目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 6
2.6.6.4 遺伝毒性試験 11
2.6.6.5 がん原性試験 12
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 12
2.6.6.7 局所刺激性試験 13
2.6.6.8 その他の毒性試験 15
2.6.6.9 考察及び結論 20
2.6.6.10 図表 21
2.6.6.11 参考文献 22
2.6.7 毒性試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
ADA	anti-drug antibody（抗薬物抗体）
ALT	alanine aminotransferase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
AST	aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
AUC_{t1-t2}	area under the serum concentration-time curve from t_1 and t_2（t_1時間からt_2時間までの血清中濃度－時間曲線下面積）
CBER	Center for Biologics Evaluation and Research（生物製品評価研究センター）
C_{max}	maximum serum concentration（最高血清中濃度）
ECG	electrocardiogram（心電図）
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid（エチレンジアミン四酢酸）
EGFR	epidermal growth factor receptor（上皮増殖因子受容体）
EMA	European Medicines Agency（欧州医薬品庁）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
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（医薬品規制調和国際会議）
Ig	immunoglobulin（免疫グロブリン）
IL	interleukin（インターロイキン）
mAb	monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
MET	mesenchymal-epithelial transition factor（間葉上皮移行因子）
NOAEL	no-observed-adverse-effect level（無毒性量）
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development（経済協力開発機構）
rHuPH20	recombinant human hyaluronidase PH20（遺伝子組換えヒトヒアルロニダーゼPH20）
SA	Superagonist（スーパーアゴニスト）
WoE	weight of evidence（証拠の重み付け）
w/v	weight/volume

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

2.6.6.1.1 毒性試験プログラムに関する情報

アミバンタマブ（別名，JNJ-61186372，CNTO 4424）は，低フコシル化したヒト免疫グロブリン（Ig）G_1 二重特異性モノクローナル抗体（mAb）であり，一方の抗原結合部位で上皮増殖因子受容体（EGFR）と結合し，もう一方の抗原結合部位で肝細胞増殖因子受容体（間葉上皮移行因子：MET）と結合する。

ヒト及びカニクイザルにおいて，アミバンタマブの EGFR 及び MET に対する結合能は同程度（カニクイザルの 50%有効濃度はそれぞれヒトの 1.5 及び 1.1 倍）であり，EGFR 及び MET の *in vitro* リン酸化の阻害能も認められた（カニクイザルの 50%阻害濃度はそれぞれヒトの約 10 及び 1.5 倍）【2.6.2.2.12 参照】。一方，げっ歯類の EGFR 及び MET に対するアミバンタマブの結合能は低く，表面プラズモン共鳴法においてアミバンタマブはマウス及びラットの EGFR 及び MET にほとんど結合しないことが確認された【2.6.2.2.12 参照】。これらのことから，一連の非臨床薬物動態及び毒性試験に用いる動物種としてカニクイザルを選択した。

カニクイザルを用いた 1 カ月間反復投与忍容性試験，並びに 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では，アミバンタマブを週 1 回，静脈内投与（臨床投与経路）したときの毒性プロファイルを検討した。これらの試験では，一般毒性評価に加えて，安全性薬理評価及び免疫原性評価を組み込んだ。また，皮下投与での開発を検討していることから，アミバンタマブを単独又は遺伝子組換えヒトヒアルロニダーゼ PH20（rHuPH20）との併用でカニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与して局所忍容性を評価した。さらに，*in vitro* 試験として，カニクイザル及びヒトの正常組織パネルを用いた組織交差反応性試験，ヒト血液を用いたサイトカイン放出試験，血液適合性試験及び溶血性試験を実施した。なお，アミバンタマブは進行がんの治療を目的としたバイオテクノロジー応用医薬品であるため，遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。生殖発生毒性試験は実施せずに，証拠の重み付け（weight of evidence: WoE）に基づいて評価した。試験戦略の概要を【2.4.1.2】に示す。

アミバンタマブの毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（ICH）の「医薬品の生殖発生毒性試験ガイドライン」［S5（R3）ガイドライン］，「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」［S6（R1）ガイドライン］，「安全性薬理試験ガイドライン」（S7A ガイドライン）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（S9 ガイドライン）に従って実施した。全ての毒性試験は，適切な科学的原則に従って実施した。主要な毒性試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）（21 CRF Part 58）及び経済協力開発機構（OECD）加盟国における OECD の GLP 原則に準拠して実施した。

1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験及び 6 週間反復静脈内投与毒性試験では，10 mmol/L ヒスチジン，8.5%［weight/volume（w/v）］精製白糖，0.04%（w/v）ポリソルベート 80 溶液（pH 5.7）として投与し，3 カ月間反復静脈内投与毒性試験及び皮下投与による局所刺激性試験では 10 mmol/L ヒスチジン，8.5%（w/v）精製白糖，1 mg/mL L-メチオニン，0.06%（w/v）ポリソルベート 80，20 µg/mL エチレンジアミン四酢酸（EDTA）溶液（pH 5.7）として投与した。

毒性試験の概要を表 2.6.6-1 に示す。試験の GLP 適用の有無及び試験施設に関する情報を含めた毒性試験の一覧表を【2.6.7.1】に，トキシコキネティクス試験の一覧表を【2.6.7.2】に，トキシコキネティクス試験成績の一覧表を【2.6.7.3】に，毒性試験に使用した被験物質の概要を【2.6.7.4】に示す。

表 2.6.6-1 アミバンタマブの毒性試験の一覧表

Type of Study	Species and Strain	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)[a]	GLP Status	Study No./ Location in CTD
1-Month repeat-dose tolerability	Cynomolgus monkey (3 M/group)	IV (slow bolus), once weekly	4 weeks (4 doses)	0, 3, 30, 100	non-GLP	T-20[redacted]-005/ 4.2.3.2.1
6-Week repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey (5/sex/group) Main study: 3/sex/group, Recovery study: 2/sex/group	IV (slow bolus), once weekly	5 weeks (5 doses) with 6-week recovery	0, 20, 60, 120	GLP	T-20[redacted]-011/ 4.2.3.2.2
3-Month repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey (4/sex/group)	IV (slow bolus), once weekly	13 weeks (13 doses)	0, 60, 120	GLP	TOX14008/ 4.2.3.2.3
Local tolerance	Cynomolgus monkey (4 M/group)	SC, once weekly	2 weeks (2 doses)	0 + rHuPH20 125 ± rHuPH20	GLP	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.6.1
Tissue cross reactivity	Normal human and cynomolgus monkey tissues (cryosections)	*In vitro*	Not Applicable	5, 25 µg/mL	non-GLP	T-20[redacted]-006/ 4.2.3.7.7.1
Tissue cross reactivity	Normal human tissues (cryosections)	*In vitro*	Not Applicable	5, 25 µg/mL	GLP	T-20[redacted]-010/ 4.2.3.7.7.2
Cytokine release assay	Cultured human whole blood	*In vitro*	48 hours	148.3 µg/mL (immobilized on protein A coated polystyrene beads)	non-GLP	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.3
Serum compatibility	Cultured human serum	*In vitro*	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	non-GLP	T-20[redacted]-025/ 4.2.3.7.7.4
Hemolytic potential	Cultured human whole blood	*In vitro*	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	non-GLP	T-20[redacted]-026/ 4.2.3.7.7.5

a: Unless otherwise specified

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; No. = number; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous

2.6.6.1.2 試験結果の要約

雄カニクイザルを用いた 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）では，アミバンタマブを 0，3，30 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回，4 週間静脈内投与したときの忍容性は良好であった。剖検では 30 mg/kg/週以上の群で軽微な皮膚病変（各群 3 例中 1 例）がみられ，100 mg/kg/週群では好中球性炎症を伴っていた。病理組織学的検査では，全群で投与部位の出血，3 及び 100 mg/kg/週群で血管周囲の混合細胞浸潤が認められた。血液生化学的検査では，100 mg/kg/週群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の軽度な増加がみられたが，肝臓に関連する病理組織学的所見は認められなかった。以上の結果に基づき，本試験における無毒性量（NOAEL）は 100 mg/kg/週と判断された。この用量における Day 15 から Day 22 までの血清中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{Day15-22}$）は 11,989 µg·day/mL，Day 15 投与時の最高血清中濃度（C_{max}）は 3,084 µg/mL であった。

雌雄カニクイザルを用いた 6 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）では，アミバンタマブを 0，20，60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回，計 5 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。血

液生化学的検査では一過性かつ用量依存性のない軽微な ALT 増加，並びに 20 及び 120 mg/kg/週群で用量依存性のない軽微な AST 増加がみられたが，肝臓に関連する病理組織学的所見は認められなかった。その他の変化として，120 mg/kg/週群で一過性かつ軽度な好中球数及び白血球数の増加，並びに好酸球数及びリンパ球数の減少，全投薬群でアルブミンの減少，60 mg/kg/週以上の群でアルブミン:グロブリン比及びカルシウムの減少が認められた。20，60 及び 120 mg/kg/週群の雄で副腎重量の減少がみられたが，副腎に関連する病理組織学的変化は認められなかった。各投薬群の雌 1 例に有害ではないアルブミンの減少がみられたことを除き，これらの変化は，6 週間の休薬後により回復性が認められた。以上の結果に基づき，本試験における NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day29-36}$ は 20,503 µg·day/mL，Day 29 投与時の C_{max} は 5,040 µg/mL であった。

雌雄カニクイザルを用いた 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）では，アミバンタマブを 0，60 及び 120 mg/kg/週の用量で週 1 回，計 13 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。先に実施した 1 カ月間反復投与忍容性試験及び 6 週間反復投与毒性試験とは対照的に，肝酵素の増加は認められなかった。60 mg/kg/週以上の群で腎臓に間質性混合細胞浸潤を伴う尿細管再生がみられたが，これは損傷の修復を示唆する変化であった。60 mg/kg/週以上の群で肝臓に有害ではない軽微から軽度のクッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着がみられたが，これらの変化はアミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスに関連している可能性が考えられた。60 mg/kg/週以上の群でみられたアルブミン減少及びグロブリン増加は軽微であり，軽度の急性期反応と一致していた。これらの変化は先に実施した試験においてもみられており，可逆的であることが示されている。以上の結果に基づき，本試験における NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量の $AUC_{Day85-92}$ は 21,936 µg·day/mL，Day 85 投与時の C_{max} は 5,232 µg/mL であった。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において，120 mg/kg までの用量を週 1 回，最長 3 カ月間（計 13 回）静脈内投与したところ，アミバンタマブの局所忍容性は良好であった。さらに，皮下投与による局所刺激性試験では，アミバンタマブを 125 mg/kg の用量で単独，又は rHuPH20 の 2,000 U/mL との併用で，カニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与したところ，投与部位の忍容性は良好であった。

