPP Mice

Report title: A Repeat-dose Toxicity and Exposure Study in PDAPP Mice Given LSN3026818, mE8 Derivative c (mE8c, Murine Analog of LY3002813) by Subcutaneous Injection Once Weekly for 6 Months

Species/strain: Mouse, PDAPP
Duration of dosing: 6 months[a] (once weekly)
Document ID: 504531
Initial age: Approximately 12 to 15 months old
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]
Route: Subcutaneous injection
Test Article: LSN3026818
NOAEL: 100 mg/kg/dose
Vehicle: Phosphate Buffered Saline (PBS) pH 7.4
Special features:

Concentrations (µg/mL)

Sample: Plasma
Analyte: mE8c (LSN3026818)
Number of animals: 2/sex/group/time point
Feeding condition: Fed
Dose frequency: Weekly
Assay/Method: ELISA / 8243113

Dose (mg/kg):	30		100	
Sex	M	F	M	F
Day 92	NS	62.0[b] ± NE	NS	NS
Day 151	258[c] ± 84.4	NS	677± NE	NS
Day 152	145[d] ± 76.4	NS	251± NE	NS

(continued)

Table 2.6.7.7–3. 6-Month Study in PDAPP Mice (Concluded)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		30		100	
Sex:Number of Animals	M:20	F:20	M:19	F:19	M:19	F:19
Noteworthy Findings						
Died or euthanized moribund	15[e]	12[e]	7[e]	11[e]	10[e]	15[e]
Clinical signs	–	–	–	–	–	–
Body weight	–	–	–	–	–	–
Food consumption	–	–	–	–	–	–
Hematology[f]	–	–	–	–	–	–
Clinical chemistry[f]	–	–	–	–	–	–
Gross pathology	–	–	–	–	–	–
Organ weight	–	–	–	–	–	–
Histopathology[g]	–	–	–	–	–	–

Abbreviations: – = no important findings; F = female; M = male; NE = not evaluated; NOEL = no-observed-effect level; NS = no sample.

[a] Due to age-related attrition of PDAPP mice, this study was terminated after 5 months of treatment in males and 4.6 months of treatment in females to ensure at least 5 mice/sex/group were available for terminal evaluations.

[b] 1 animal.

[c] 5 animals.

[d] 4 animals.

[e] Deaths were considered age-related and not an mE8c-related effect. Age-related malignant lymphoma was the most common cause of death and reason for preterminal euthanasia. Other recognized causes of death and preterminal euthanasia included conditions seen commonly or occasionally in the aged mouse.

[f] No mE8c-related clinical pathology changes were noted. All changes observed in hematology and clinical biochemistry were attributed to the neoplastic proliferation of lymphoid cells present in multiple organs.

[g] No mE8c-related histopathology findings were noted. Histopathological examination revealed the most common cause of death or preterminal euthanasia to be malignant lymphoma. Other recognized causes of death and preterminal euthanasia included conditions seen commonly or occasionally in the aged mouse.

2.6.7.8. Genotoxicity: In Vitro

Not applicable.

2.6.7.9. Genotoxicity: In Vivo

Not applicable.

2.6.7.10. Carcinogenicity

Not applicable.

2.6.7.11. Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies

Not applicable.

2.6.7.12. Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development

Not applicable.

2.6.7.13. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development

Not applicable.

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development

Not applicable.

2.6.7.15. Studies in Juvenile Animals

Not applicable.

2.6.7.16. Local Tolerance

Not applicable.

2.6.7.17. Other Toxicity Studies

Table 2.6.7.17–1. Other Toxicity Studies

Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Test Article: Doses	Sex #/Group	Noteworthy Findings	Document ID
Tissue Cross Reactivity						
Monkey (cynomolgus) and human tissues	Ex vivo	Not applicable	Donanemab: 5, 25 µg/mL	N/A	In both species: Donanemab specific cytoplasmic staining of lymphocytes was observed in gut-associated lymphoid tissue of various portions of the intestinal tract, including the colon, small intestine and stomach, and of lymphocytes in the lymph nodes, spleen and tonsil. In the human tissues, staining was primarily in the follicles, indicating B-lymphocyte involvement, whereas in the monkey the staining encompassed B- and T-lymphocyte regions. Monkey: Donanemab specific staining unique to the cynomolgus monkey tissues was of myelin in the peripheral nerve, of nuclei in a variety of tissues, and of various cell types in the thyroid fallopian tubes, and pituitary. Human: No donanemab specific staining unique to any human tissue.	20008867
Cerebral Micro-Hemorrhage and Neuropathology						
Mouse, PDAPP	IP	3 months	IgG2a[a]: 12.5 mg/kg 3D6[b]: 12.5 mg/kg mE8: 12.5 mg/kg mE8c: 12.5 mg/kg	IgG2a: 16M/24F 3D6: 15M/25F mE8: 15M/27F mE8c: 15M/23F	Treatment with either mE8 (anti-Aβp3-x, IgG1) or mE8c (anti-Aβp3-x, IgG2a) did not exacerbate microhemorrhage at a dose that significantly lowered deposited Aβ in these animals. These results show that the N3pG antibodies do not exacerbate CAA-related microhemorrhage in aged PDAP mice. See Table 2.6.5.4-2 for exposure data.	MB135

Abbreviations: IP = intraperitoneal injection; F = female; M = male.

[a] Negative antibody control.

[b] Positive antibody control.