In vitro 組織交差反応性試験（非 GLP：サル及びヒト，GLP：ヒト）では，カニクイザル及びヒトで複数組織の上皮及び末梢神経鞘細胞，並びにヒト胎盤脱落膜細胞にアミバンタマブによる膜染色が認められた。

In vitro のヒト血液を用いたサイトカイン放出試験では，アミバンタマブのサイトカイン放出プロファイルは陰性対照と同様であり，サイトカイン放出症候群のリスクは低いことが示唆された。

血液適合性及び溶血性試験では，25 mg/mL までの濃度でアミバンタマブはヒト血液及び血清と適合性を示した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

急性毒性を評価するために，アミバンタマブの単回投与毒性試験は実施せず，反復静脈内投与毒性試験の初回投与後の結果を用いて評価した。急性毒性試験は致死性の毒性を引き起こす用量の潜在的な有害作用を評価することを目的とするものであり，本質的に毒性が低く，ヒト以外の霊長類でのみ試験を実施することができる mAb の評価には適さないと考えられる。

アミバンタマブを週 1 回静脈内投与したカニクイザルの反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3 参照）では，最高用量の 120 mg/kg まで急性毒性を示す一般状態所見は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

アミバンタマブの反復投与毒性は，カニクイザルを用いた 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験，6 週間反復静脈内投与毒性試験及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験によって評価した。一般毒性評価に加えて，安全性薬理試験の評価項目を組み込んで，心血管系［心電図（ECG），血圧及び心拍数］，呼吸系（呼吸数及び一般状態）及び中枢神経系（体温及び一般状態）に及ぼす影響を評価した。

2.6.6.3.1 カニクイザル 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験

【参考資料 4.2.3.2.1】

【試験方法】

雄カニクイザル（1 群各 3 例，2.6～3.7 歳）にアミバンタマブを 0（生理食塩液），3，30 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回，計 4 回（Day 1，8，15 及び 22）静脈内投与し，最終投与翌日に全例を剖検した【2.6.7.6 参照】。評価項目は，死亡/瀕死状態，一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体検査（投与前 1 回及び試験期間中週 1 回），ECG，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とし，潜在的毒性を評価した。トキシコキネティクス及びアミバンタマブに対する抗薬物抗体（ADA）を検討するために血液検体を採取した。

【トキシコキネティクス】

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 22 まで）持続的な曝露が認められた。アミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）はいずれも用量比例を上回って増加し，3 回目（Day 15）投与時の曝露量は初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積が認められた（表 2.6.6-2）が，定常状態には到達しなかった。アミバンタマブを投与した 9 例中 2 例（30 及び 100 mg/kg 群の各 1 例）が ADA 陽性であったが，これらの動物の血清中アミバンタマブ濃度推移は同群の ADA 陰性動物と同様であった。ADA は毒性データの解釈に影響を及ぼさなかった。

表 2.6.6-2 雄カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回計 4 回反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 15		
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{Day1-8} (µg·day/mL)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{Day15-22}$ (µg·day/mL)	R_{AUC}
3	3M	53.44 (2.57)	115.92 (10.61)	69.87 (3.82)	183.29 (14.98)	1.58 (0.09)
30	3M	572.66 (65.70)	1,686.65 (145.72)	874.90 (132.59)	3,075.51 (246.09)	1.83 (0.21)
100	3M	2,250.33 (330.89)	6,801.63 (747.18)	3,083.79 (391.14)	11,988.96 (1746.51)	1.77 (0.23)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 0.04% (w/v) polysorbate 80, pH 5.7

M = male; N = number of animals; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

【結果】

アミバンタマブを 100 mg/kg/週までの用量で週 1 回，計 4 回投与したときの忍容性は良好であった。全例が計画剖検時まで生存した。一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，6 誘導 ECG，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液凝固検査，尿検査及び器官重量では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査では，溶媒対照群と比較して，100 mg/kg/週群で Day 2 及び 23 に ALT の軽度増加（3.06 及び 2.28 倍），Day 23 に AST の軽度増加（2.46 倍）がみられたのみであった。肝臓に関連する病理組織学的所見がみられなかったことから，これらは毒性学的に意義のない変化であると考えられた。

剖検及び病理組織学的検査では軽微な皮膚所見が数例の動物に認められた。これらは顔面の皮膚病変であり，剖検では暗赤色病巣が 30 及び 100 mg/kg/週群の各 3 例中 1 例，痂疲が 100 mg/kg/週群の 3 例中 1 例に認められた。病理組織学的検査では，100 mg/kg/週群で皮膚に潰瘍及び好中球性炎症が認められた。全群で投与部位の伏在静脈に軽微から中等度の急性出血，3 及び 100 mg/kg/週群で血管周囲の混合細胞浸潤がみられ，用量依存性の変化ではなかったが，対照群と比較してアミバンタマブ投与群で増加した。

【結論】

アミバンタマブを 3，30 及び 100 mg/kg の用量で雄カニクイザルに週 1 回，計 4 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。本試験では，100 mg/kg/週群で病理組織学的変化を伴わない肝酵素の軽度増加及び数例に軽微な顔面の皮膚病変がみられたのみであった。これらの結果に基づき，NOAEL は 100 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day15\text{-}22}$ は 11,989 μg·day/mL，Day 15 投与時の C_{max} は 3,084 μg/mL であった。

2.6.6.3.2 カニクイザル 6 週間反復静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

【評価資料 4.2.3.2.2】

【試験方法】

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 5 例，2.6～4.0 歳）にアミバンタマブを 0（生理食塩液），20，60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回，計 5 回（Day 1，8，15，22 及び 29）静脈内投与した。投与終了後 6 週間の休薬期間（1 群雌雄各 2 例）を設定し，回復性を検討した【2.6.7.7A 参照】。先に実施した 1 カ月間反復投与忍容性試験では高用量の 100 mg/kg/週で重篤な毒性がみられなかったことから，本試験の高用量として 120 mg/kg/週を選択した。主試験群の動物は Day 36（最終投与 7 日後）に，回復群の動物は Day 78 に剖検した。評価項目は，死亡/瀕死状態，一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査及び倒像検眼鏡検査），ECG，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス及びアミバンタマブに対する ADA を検討するために血液検体を採取した。

【トキシコキネティクス】

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 36 まで）持続的な曝露が認められた。Day 1 及び 29 投与時のアミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，いずれもおおむね用量比例性を示した（表 2.6.6-3）。Day 29 投与時の曝露量は，初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積がみられた。アミバンタマブの曝露量に明らかな性差は認められなかった。

休薬期間を通して，ほとんどの動物で血清中アミバンタマブ濃度が定量可能であった（20 mg/kg 群では Day 71 まで，その他の投与群では Day 78 まで）。

アミバンタマブを投与した 30 例中 6 例が ADA 陽性であった。ADA 陽性動物のうち 3 例では，同じ投与群の ADA 陰性動物と比較して，最終回投与後（20 mg/kg/週群の 1 例）又は回復期間中（20 及び 120 mg/kg/週群の各 1 例）の血清中アミバンタマブの消失は速やかであった。ADA は毒性データの解釈に影響を及ぼさなかった。

表 2.6.6-3 雌雄カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回計 5 回反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N[b]	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 29		
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{Day29-36}$ (μg·day/mL)	R_{AUC}
20	5M/5F	548.41 (92.76)	1,552.82 (275.40)	813.47 (157.71)	2,905.45 (912.61)	1.91 (0.63)
60	5M/5F	1,598.61 (313.17)	5,095.43 (1,483.31)	2,582.96 (484.47)	10,386.14 (2,396.98)	2.07 (0.23)
120	5M/5F	2,812.85 (637.07)	9,629.47 (2,063.19)	5,040.23 (1,441.22)	20,502.96 (6,806.08)	2.11 (0.43)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 0.04% (w/v) polysorbate 80, pH 5.7
b: 5/sex/group (3/sex/main study group and 2/sex/recovery group).

F = female; M = male; N = number of animals; NR= not reported; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

【結果】

投与期間中，アミバンタマブの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体的検査，眼科学的検査，6 誘導 ECG，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液凝固検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では，溶媒対照群と比較し，アミバンタマブ投与群に用量依存的ではない変化が認められた。120 mg/kg/週群では Day 2 に雌雄で好中球（2.63 及び 1.75 倍）及び白血球の軽度な増加（1.48 倍），並びに好酸球の減少（0.1 及び 0.86 倍）がみられ，雌でリンパ球の減少（0.55 倍）がみられたが，Day 30 までに対照群と同程度となった。好中球の増加，並びにリンパ球及び好酸球の減少は 120 mg/kg/週群でみられたことから，アミバンタマブとの関連性は否定できなかったが，生理的ストレスによる変化と類似していた。

血液生化学的検査では，溶媒対照群と比較し，アミバンタマブ投与群に用量依存的ではない変化が認められた。全投薬群で Day 2 に ALT の一過性で軽微な増加（1.71～3.21 倍）がみられ，20 及び 120 mg/kg/週の雌で Day 2（2.79 及び 1.42 倍），並びに全投薬群の雌で Day 30（1.87～2.10 倍）に AST の軽微な増加が認められた。肝臓に病理組織学的変化がみられなかったことから，ALT 及び AST の増加は毒性学的に意義のない変化であると考えられた。その他の変化として，

全投薬群で Day 30 にアルブミンの減少（0.81～0.90 倍），60 mg/kg/週以上の群で Day 2（1.21～1.25 倍）及び Day 30（1.27～1.39 倍）にグロブリンの増加がみられ，これに伴ってアルブミン:グロブリン比の減少（Day 2：0.74～0.81 倍，Day 30：0.65～0.70 倍）も認められた。60 mg/kg/週以上の群で Day 30 にカルシウム減少（0.93～0.98 倍）がみられたが，循環血中のカルシウムの大部分はアルブミンと結合していることから，カルシウム減少はアルブミン減少と関連した変化と考えられた。これらの変化は，各投薬群の雌 1 例でアルブミンの毒性学的に意義のない減少（0.86～0.91 倍）がみられたことを除き，6 週間の休薬期間終了時までに回復性が認められた。

器官重量の測定では，投与期間終了時に 20，60 及び 120 mg/kg/週群の雄で副腎重量の用量依存的ではない減少（0.77～0.85 倍）がみられたが，この変化は 6 週間の休薬期間終了時には認められなかった。副腎に病理組織学的変化は認められなかった。

【結論】

アミバンタマブを 20，60 又は 120 mg/kg の用量で雌雄カニクイザルに週 1 回，計 5 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。肝酵素の軽微で用量依存的ではない増加（20 mg/kg/週以上の群で ALT，20 及び 120 mg/kg/週群で AST）がみられたが，肝臓に病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性学的に意義のない変化であると考えられた。その他に一過性で軽度な変化として，120 mg/kg/週で好中球数及び白血球数の増加，並びに好酸球数及びリンパ球数の減少，20 mg/kg/週以上の群でアルブミンの減少，60 mg/kg/週以上の群でグロブリンの増加，アルブミン:グロブリン比及びカルシウムの減少が認められた。20 mg/kg/週以上の群の雄で副腎重量の減少がみられたが，病理組織学的変化は認められなかった。6 週間の休薬期間終了時までに，雌で毒性学的に意義のないアルブミン減少がみられたことを除き，全ての変化に回復性が認められた。これらの結果に基づき，NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day29-36}$ は 20,503 μg·day/mL，Day 29 投与時の C_{max} は 5,040 μg/mL であった。

2.6.6.3.3 カニクイザル 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.3】

【試験方法】

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 4 例，2.3～3.2 歳）にアミバンタマブを 0（5%ブドウ糖），60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回，計 13 回（Day 1，8，15，22，29，36，43，50，57，64，71，78 及び 85）静脈内投与した。Day 92（最終投与 7 日後）に全例を剖検した【2.6.7.7B 参照】。評価項目は，死亡/瀕死状態，一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査及び倒像検眼鏡検査），ECG，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス及びアミバンタマブに対する ADA を検討するために血液検体を採取した。

【トキシコキネティクス】

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 92 まで）血清中アミバンタマブ濃度が定量可能であった。Day 1 及び Day 85 投与時のアミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，いずれもおおむね用量に比例した（表 2.6.6-4）。血清中アミバンタマブ濃度は Day 57 までに定常状態に達し，13 回目（Day 85）投与時の曝露量には，初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積が認められた。アミバンタマブの曝露量に明らかな性差は認められなかった。アミバンタマブを投与した全 16 例ともに ADA は陰性であった。

表 2.6.6-4 雌雄カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回計 13 回反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 85		
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{Day1-8} (µg·day/mL)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{Day85-92}$ (µg·day/mL)	R_{AUC}
60	4M/4F	1,469.01 (153.85)	4,836.37 (463.87)	2,609.87 (334.21)	11,337.66 (1,655.99)	2.35 (0.26)
120	4M/4F	2,701.46 (507.55)	9,429.83 (1,012.92)	5,232.33 (722.34)	21,935.86 (4,540.49)	2.33 (0.41)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) polysorbate 80, 20 µg/mL EDTA, pH 5.7
Note: AUC_{t1-t2} interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 or Days 85 and 92 instead of Days 0 and 7 or 84 and 91 respectively as in the study report.

F = female; M = male; N = number of animals; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

【結果】

投与期間中，アミバンタマブの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，7 誘導 ECG，血圧，心拍数，呼吸数，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，尿検査，剖検及び器官重量では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

アミバンタマブ投与に関連する明らかな一般状態の変化は認められなかった。120 mg/kg/週群の雌 4 例に液状便がみられ，アミバンタマブとの関連性が考えられた。このうちの雌 2 例では，液状便が投与開始前（投与開始 8 日前）にみられ，Day 9～90 まで継続し，この期間中に獣医師による治療が行われた。残りの雌 2 例では群飼育時の Day 39，45 及び 56 に軽度の液状便がみられ，そのうち 1 例では Day 64 及び 65 の投与後にも中等度の液状便が認められた。その他に関連した一般状態及び体重の変化はみられず，雌 2 例では試験開始前にもみられたことから，液状便は毒性学的に意義のない変化であると判断された。

血液生化学的検査では，アミバンタマブ投与に関連した変化として，全投薬群の全測定時点でアルブミンの軽微な減少（雄：0.89～0.94 倍，雌：0.90～0.81 倍）及びグロブリンの軽微な増加（雄：1.07～1.15 倍，雌：1.06～1.23 倍）が認められたのみであった。これらの変化に雄では用量依存性はみられず，雌では用量依存性がみられた。これらの変化は軽度の急性期反応と一致していた。1 カ月間反復投与忍容性試験及び 6 週間反復投与毒性試験では毒性学的に意義のない ALT 及び AST の増加がみられたが，本試験では肝酵素の増加は認められなかった。

病理組織学的検査では，60 mg/kg 以上の群で腎臓及び肝臓にアミバンタマブ投与に関連した所見が認められた（表 2.6.6-5）。腎臓では 60 及び 120 mg/kg/週群で軽微な尿細管再生がみられたが，両群間の発現頻度及び重篤度は同等であった。120 mg/kg/週群の雄 2 例では尿細管再生とと

もに軽微な間質性混合細胞浸潤が認められた。尿細管の変化は損傷の修復を示唆するものであった。肝臓では 60 及び 120 mg/kg/週群で軽微から軽度のクッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着がみられたが，両群間の発現頻度及び重篤度は同等であった。この所見は，アミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスと関連していると考えられた[1)]。

表 2.6.6-5 カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回計 13 回反復静脈内投与後の腎臓及び肝臓の病理組織学的所見

Dose (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**60**		**120**	
No. of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Kidney						
Regeneration, tubular						
Minimal	0	0	2	4	2	2
Infiltration, mixed cell, interstitial						
Minimal	0	0	0	0	2	0
Liver						
Pigment, Kupffer cell, sinusoid with Kupffer cell hypertrophy						
Minimal	0	0	2	3	1	3
Mild	0	0	1	1	2	1

F = female; IV = intravenous; M = male; No. = number

病理組織学的検査ではその他に，60 mg/kg/週以上の群で胃に所見がみられたが，アミバンタマブとの関連性は明らかではなかった。60 及び 120 mg/kg/週群の各群雌雄 1 例では胃に軽微な粘膜/腺上皮の変性/再生がみられた。この所見は，壊死した上皮細胞の脱落及び/又は混合性好中球浸潤を伴う拡張した腺胃病巣の散見を特徴とし，60 mg/kg/週群の雌 1 例では軽微な限局性粘膜びらん，60 mg/kg/週群の雄では修復反応を示す限局性上皮の好塩基化/再生が認められた。いずれの所見も急性出血と関連していた。胃の所見は，重篤度が低く，本質的に急性の変化であり，分布は限局性から多巣性にわたり，全投薬群で同程度以上の曝露量を示した動物の 75%には認められなかった。認められた胃の所見はカニクイザルで自然発生的にみられることが報告されており[2)，3)，4)]，偶発的な所見である可能性が高いと考えられた。

【結論】

アミバンタマブを 60 及び 120 mg/kg の用量で雌雄カニクイザルに週 1 回，3 カ月間静脈内投与（計 13 回投与）したときの忍容性は良好であった。軽微から軽度の血液生化学的変化，並びに腎臓（損傷の修復）及び肝臓（アミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスに関連）の病理組織学的所見に基づき，NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day\ 85\text{-}92}$ は 21,936 μg·day/mL，Day 85 投与時の C_{max} は 5,232 μg/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

アミバンタマブ（約 148,000 ダルトン）は抗体医薬品であり，分子量が大きいために核膜を通過せず，DNA や他の染色体成分と相互作用するとは考えにくいことから，アミバンタマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」［ICH S2

（R1）ガイダンス］で規定されている一連の標準的な遺伝毒性試験は，主に低分子医薬品の遺伝子突然変異，染色体異常及びDNA損傷を検出するためにデザインされており，ICH S6（R1）ガイドラインでは，通常実施されてきた遺伝毒性試験は，バイオテクノロジー応用医薬品に対しては適切なものではないとされている。

2.6.6.5 がん原性試験

アミバンタマブは進行がん患者への使用を目的とした抗体医薬品であり，適切な動物種がヒト以外の霊長類（カニクイザル）に限られていることから，アミバンタマブのがん原性試験は実施しなかった。ICH S9ガイドラインでは，がん原性試験は進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請には必要とされないことが示されている。さらに，ICH S6（R1）ガイドラインでは，げっ歯類との交差反応性がな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に不適当であるとされている。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

アミバンタマブは進行がん患者への使用を目的としたバイオ医薬品であり，適切な動物種がヒト以外の霊長類（カニクイザル）に限られていることから，ICH S5（R3），S6（R1）及びS9ガイドライン，並びに米国食品医薬品局（FDA）「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って生殖発生毒性試験はWoEに基づいて評価した。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

アミバンタマブの受胎能試験は実施していないが，受胎能に及ぼす影響は，ICH S6（R1）及びS9ガイドライン，並びにFDA「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って，反復投与毒性試験の結果に基づいて評価した。アミバンタマブを120 mg/kgまでの用量で週1回，最長3カ月間反復静脈内投与したところ，生殖器官に対する有害な影響は認められなかった（2.6.6.3参照）。さらに，雄性生殖器への免疫グロブリンの到達は限られていることが報告されており，雄性生殖器に影響を及ぼさないと考えられる[5)，6)，7)，8)]。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

アミバンタマブの胚・胎児発生毒性試験は実施しなかったが，ICH S5（R3）及びS6（R1）ガイドライン，並びにFDA「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って，WoEに基づいて胚・胎児発生毒性のリスクを評価した[9)]。

ノックアウトマウスの公表論文[10)，11)，12)，13)，14)，15)，16)，17)，18)，19)，20)，21)]及び類薬の生殖発生毒性試験結果（表2.6.6-6）によるWoE[9)]に基づくと，EGFR及びMET経路の阻害により，胎盤，肺，皮膚，心臓及び神経系などの発生及び発達が損なわれ，胚・胎児発生，出生後の発達及び生存に対して有害な影響を及ぼす可能性が考えられる。

EGFR 及び MET/HGF 阻害に関する生殖発生毒性試験データを表 2.6.6-6 に示す。ラット及びヒト以外の霊長類を用いて実施した生殖発生毒性試験では，EGFR 又は MET シグナル伝達阻害によって胚致死又は流産が起こることが示されている。一般に，妊娠期間中に胎児への曝露が増加するときの発生段階に一致した妊娠及び胎児への影響がみられた。一方，EGFR シグナル伝達を阻害する mAb の [redacted] では，胚・胎児発生に関する所見が認められなかったが，これは器官形成期において十分な胎児曝露を達成することに限界があることによるものと考えられた。

以上のとおり，WoE 評価に基づき，アミバンタマブなどの EGFR 又は MET 阻害薬の投与が母体及び胎児に重大な影響を及ぼす可能性が考えられる。

表 2.6.6-6 EGFR 及び MET/HGF 阻害に関する生殖発生毒性試験データの要約

Compound	Type/Target	Developmental Toxicity/Noteworthy findings
[redacted][22), 23)]	SM EGFR	Rat-EFD, FEED: Increased post-implantation loss, decrease in the number of live fetuses, lower uterine and fetal weights.
[redacted][24)]	LM EGFR	Cynomolgus monkey EFD study (dosed GD20-50): No findings.
Onartuzumab (MetMAb)[25)]	LM MET/HGF	Cynomolgus monkey ePPND study (dosed GD20-174): Decreased gestation length and birth weight, increased fetal and perinatal mortality, placental infarcts, developmental delays.

EFD = embryo-fetal development; EGFR = epidermal growth factor receptor; FEED = fertility and early embryonic development; ePPND = enhanced pre- and postnatal development; GD = gestation day; HGF = hepatocyte growth factor; LM = large molecule; SM = small molecule

2.6.6.6.3　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，ICH S9 及び FDA「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って実施しなかったが，WoE 評価[9)] を実施し，2.6.6.6.2 に前述したとおり，妊娠に関するリスクが示されている。

2.6.6.6.4　新生児を用いた試験

アミバンタマブは成人患者の治療を目的としているため，幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　静脈内投与による局所刺激性試験

アミバンタマブの静脈内投与による局所刺激性試験は実施しなかった。アミバンタマブの静脈内投与による局所忍容性は，カニクイザルを用いた週 1 回の静脈内投与による反復投与毒性試験において評価した。1 カ月間反復投与忍容性試験（2.6.6.3.1 参照）では，投与部位の病理組織学的検査において，全投薬群（3，30 及び 100 mg/kg/週）で出血，3 及び 100 mg/kg/群で血管周囲の混合細胞浸潤がみられた。しかしながら，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.3 参照）では 120 mg/kg/週までの用量をそれぞれ 5 及び 13 回静脈内投与したが，一般状態

観察及び病理組織学的検査において投与部位にアミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

2.6.6.7.2 カニクイザル皮下投与による局所刺激性試験

【評価資料 4.2.3.6.1】

【試験方法】

カニクイザルを用いた局所刺激性試験は，臨床使用時におけるアミバンタマブの皮下投与を支持するために実施した。雄カニクイザル（1 群 4 例，2.8～4.3 歳）に 0 及び 125 mg/kg のアミバンタマブと rHuPH20（2,000 U/mL）の併用，又は 125 mg/kg のアミバンタマブを単独で Day 1 及び 8 に皮下投与した。投与容量を 2.5 mL/kg とし，肩甲骨及び中背部に投与した。Day 12（最終投与 4 日後）に全例を剖検した【2.6.7.16 参照】。

【トキシコキネティクス】

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 12 まで）血清中アミバンタマブ濃度は定量可能であった。Day 1 及び Day 8 投与後の曝露量（C_{max} 及び AUC）は，いずれも rHuPH20 併用投与群の方がアミバンタマブ単独投与群と比較してわずかに高かった（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7 雄カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回計 2 回，単独又は rHuPH20 との併用で皮下投与した局所刺激性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ［平均値（標準偏差）］

Amivantamab Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 8	
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{Day8-12}$ (μg·day/mL)
125	4M	1,018.93 (123.67)	5,854.81 (616.50)	1,693.86 (195.93)	6,116.17 (698.62)
125 + rHuPH20 (2,000 U/mL)	4M	1,589.34 (286.79)	8,019.59 (1,065.53)	2,022.88 (264.57)	7,116.54 (1,166.10)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) polysorbate 80, 20 μg/mL EDTA, pH 5.7
Note: AUC_{t1-t2} interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 or Days 8 and 12 instead of Days 0 and 7 or 7 and 11 respectively as in the study report.

M = male

【結果】

アミバンタマブ単独又は rHuPH20 との併用で雄カニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与したときの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。アミバンタマブ投与に関連性のある一般状態の変化として，アミバンタマブ単独投与群及び rHuPH20 との併用投与群のいずれの群においても液状便が 1～2 回みられ，アミバンタマブ単独投与群で褐色の粘液物質がみられたのみであった。これらの一般状態の変化は，発現頻度が低く，持続期間が短かった（1～2 日）ことから有害な影響ではなく，毒性学的意義のない変化であると考えられた。体重，体重増加量，摂餌量，剖検及び病理組織学的検査では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

アミバンタマブ単独投与群及び rHuPH20 との併用投与群ともに皮膚の Draize スコアは 0（浮腫又は紅斑なし）であり，投与部位にアミバンタマブ投与に関連した影響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 免疫原性評価

カニクイザルにおけるアミバンタマブに対する ADA の産生は，1 カ月間反復投与忍容性試験（2.6.6.3.1 参照），6 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 参照）及び 3 カ月間投与毒性試験（2.6.6.3.3 参照）で評価した。その結果の詳細を【2.6.4.3.2】に示す。アミバンタマブを週 1 回静脈内投与したカニクイザルの 55 例中 8 例が ADA 陽性であった。その内訳は，1 カ月間投与忍容性試験で 9 例中 2 例（30 及び 100 mg/kg/週で各 1 例）及び 6 週間反復投与毒性試験で 30 例中 6 例（20，60 及び 120 mg/kg/週群でそれぞれ 3，2 及び 1 例）であった。3 カ月間反復投与毒性試験では，アミバンタマブを投与した 16 例全例で ADA は検出されなかった。しかし，これらの試験の ADA 陰性動物では，血清中アミバンタマブにより ADA 検出が干渉を受けた可能性は除外できない。動物とヒトの抗原性/免疫原性の関連性は十分に証明されておらず，動物で得られた免疫原性に関する結果はヒトでの免疫原性反応を予測するものではない[34)]。

2.6.6.8.2 免疫毒性評価

カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験では免疫毒性は認められなかった。カニクイザルを用いた 1 カ月間反復投与忍容性試験，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3 参照）では，リンパ組織（胸腺，下顎及び腸間膜リンパ節，扁桃，脾臓，腸管関連リンパ組織）にアミバンタマブ投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。血液学的検査でみられた唯一の変化は，6 週間反復投与毒性試験の 120 mg/kg/週群で Day 2 にみられた好中球数の軽度増加，並びにリンパ球数及び好酸球数の減少であった（2.6.6.3.2 参照）。これらの血液学的変化は高用量の 120 mg/kg/週でのみ認められたことから，アミバンタマブとの関連性は否定できなかったが，生理的ストレスに関連した変化と類似していた。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

毒性発現の機序に関する試験は実施していない。

2.6.6.8.4 依存性試験

アミバンタマブの標的特異性，結合プロファイル，分子量（約 148,000 ダルトン）及び正常な状態では血液脳関門を通過できないことを考慮すると，乱用をもたらす可能性のある中枢神経系との直接的な作用は予測されない。したがって，依存性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

アミバンタマブは代謝されると低分子のペプチド及び各アミノ酸に分解されると考えられる。これらの代謝経路は一般によく分かっており，アミノ酸は本薬物とは関係のないタンパク質やペプチドに再利用される。したがって，ICH S6（R1）ガイドランに基づき代謝物の毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

不純物及び汚染物質を除去するための頑健な精製工程，並びに製品の厳密な生物学的特性解析を実施した。その結果，非臨床試験を必要とする不純物は，アミバンタマブ製剤では確認されなかったことから，アミバンタマブの不純物に関する毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.7 その他の毒性試験

2.6.6.8.7.1 組織交差反応性試験

アミバンタマブがオフターゲット組織と交差反応する可能性を評価するために，*in vitro* 組織交差反応性試験を 2 試験（非 GLP 及び GLP）実施した。カニクイザル及びヒトの組織パネルは，欧州医薬品審査庁（EMA）「Guideline on development, production, characterisation and specifications for monoclonal antibodies and related products」の Annex 及び FDA/Center for Biologics Evaluation and Research（CBER）「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」に基づいて選択した。

(1) カニクイザル及びヒトの組織パネルを用いた組織交差反応性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.1】

正常カニクイザル及びヒト組織（ドナー1 例/組織）の凍結切片を 5 及び 25 μg/mL のアミバンタマブと反応させて評価した【2.6.7.17 参照】。EMA 及び FDA/CBER のガイダンスで推奨されているサルパネル用の全組織及びヒトパネル用の特定の組織（1 ドナー/組織）を用いて評価した。その結果を表 2.6.6-8 に示す。アミバンタマブによる膜染色は上皮で認められた。末梢神経及び/又は腸筋神経叢の神経周囲鞘細胞にも限定的な膜染色が認められた。この膜染色は EGFR 及び MET の予想される発現と一致している［2.6.6.8.7.1(2)参照］。また，アミバンタマブは上皮，平滑筋細胞，胃腸組織の間質細胞，網膜，クッパー細胞，肺胞マクロファージ，単核白血球及び細網細胞の細胞質及び/又は細胞質顆粒と交差反応性を示した。カニクイザル及びヒトの組織に対するアミバンタマブの結合プロファイルはおおむね同様であった。ヒト及びカニクイザルでみられた組織交差反応性の軽微な差異は，切片間又は個体間の差によるものであった。

表 2.6.6-8 アミバンタマブのカニクイザル及びヒトの組織交差反応性プロファイル

	Species	
Cellular Staining Location	**Monkey (full tissue panel)**	**Human (limited tissue panel)**
Membrane and cytoplasm and/or cytoplasmic granules	**Epithelium**: urinary bladder (mucosa), eye (cornea, conjunctiva), esophagus (mucosa, basal cells), placenta (trophoblasts), salivary gland (ducts), skin (epidermis, hair follicles, sebaceous glands), cervix; including perineural sheath cells in peripheral nerves (peripheral nerve, prostate, salivary gland, spinal cord [nerve roots], spleen, cervix)	**Epithelium**: urinary bladder (mucosa), eye (cornea, conjunctiva, ciliary body), esophagus (mucosa), liver (hepatocytes), lung (bronchioles, pneumocytes), prostate, salivary gland (ducts), skin (epidermis, hair follicles, sweat glands), ureter (mucosa), uterus-cervix (mucosa); including perineural sheath cells in peripheral nerves (urinary bladder, esophagus, stomach, heart, lymph node, prostate, salivary gland, spleen, cervix) and in myenteric plexus (small intestine)
Only cytoplasm and/or cytoplasmic granules	**Epithelium:** adrenal (cortex), breast (glands, ducts), colon (mucosa), eye (lens), small intestine (mucosa), kidney (tubules), liver (hepatocytes, bile ducts), lung bronchioles, pneumocytes), ovary (surface), pancreas (ducts), prostate (glands/ducts, urethra), salivary gland (acini), thyroid, ureter (mucosa) **Smooth myocytes**: colon, small intestine, stomach **Stromal cells**: fallopian tube (submucosa), pituitary, endometrium **Retina:** eye **Kupffer cells:** liver **Alveolar macrophages:** lung **Mesothelium:** lung **Granulosa cells:** ovary **Decidual cells:** placenta **Myoepithelium:** skin (sweat glands) **Neural processes:** spinal cord **Mononuclear leukocytes:** spleen, tonsil **Myofibroblasts:** testis (seminiferous tubules)	**Epithelium**: colon (mucosa), small intestine (mucosa), stomach (mucosa), kidney (tubules, parietal), salivary gland (acini), and in cervix (glands) **Axons and/or Schwann cells**, **peripheral nerves**: urinary bladder, esophagus **Smooth myocytes**: colon, small intestine, stomach, ureter, cervix **Stromal cells**: colon, esophagus, heart **Retina:** eye **Kupffer cells:** liver **Alveolar macrophages:** lung **Mononuclear leukocytes:** lymph node, spleen **Reticular cells:** lymph node

Note: Amivantamab concentrations of 5 and 25 µg/mL were evaluated; 1 donor/tissue.

(2) ヒトの組織パネルを用いた組織交差反応性試験

【評価資料 4.2.3.7.7.2】

EMA 及び FDA/CBER ガイダンスで推奨されているヒトパネル用の全組織を用いて，正常ヒト組織（ドナー3 例/組織）の凍結切片を 5 及び 25 µg/mL のアミバンタマブと反応させて評価した【2.6.7.17 参照】。アミバンタマブによる膜染色は，先に実施した非 GLP の組織交差反応性試験（2.6.6.8.7.1(1)）と同様に複数組織の上皮及び神経周囲鞘細胞に限られた（表 2.6.6-9）。これらの上皮組織では EGFR 及び/又は MET が発現することが報告[26)，27)，28)，29)，30)，31)，32)，33)]されており，この試験で予想される標的組織であった。また，アミバンタマブによる限定的な膜染色は，EGFR 発現が報告されている胎盤脱落膜細胞[33)]にも認められた。アミバンタマブは，複数組織の細胞質，細胞質突起，細胞質顆粒及び/又は細胞質小球と交差反応性を示した。高分子は細胞内に拡散して細胞質や細胞質成分に到達することができないため，一般に，抗体の細胞質部位への結合に毒性学的意義はないと考えられている［ICH S6（R1）ガイドライン］。

表 2.6.6-9 アミバンタマブのヒトの組織交差反応性プロファイル

Cellular Staining Location	Cell Type	Tissues (full tissue panel)
Plasma membrane	Epithelium	Urinary bladder, breast, eye (cornea, conjunctiva, ciliary body), esophagus (mucosa, submucosal glands), kidney (tubules, parietal), liver (hepatocytes, bile ducts), lung (pneumocytes, bronchioles), pancreas (ducts), pituitary (Rathke's), placenta (trophoblasts), prostate, salivary gland (ducts), skin (epidermis, hair follicles, sweat glands, sebaceous glands), thymus (reticular), tonsil (squamous), ureter (mucosa), and uterus-cervix (mucosa, external ostium)
	Neural elements	Perineural sheath cells in the urinary bladder, eye (ocular nerves), Fallopian tube, esophagus, small intestine (myenteric plexus and peripheral nerve), heart, liver, lymph node, pancreas, peripheral nerve, prostate, salivary gland, skin, spinal cord (nerve roots), skeletal muscle, testis, thyroid, tonsil, ureter, and uterus-cervix
	Other cells	Placental decidual cells
Cytoplasm, cytoplasmic processes, cytoplasmic granules, and /or cytoplasmic globules	Epithelium	Adrenal (cortex), urinary bladder (mucosa), breast, colon (mucosa), eye (cornea, conjunctiva, ciliary body), esophagus (mucosa, submucosal glands), small intestine (mucosa), stomach (mucosa), kidney (tubules, parietal), liver (hepatocytes, bile ducts), lung (pneumocytes, bronchioles), ovary (surface), pancreas (ducts), pituitary (endocrine cells, Rathke's), placenta (trophoblasts), prostate, salivary gland (acini, ducts), skin (epidermis, hair follicles, sweat glands, sebaceous glands), spinal cord (central canal), thymus (reticular), tonsil (squamous), ureter (mucosa), uterus-endometrium, and uterus-cervix (mucosa, external ostium)
	Neural elements	Perineural sheath cells and axons in most peripheral nerves, nerve ganglia and myenteric plexus of the gastrointestinal tract, granular layer cells in the cerebellum, glial cells in the pituitary, neuropil in the brain and spinal cord, the retina in the eye, and folliculostellate cells and neuroendocrine cells in the pituitary
	Spindle (stromal) cells	Widespread staining of spindle cells in stromal, interstitial, capsular, and connective tissues
	Lymphoid	Mononuclear leukocytes (ie, lymphocytes) in lymphoid tissues and perivascular, interstitial, and/or migrating lymphocytes in lymph node, salivary gland, and spleen
	Macrophages	Kupffer cells in the liver, alveolar macrophages in the lung
	Other cells	Meningeal cells in the brain, spinal cord, and pituitary; decidual cells in the placenta, interstitial cells in the testis, reticular cells in the lymph node, mesothelium in the testis, and smooth myocytes (intrinsic and vascular) in the peripheral nerve

Note: Amivantamab concentrations of 5 and 25 µg/mL were evaluated; 3 donors/tissue.

2.6.6.8.7.2 サイトカイン放出試験

【参考資料 4.2.3.7.7.3】

プロテイン A コーティングしたポリスチレンビーズにアミバンタマブを固相化（約 148.3 µg/mL）し，16 例のドナーから採取した希釈ヒト全血と 48 時間インキュベートして，サイトカイン放出［IL-1β，IL-2，IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，IL-12p70，IL-17，IL-18，IFN-γ，TNF-α（単量体及び三量体）］を刺激する可能性について評価した【2.6.7.17 参照】。データは，分散分析，階層的クラスター分析及び予測モデリングを用いて評価した。陽性対照として抗 CD28 スーパーアゴニスト（SA）を，陰性対照として自己血漿を用いた。

アミバンタマブは，陰性対照の自己血漿と同様に統計学的に有意なサイトカインの増加を引き起こさなかった。階層的クラスター分析及び予測モデルアルゴリズムから，アミバンタマブの反応性は，サイトカイン放出症候群のリスクが低い陰性対照（リン酸緩衝生理食塩液及び自己血漿）と同様であることが示された。陽性対照である抗 CD28 SA では，11 種類のサイトカインのうち，8 種類のサイトカイン［IL-2，IL-4，IL-6，IL-10，IL-12p70，IL-17，IFN-γ，TNF-α（単量体及び三量体）］が有意に増加した。

これらの結果は，抗 CD28 mAb と比較して，ヒトにおいてアミバンタマブがサイトカイン放出症候群を引き起こすリスクは低いと考えられることを示している。

2.6.6.8.7.3 血液適合性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.4】

アミバンタマブ（0.025～25 mg/mL）又は対照を希釈ヒト血清と 37°C で 40 分間インキュベートし，アミバンタマブの血清適合性を評価した【2.6.7.17 参照】。陽性対照は血清タンパク質を凝固及び沈殿させる酸を含み，陰性対照はアミバンタマブを含まない希釈血液を用いた。

溶液の濁度測定（吸光度により測定）では，アミバンタマブによる血清の沈殿は認められなかった。これらの結果に基づき，アミバンタマブは検討した濃度範囲でヒト血清と適合すると判断された。

2.6.6.8.7.4 溶血性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.5】

アミバンタマブ（0.025～25 mg/mL）又は対照を希釈ヒト血液と 37°C で 40 分間インキュベートし，アミバンタマブの溶血性を評価した【2.6.7.17 参照】。陽性対照は溶解赤血球から放出されたヘモグロビン，陰性対照はアミバンタマブを含まない希釈した血液を用いた。インキュベーション後，遠心分離により細胞を除去し，上清中の遊離ヘモグロビンの吸光度を測定した。

アミバンタマブでは毒性学的に意義のあるヒト血液の溶血は認められなかった。これらの結果に基づき，アミバンタマブは検討した濃度範囲でヒト血液と適合すると判断された。

2.6.6.9 考察及び結論

アミバンタマブの毒性は，薬理学的に適切な動物種であるカニクイザル【2.6.2.2.12 参照】を用いて，ICH S5（R3），S6（R1），S7A 及び S9 ガイドラインに従って包括的に評価した。最長 3 カ月間の反復静脈内投与毒性試験では安全性薬理評価項目を組み入れた。アミバンタマブは進行がんの治療を目的とした mAb であるため，遺伝毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。*In vitro* 試験では，カニクイザル及びヒトの組織交差反応性，ヒト血液中のサイトカイン放出の可能性，並びにヒト血清及び血液との適合性を評価した。

アミバンタマブを 120 mg/kg/週までの用量で週 1 回，最長 3 カ月間反復静脈内投与（13 回投与）したときの忍容性は良好であり，毒性学的に意義のある変化は認められなかった。以下はいずれも有害な影響ではないと判断された。

- 1 カ月間反復投与忍容性試験では軽微な顔面皮膚病変が 30 及び 100 mg/kg/週群で数例に認められたが，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では最高用量の 120 mg/kg/週まで認められなかった。
- 1 カ月間反復投与忍容性試験の 100 mg/kg/週群及び 6 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/週以上の群で ALT 及び AST の軽微又は軽度な増加がみられたが，肝臓に関連する病理組織学的変化がみられなかったことから，毒性学的に意義のない変化であると考えられた。3 カ月間反復投与毒性試験では，最高用量の 120 mg/kg/週まで肝酵素の増加は認められなかった。
- 6 週間反復投与毒性試験では，Day 2 で好中球数増加による白血球数増加，並びに好酸球数及びリンパ球数の減少が認められた。これらの変化は生理的ストレスに関連する変化と類似していたが，高用量の 120 mg/kg/週でのみ認められたことからアミバンタマブ投与との関連性は否定できなかった。しかし，いずれも一過性で軽度な変化であり，投与終了時には認められなかった。
- 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験ではアルブミンの減少及びグロブリンの増加がみられたが軽微な変化であった。
- 6 週間反復投与毒性試験では 20 mg/kg/週以上の群の雄で副腎重量の減少がみられたが，副腎に関連する病理組織学的変化は認められず，副腎重量の減少は休薬により回復性が認められた。1 カ月間反復投与忍容性試験では最高用量の 100 mg/kg/週まで，3 カ間反復投与毒性試験では最高用量の 120 mg/kg/週まで，副腎重量に変化は認められなかった。
- 3 カ月間反復投与毒性試験では，120 mg/kg/週以上の群で腎臓（間質性混合細胞浸潤を伴う尿細管再生）に，60 mg/kg/週以上の群で肝臓（クッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着）に軽微から軽度の病理組織学的変化がみられた。腎臓の所見は損傷の修復を示唆する変化であり，肝臓の所見はアミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスに関連している可能性が高いと考えられた。

カニクイザルを用いた 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験の NOAEL は最高用量の 120 mg/kg/週であり，この用量における血清中曝露量は，本剤の用法及び用量*を日本人被験者に静脈内投与したときの最も高い曝露量（2 サイクル目の 1 日目に本剤を投与後の曝露量，【2.7.2-付録-3 参照】）よりも高かった（表 2.6.6-10）。

表 2.6.6-10 アミバンタマブのカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（GLP）における NOAEL での曝露量に対する安全域（動物/ヒト比）

Species	NOAEL (mg/kg/week)	C_{max} (µg/mL)	AUC (µg·day/mL)	Safety Margin	
				C_{max}	AUC
Human exposure [a] Japanese, Chemotherapy Combination Cohort Cycle 2 Day 1		956	4,685		
Monkey exposure[b]					
6-week study	120	5,040	20,503	5.3	4.4
3-month study	120	5,232	21,936	5.5	4.7

a: Human exposure values (Japanese) on Day 1 in Cycle 2 in the Phase 1 clinical trial (61186372EDI1001) is presented. $AUC_{0\text{-}168h}$ (112,439 µg·h/mL) was converted to µg·day/mL as the unit by dividing the value by 24 hours.
b: Monkey exposure values at the end of treatment: 6-week study - C_{max} on Day 29 and $AUC_{Day29\text{-}36}$ (T-20[redacted]-011); 3-month study - C_{max} on Day 85 and $AUC_{Day85\text{-}92}$ (interval with last dose defined as Day 85 instead of Day 84 as in the study report) (TOX14008)
BW = body weight; GLP = Good Laboratory Practice; NOAEL = no observed adverse effect level

生殖発生毒性に関する WoE 評価に基づくと，EGFR 及び MET シグナル阻害によって，胎盤，肺，皮膚，心臓及び神経系などの発生及び発達が損なわれ，胚・胎児の発生，出生後の発達及び生存に有害な影響を及ぼす可能性があることが示された。さらに，ヒト以外の霊長類を用いて実施した発生毒性試験では，EGFR 又は MET シグナル伝達阻害によって胚致死又は流産が引き起こされることが示されている。

アミバンタマブは，最高 120 mg/kg/週までの用量を最長 3 カ月間（計 13 回）静脈内投与した反復投与毒性試験及び 125 mg/kg（投与容量 2.5 mL/kg）を 2 週間（計 2 回）皮下投与した局所刺激性試験において，良好な局所忍容性を示した。

In vitro 試験では，アミバンタマブはヒトの血液及び血清と適合性があり，サイトカイン放出症候群のリスクが低いことが示された。サル及びヒトの組織交差反応性試験では，EGFR 及び MET の予想される発現と一致し，アミバンタマブによる膜染色が複数組織の上皮及び神経鞘細胞，並びにヒト胎盤脱落膜細胞に認められた。

2.6.6.10　図表

図表を本文中に記載した。追加情報を Module 2.6.7 に示す。

* 本剤の用法及び用量：1サイクルの期間を3週間とし，体重80 kg未満の場合は1サイクル目の1日目に350 mg，2日目に1050 mg，8日目，15日目，2サイクル目の1日目に1400 mg，3サイクル目以降は1日目に1750 mgを，体重80 kg以上の場合は1サイクル目の1日目に350 mg，2日目に1400 mg，8日目，15日目，2サイクル目の1日目に1750 mg，3サイクル目以降は1日目に2100 mgを，カルボプラチン及びペメトレキセドと併用して点滴静注した。

2.6.6.11 参考文献

1) Rojko JL, et al. Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: review and case studies. Toxicol Pathol. 2014;42:725-64.

2) Drevon-Gaillot E, et al. A review of background findings in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) from three different geographical origins. Exp Toxicol Pathol. 2006;58:77-88.

3) Chamanza R. Non-human primates: cynomolgus (*Macaca fascicularis*) and rhesus (*Macaca mulatta*) macaques and the common marmoset (*Callithrix jacchus*). In: McInnes EF, Mann F, editors. Background Lesions in Laboratory Animals: A Color Atlas. Saunders Ltd.; 2012. p.1-15.

4) Sato J, et al. Histopathology of incidental findings in cynomolgus monkeys (*macaca fascicularis*) used in toxicity studies. Toxicol Pathol. 2012;25:63-101.

5) Pöllänen PP, et al. Microvascular permeability to IgG in the rat testis at puberty. Int J Androl. 1989;12:206-18.

6) Pöllänen P, et al. Vascular permeability to effectors of the immune system in the male rat reproductive tract at puberty. J Reprod Immunol. 1995;28:85-109.

7) Kaur G, et al. Sertoli cells--immunological sentinels of spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol. 2014;30:36-44.

8) Johnson MH, et al. Protein and immunoglobulin content of rete testis fluid of rams. J Reprod Fertil. 1968;17:403-6.

9) [redacted]20[redacted]

10) Sibilia M, et al. Strain-dependent epithelial defects in mice lacking the EGF receptor. Science. 1995;269:234-8.

11) Sibilia M, et al. A strain-independent postnatal neurodegeneration in mice lacking the EGF receptor. EMBO J. 1998;17:719-31.

12) Miettinen PJ, et al. Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. Nature. 1995;376:337-41.

13) Miettinen PJ, et al. Epidermal growth factor receptor function is necessary for normal craniofacial development and palate closure. Nat Genet. 1999;22:69-73.

14) Threadgill DW, et al. Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype. Science. 1995;269:230-4.

15) Gassmann M, et al. Aberrant neural and cardiac development in mice lacking the ErbB4 neuregulin receptor. Nature. 1995;378:390-4.

16) Lee KF, et al. Requirement for neuregulin receptor erbB2 in neural and cardiac development. Nature. 1995;378:394-8.

17) Riethmacher D, et al. Severe neuropathies in mice with targeted mutations in the ErbB3 receptor. Nature. 1997;389:725-30.

18) Bladt F, et al. Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. Nature. 1995;376:768-71.

19) Uehara Y, et al. Placental defect and embryonic lethality in mice lacking hepatocyte growth factor/scatter factor. Nature. 1995;373:702-5.

20) Schmidt C, et al. Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. Nature. 1995;373:699-702.

21) Maina F, et al. Uncoupling of Grb2 from the Met receptor in vivo reveals complex roles in muscle development. Cell. 1996;87:531-42.

22) [redacted]20[redacted]

23) [redacted]20[redacted]

24) [redacted]20[redacted]

25) Prell RA, et al. Placental and Fetal Effects of Onartuzumab, a Met/HGF Signaling Antagonist, When Administered to Pregnant Cynomolgus Monkeys. Toxicol Sci. 2018;165:186-97.

26) Kajikawa K, et al. Expression of epidermal growth factor in human tissues. Immunohistochemical and biochemical analysis. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1991;418:27-32.

27) Fukuyama R, et al. Expression of epidermal growth factor (EGF) and the EGF receptor in human tissues. J Exp Zool. 1991;258:336-43.

28) Di Renzo MF, et al. Expression of the Met/HGF receptor in normal and neoplastic human tissues. Oncogene. 1991;6:1997-2003.

29) Uhlén M, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. Science. 2015;347:1260419.

30) Vega JA, et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFr) immunoreactivity in human cutaneous nerves and sensory corpuscles. Anat Rec. 1994;240:125-30.

31) Ariza A, et al. Immunohistochemical detection of epithelial membrane antigen in normal perineurial cells and perineurioma. Am J Surg Pathol. 1988;12:678-83.

32) Wu J, et al. EGFR-Stat3 signalling in nerve glial cells modifies neurofibroma initiation. Oncogene. 2017;36:1669-77.

33） Zhang L, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in human endometrium, decidua and trophoblast cells. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1999;34:357-9.

34） Bugelski P, et al. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. Curr Opin Mol Ther. 2004;6:10-6.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Amivantamab

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)[c]	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Single-Dose Toxicity	No study conducted								
Repeat-Dose Toxicity									
1-Month tolerability	Cynomolgus monkey (3 M/group)	IV (slow bolus), once weekly (formulation buffer[a])	4 weeks (4 doses)	0, 3, 30, 100 (Days 1, 8, 15, & 22)	[redacted]	Yes	No	[redacted], USA	T-20[redacted]-005/ 4.2.3.2.1
6-Week repeat-dose toxicity with a 6-week recovery period	Cynomolgus monkey (5/sex/group: 3/sex/main study group + 2/sex/recovery group)	IV (slow bolus), once weekly (formulation buffer[a])	5 weeks (5 doses)	0, 20, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, & 29)	[redacted]	Yes	Yes	[redacted], USA	T-20[redacted]-011/ 4.2.3.2.2
3-Month repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey (4/sex/group)	IV (slow bolus), once weekly (formulation buffer[b])	13 weeks (13 doses)	0, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, & 85)	[redacted]	Yes	Yes	[redacted], USA	TOX14008/ 4.2.3.2.3
Genotoxicity	No study conducted								
Carcinogenicity	No study conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity	No study conducted								
Local Tolerance									
2-Week local tolerance	Cynomolgus monkey (4 M/group)	SC, once weekly (formulation buffer[b])	2 weeks (2 doses)	0 + rHuPH20 125 ± rHuPH20 (Days 1 & 8)	[redacted]	Yes	Yes	[redacted], USA	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.6.1

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Amivantamab

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)[c]	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Tissue cross reactivity	Normal human tissue (limited panel) and cynomolgus monkey tissue (full panel), cryosections	In vitro (precomplexed with biotinylated DkαHuIgG[d])	NA	5 & 25 µg/mL	[redacted]	No	No	[redacted], USA	T-20[redacted]-006/ 4.2.3.7.7.1
Tissue cross reactivity	Normal human tissues (full panel), cryosections	In vitro (precomplexed with biotinylated DkαHuIgG[d])	NA	5 & 25 µg/mL	[redacted]	No	Yes	[redacted], USA	T-20[redacted]-010/ 4.2.3.7.7.2
Cytokine release assay	Cultured human whole blood	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	148.3 µg/mL (immobilized on Protein A coated polystyrene beads)	[redacted]	No	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.3
Serum compatibility	Cultured human serum	In vitro (diluent: formulation buffer)	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	[redacted]	No	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	T-20[redacted]-025/ 4.2.3.7.7.4
Hemolytic potential	Cultured human whole blood	In vitro (diluent: formulation buffer)	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	[redacted]	No	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	T-20[redacted]-026/ 4.2.3.7.7.5

[a] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, and 0.04% [w/v] Polysorbate 80 at pH 5.7. Control article was saline (0.9% sodium chloride for injection, USP).
[b] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% [w/v] Polysorbate 80, and 20 µg/mL EDTA at pH 5.7. Control article was 5% dextrose for the 3-month toxicity study and formulation buffer with rHuPH20 for the SC local tolerance study.
[c] Doses are reported in units of mg/kg/week unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity, the highest NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect Level) is underlined.
[d] Amivantamab was mixed with biotinylated F(ab')$_2$ donkey anti-human immunoglobulin G Fcγ fragment specific antibody followed by overnight incubation to allow attachment to the labelled secondary antibody.

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; No. = number; PBS = phosphate buffered saline; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics; w/v = weight/volume; USA = United States of America.

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: Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg/week)	GLP	Study No./ Location in CTD
1-Month tolerability	Cynomolgus monkey	IV (slow bolus), once weekly for 4 doses (formulation buffer[a])	0, 3, 30, 100 (Days 1, 8, 15, & 22)	No	T-20[redacted]-005/ 4.2.3.2.1
6-Week repeat-dose toxicity with a 6-week recovery period	Cynomolgus monkey	IV (slow bolus), once weekly for 5 doses (formulation buffer[a])	0, 20, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, & 25)	Yes	T-20[redacted]-011/ 4.2.3.2.2
3-Month repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	IV (slow bolus), once weekly for 13 doses (formulation buffer[b])	0, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, & 85)	Yes	TOX14008/ 4.2.3.2.3
2-Week local tolerance	Cynomolgus monkey	SC, once weekly for 2 doses (formulation buffer[b])	0 + rHuPH20 125 ± rHuPH20 (Days 1 & 8)	Yes	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.6.1

[a] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, and 0.04% (w/v) Polysorbate 80 at pH 5.7. Control article was saline (0.9% sodium chloride for injection, USP).
[b] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) Polysorbate 80, and 20 µg/mL EDTA at pH 5.7. Control article was 5% dextrose for the 3-month toxicity study and formulation buffer with rHuPH20 for the SC local tolerance study.

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; No. = number; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous; w/v = weight/volume.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

			Steady-State AUC (µg·day/mL) [a]			Test Article: Amivantamab
	Study Duration (Total Doses)		Cynomolgus Monkey			
			M	F	M+F	Study No./Location in CTD
IV Dose (mg/kg/week)						
3	1 month	(4)	183.29 (14.98)	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
20	6 weeks	(5)	2497.64 (973.12)	3313.27 (714.97)	2905.45 (912.61)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
30	1 month	(4)	3075.51 (246.09)	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
60	6 weeks	(5)	10721.90 (2179.26)	10050.38 (2810.06)	10386.14 (2396.98)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months	(13)	12189.03 (2045.81)	10486.29 (529.61)	11337.66 (1655.99)	TOX14008/4.2.3.2.3
100	1 month	(4)	**11988.96 (1746.51)**	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
120	6 weeks	(5)	19025.12 (5052.61)	21980.79 (8557.89)	**20502.96 (6806.08)**	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months	(13)	23249.78 (5804.62)	20621.95 (3131.57)	**21935.86 (4540.49)**	TOX14008/4.2.3.2.3
SC Dose (mg/kg/seek)						
125	2 weeks	(2)	6116.17 (698.62)	NA	NA	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1
125 + rHuPH20[b]	2 weeks	(2)	7116.54 (1166.10)	NA	NA	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1

Note: Bold font indicates exposure at the no-observed-adverse-effect level (NOAEL).

[a] Mean (SD) values are shown. $AUC_{Day15-22}$ for the 1-month, $AUC_{Day29-36}$ for the 6-week, and $AUC_{Day85-92}$ (interval with last doses identified as Day 85 instead of Day 84 as in the study report) for the 3-month repeat-dose toxicity studies. $AUC_{Day8-12}$ for the 2-week SC local tolerance study; AUC interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 instead of Days 0 and 7 as in the study report.

[b] The rHuPH20 concentration was 2000 U/mL.

AUC_{t1-t2} = area under the serum concentration versus time curve between two defined sampling time points, t1 and t2; IV = intravenous; NA = not applicable; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

(Continued)

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

Test Article: Amivantamab

IV Dose (mg/kg/week)	Study Duration (Total Doses)	C_{max} (µg/mL) at end of treatment [a] Cynomolgus Monkey M	F	M+F	Study No./Location in CTD
3	1 month (4)	69.87 (3.82)	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
20	6 weeks (5)	768.16 (132.28)	858.79 (182.56)	813.47 (157.71)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
30	1 month (4)	874.90 (132.59)	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
60	6 weeks (5)	2633.49 (464.06)	2532.42 (553.50)	2582.96 (484.47)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months (13)	2760.11 (430.75)	2459.64 (122.00)	2609.87 (334.21)	TOX14008/4.2.3.2.3
100	1 month (4)	**3083.79 (391.14)**	NA	NA	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
120	6 weeks (5)	4691.17 (1187.21)	5389.29 (1720.30)	**5040.23 (1441.22)**	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months (13)	5435.06 (1000.62)	5029.59 (326.57)	**5232.33 (722.34)**	TOX14008/4.2.3.2.3
SC Dose (mg/kg/week)					
125	2 weeks (2)	1693.86 (195.93)	NA	NA	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1
125 + rHuPH20 [b]	2 weeks (2)	2022.88 (264.57)	NA	NA	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1

Note: Bold font indicates exposure at the no-observed-adverse-effect level (NOAEL).

[a] Day 15 for the 1-month, Day 29 for the 6-week, and Day 85 for the 3-month repeat-dose IV toxicity studies. Day 8 for the SC local tolerance study. Mean (SD) values are shown.

[b] The rHuPH20 concentration was 2000 U/mL.

C_{max} = maximum observed serum concentration; IV = intravenous; NA = not applicable; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

(Continued)

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

Test Article: Amivantamab

IV Dose (mg/kg/week)	Study Duration (Total Doses)	$T_{1/2}$ (day) [a] Cynomolgus Monkey M	F	M+F	Study No./Location in CTD
3	1 month (4)	NR	NR	NR	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
20	6 weeks (5)	NR (NR)	3.31 (NR)	3.31 (NR)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
30	1 month (4)	NR	NR	NR	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
60	6 weeks (5)	5.49 (NR)	4.01 (NR)	4.50 (1.13)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months (13)	NR	NR	NR	TOX14008/4.2.3.2.3
100	1 month (4)	NR	NR	NR	T-20[redacted]-005/4.2.3.2.1
120	6 weeks (5)	9.57 (NR)	10.43 (NR)	10.15 (1.94)	T-20[redacted]-011/4.2.3.2.2
	3 months (13)	NR	NR	NR	TOX14008/4.2.3.2.3
SC Dose (mg/kg/week)					
125	2 weeks (2)	NR	NR	NR	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1
125 + rHuPH20 [b]	2 weeks (2)	NR	NR	NR	T-20[redacted]-001/4.2.3.6.1

[a] Mean (SD) values are shown unless otherwise noted.
[b] The rHuPH20 concentration was 2000 U/mL.

IV = intravenous; NR = not reported; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; $T_{1/2}$ = half-life; SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧表

Test Article: Amivantamab

Batch No.	Purity (Test)	Endotoxin (EU/mg)	Protein (Test)	Protein A	Host Cell Protein	DNA	Type of Study	Study No.	Location in CTD
[redacted]	[redacted]% (cSDS reduced) [redacted]% (cSDS non-reduced) [redacted]% (butyl-HPLC)	[redacted]	[redacted] mg/mL (OD280)	[redacted]	[redacted] ng/mg	[redacted] pg/mg protein	1-Month IV Tolerability in Cynomolgus Monkeys, non-GLP	T-20[redacted]-005	4.2.3.2.1
							Tissue Cross-Reactivity, non-GLP	T-20[redacted]-006	4.2.3.7.7.1
[redacted]	[redacted]% (cSDS reduced) [redacted]% (cSDS non-reduced) [redacted]% (SE-HPLC) [redacted]% (HI-HPLC)	[redacted]	[redacted] mg/mL (A280)	[redacted] ng/mg protein	[redacted] ng/mg protein	[redacted] pg/mg protein	6-Week IV Toxicity with 6-Week Recovery Period in Cynomolgus Monkeys, GLP	T-20[redacted]-011	4.2.3.2.2
							Tissue Cross-Reactivity, GLP	T-20[redacted]-010	4.2.3.7.7.2
							Cytokine Release Assay, non-GLP	T-20[redacted]-024	4.2.3.7.7.3
							Serum Compatibility, non-GLP	T-20[redacted]-025	4.2.3.7.7.4
							Hemolytic Potential, non-GLP	T-20[redacted]-026	4.2.3.7.7.5
[redacted]	[redacted]% & [redacted]%[a] (cSDS reduced) [redacted]% & [redacted]%[a] (cSDS non-reduced) [redacted]% & [redacted]%[a] (SE-HPLC) [redacted]% & [redacted]%[a] (HI-HPLC)	[redacted]	[redacted] mg/mL (A280)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	3-Month IV Toxicity in Cynomolgus Monkeys, GLP	TOX14008	4.2.3.2.3
[redacted]	[redacted]% (cSDS reduced) [redacted]% (cSDS non-reduced)	[redacted]	[redacted] mg/mL (A280)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2-Week SC Local Tolerance in Cynomolgus Monkeys, GLP	T-20[redacted]-001	4.2.3.6.1

[a] Purity for storage at 5 °C for 0 and 3 months, respectively; test article was stored at 2 to 8 °C in the 3-month toxicity study (TOX14008).

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; [redacted]; SC = subcutaneous.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

No single-dose toxicity studies have been performed with amivantamab. Acute toxicity studies designed to evaluate the potential adverse effects of doses causing major (life-threatening) toxicity are not considered appropriate for monoclonal antibodies that have inherently low toxicity and that can only be tested in non-human primates.

2.6.7.6 反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

Test Article: Amivantamab (CNTO 4424)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/week)	NOAEL (mg/kg/week)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Cynomolgus monkey (2.6 to 3.7 yo) 3 M/group non-GLP study	IV (slow bolus[a]), once weekly	4 weeks (4 doses)	0, 3, 30, 100 (Days 1, 8, 15, & 22)	100	Cutaneous lesions (dose related in incidence but not severity). 3 mg/kg/week: Hemorrhage and perivascular mixed cell infiltrates (microscopic) at injection site. 30 mg/kg/week: Gross observation of dark red skin foci on face and left side of chest in animal. Hemorrhage (microscopic) at administration site. 100 mg/kg/week: Gross observation of dark red foci and scabs on face, with microscopic correlate of ulceration and neutrophilic inflammation. Microscopic changes at administration site included hemorrhage, perivascular mixed cell infiltrates; ALT (3.06× and 2.28× on Days 2 and 23, respectively), AST (2.46× on Day 23) Exposure on Day 15 at the NOAEL of 100 mg/kg/week: C_{max} = 3,084 µg/mL; $AUC_{Day\ 15\text{-}22}$ = 11,989 µg·day/mL	T-20[redacted]-005/ 4.2.3.2.1

[a] Amivantamab in 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, 0.04% [w/v] Polysorbate 80, pH 5.7. Control article was 0.9% sodium chloride for injection, USP.

ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; $AUC_{Day15\text{-}22}$ = area under the serum concentration-time curve from Day 15 to Day 22 (1 dosing interval); C_{max} = maximum observed serum concentration; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = males; No. = number; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; w/v = weight/volume; yo = years old.

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

Report Title: CNTO 4424: A 6-Week GLP Intravenous Toxicity Study of CNTO 4424 in Cynomolgus Monkeys | **Test Article:** Amivantamab (CNTO 4424)

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus | **Duration of Dosing:** 5 weeks (once weekly for 5 total doses)[a] | **Study No.:** T-20[redacted]-011

Age at First Dose: 2.6 – 4.0 years | **Duration of Postdose Recovery:** 6 weeks | **Location in CTD:** 4.2.3.2.2

Date of First Dose: [redacted]20[redacted] | **Route:** Intravenous (slow bolus) injection | **GLP Compliance:** Yes

Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, 0.04% [w/v] Polysorbate 80, pH 5.7

Control Article: 0.9% sodium chloride for Injection, USP

Special Features: Anti-drug antibody (ADA) evaluation

No Observed Adverse Effect Level: 120 mg/kg/week

DOSING PERIOD

Dose Level (mg/kg/week)	0 (Control)		20		60		120	
No. of Animals (Toxicokinetics)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Total Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics (Mean):								
$AUC_{Day\ 1\text{-}8}$ (µg·day/mL), Day 1	BQL		1552.82		5095.43		9629.47	
$AUC_{Day\ 29\text{-}36}$ (µg·day/mL), Day 29	BQL		2905.45		10386.14		20502.96	
C_{max} (µg/mL), Day 1	BQL		548.41		1598.61		2812.85	
C_{max} (µg/mL), Day 29	BQL		813.47		2582.96		5040.23	
Anti-drug antibody (ADA)[b]	1	1	3	0	1	1	1	0
No. of Animals (Main Study)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings								
Total Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (qualitative)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Veterinary Physical Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology (qualitative)	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] Test and control articles were administered on Days 1, 8, 15, 22, and 29. Main study animals (3/sex/group) were euthanized one week following the final dose on Day 36 and recovery animals (2/sex/group) were euthanized on Day 78.

[b] Number of animals immunopositive on one or more occasions during study (Day 1, predose through Day 78) is shown, excluding animals positive only at Day 1, predose. The assay validation report found a high incidence (approximately 16%) of pre-existing anti-drug antibody with specificity to amivantamab in the samples. Three of thirty amivantamab-treated animals (two 20 mg/kg/week males and one 120 mg/kg/week male) exhibited a faster concentration decrease in the recovery phase or following the last dose when compared to the other animals in the same dose group. The presence of the ADA did not impact the interpretation of the toxicology data.

- No noteworthy findings; BQL = Below quantification level (0.20 µg/mL).

(Continued)

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: CNTO 4424: A 6-Week GLP Intravenous Toxicity Study of CNTO 4424 in Cynomolgus Monkeys **Test Article:** Amivantamab (CNTO 4424)

DOSING PERIOD								
Dose Level (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**120**	
No. of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Blood Pressure, Heart Rate, and Respiration Rate	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 2 [a]								
Neutrophils (10^3/µL)	7.11	5.40	-	-	-	-	1.75x*	2.63x*
White Blood Cells (10^3/µL)	11.99	12.17	-	-	-	-	1.48x	1.48x
Lymphocytes (10^3/µL)	4.47	6.08	-	-	-	-	1.06x	0.55x
Eosinophils (10^3/µL)	0.07	0.20	-	-	-	-	0.86x	0.10x*
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry [a]								
Alanine Aminotransferase (U/L)								
Day 2	48.6	35.4	1.71x*	3.21x*	2.07x	2.47x	1.89x*	2.86x*
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Day 2	-	50.0	-	2.79x	-	-	-	1.42x
Day 30	-	32.4	-	1.87x	-	2.10x	-	1.95x
Albumin (g/dL)								
Day 30	4.20	3.96	0.88x	0.90x*	0.81x*	0.85x*	0.88x	0.88x*
Globulin (g/dL)								
Day 2	2.68	2.60	-	-	1.22x*	1.21x	1.25x*	1.21x
Day 30	2.92	2.70	-	-	1.29x*	1.27x	1.39x*	1.27x
Albumin/Globulin Ratio								
Day 2	1.70	1.66	-	-	0.76x*	0.81x	0.74x*	0.80x
Day 30	1.44	1.48	-	-	0.67x*	0.66x*	0.65x*	0.70x*
Calcium (mg/dL)								
Day 2	9.88	9.82	-	-	1.01x	0.97x	1.01x	1.01x
Day 30	9.86	9.42	-	-	0.93x*	0.93x*	0.96x	0.98x
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal Necropsy (Day 36)								
Number evaluated	M: 3	F: 3	M: 3	F:3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (g) [a, b]								
Adrenal	0.4913	-	0.85x	-	0.83x	-	0.77x	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

- No noteworthy findings; *ANOVA with Dunnett's/Dunn's ($p \leq 0.05$).

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: CNTO 4424: A 6-Week GLP Intravenous Toxicity Study of CNTO 4424 in Cynomolgus Monkeys　　**Test Article:** Amivantamab (CNTO 4424)

RECOVERY PERIOD								
Dose Level During Dosing Period (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**120**	
No. of Animals	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy Findings During Recovery								
Total Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Chemistry, Day 76								
Albumin (g/dL) [a]	-	4.05	-	[0.91x]	-	[0.86x]	-	[0.89x]

[a] Group mean shown for control females. Numbers in brackets represents fold change from control for an individual noteworthy animal in each of the amivantamab-treated groups.
- No noteworthy findings.

AUC_{t1-t2} = area under the serum concentration versus time curve between two defined sampling time points, t1 and t2; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; No. = number of animals; w/v = weight/volume.

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験

Report Title: JNJ-61186372 (EGFR x cMET): A GLP 3-Month Intravenous Study in Cynomolgus Monkeys **Test Article:** Amivantamab (JNJ-61186372)

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Duration of Dosing: Once weekly for 3 months (13 doses) [a]
Study No.: TOX14008
Age at First Dose: 2 years 3 months to 3 years 2 months
Duration of Postdose Recovery: None
Location in CTD: 4.2.3.2.3
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Route: Intravenous (slow bolus) injection [a]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% [w/v] Polysorbate 80, 20 µg/mL ethylenediaminetetraacetic acid, pH 5.7
Control Article: D5W (5% dextrose injection, USP)
Special Features: Anti-drug antibody evaluation
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): 120 mg/kg/week

Dose Level (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**60**		**120**	
No. of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics (Mean): [b]						
AUC_{Day1-8} (µg•day/mL), Day 1 [c]	BQL		4836.37		9429.83	
$AUC_{Day85-92}$ (µg•day/mL), Day 85 [c]	BQL		11337.66		21935.86	
C_{max} (µg/mL), Day 1	BQL		1469.01		2701.46	
C_{max} (µg/mL), Day 85	BQL		2609.87		5232.33	
Anti-drug Antibody (ADA) [d]	0/8		0/8		0/8	
Noteworthy Findings						
Total Mortality	0		0		0	

[a] JNJ-61186372 doses were administered to the appropriate animals as an intravenous (slow bolus) injection once weekly for 3 months on Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, and 85.
[b] All JNJ-61186372-treated animals had quantifiable serum JNJ-61186372 concentrations throughout the treatment period from Day 1 to Day 92. No apparent differences in JNJ-61186372 exposures (assessed by C_{max} and AUC) and other toxicokinetic parameters were observed between the male and female animals.
[c] AUC t1-t2 interval with first and last doses identified as Days 1 and 85 instead of Days 0 and 84 as in the study report.
[d] All animals tested ADA-negative. Residual serum JNJ-61186372 concentrations in the ADA testing samples from all animals were above the drug concentration tolerance limit for the ADA assay. Potential interference of ADA detection by residual drug in the serum samples could not be excluded.

ADA = anti-drug antibody; AUC_{t1-t2} = area under the serum concentration versus time curve between two defined sampling time points, t1 to t2; BQL = below quantification level; C_{max} = maximum observed concentration; cMET = MET, mesenchymal-epithelial transition factor; EGFR = epidermal growth factor receptor; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male.

(Continued)

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: JNJ-61186372 (EGFR x cMET): A GLP 3-Month Intravenous Study in Cynomolgus Monkeys **Test Article:** Amivantamab (JNJ-61186372)

Dose Level (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**60**		**120**	
No. of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Clinical Observations [a]						
Liquid feces [b]						
Slight	-	-	-	-	-	4 (32)[e]
Moderate	-	-	-	-	-	3 (16)
Body Weights	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (qualitative)	-	-	-	-	-	-
Veterinary Physical Examinations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology (qualitative)	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure and Heart Rate	-	-	-	-	-	-
Respiration Rate	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry [c, d]						
Albumin (g/dL)						
Day -7	4.73	4.30	4.53	4.53	4.45	4.55
Day 29	4.65	4.43	4.28*	4.05	4.08**	3.98
Day 57	4.60	4.43	4.05*	3.95	4.05*	3.70**
Day 85	4.50	4.33	4.20	4.08	4.05	3.90
Day 92	4.50	4.38	4.13	4.08	4.13	3.93

[a] Number of animals (number of incidences) are shown for study Days 1-92. Once daily cage side, weekly detailed, and postdose (2-3 hours, 5-6 hours and 10-12 hours postdose for all dose occasions) observations were conducted. Only one incidence counted per animal per day. Findings for animals group housed for socialization purposes were counted for each animal in cage.

[b] Two females (120 mg/kg), had a chronic issue with liquid feces starting on Day -8 that was considered possibly related to the administration of JNJ-61186372 administration. These 2 animals continued to have occurrences of liquid feces from Day 9 to Day 90, with veterinary treatment throughout this period. The remaining 2 females in this group, when group housed, were noted with slight liquid feces on Days 39, 45, and 56; and one was noted with moderate liquid feces postdose on Days 64 and 65. The liquid feces were not considered adverse since there were no other associated clinical signs, changes in body weights, and the 2 animals that required veterinary treatment had liquid feces noted during the prestudy period. The liquid feces were considered possibly related to JNJ-61186372 administration since 2 of the 4 animals were noted with liquid feces prior to initiation of dosing on Day 1.

[c] Group means are shown. Prestudy (Day -7) included for reference.

[d] These changes were consistent with a mild acute phase response. Changes in albumin and globulin were associated with decreases in the alumin:globulin ratio and calcium.

[e] Occurrence of slight liquid feces was 32 based on individual animal data (TOX14008 pages 284-317) and SEND data but was reported as 31 in the report CTD summary table (TOX14008/App18).

- No noteworthy findings; * $p \leq 0.05$, ** = $p \leq 0.01$ (ANOVA with Dunnett's/Dunn's).

cMET = MET, mesenchymal-epithelial transition factor; EGFR = epidermal growth factor receptor; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: JNJ-61186372 (EGFR x cMET): A GLP 3-Month Intravenous Study in Cynomolgus Monkeys　　**Test Article:** Amivantamab (JNJ-61186372)

Dose Level (mg/kg/week)	**0 (Control)**		**60**		**120**	
No. of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Globulin (g/dL)						
Day -7	2.90	3.08	2.78	2.93	2.65	2.88
Day 29	2.83	2.93	3.13	3.10	2.83	3.38
Day 57	2.75	2.73	3.10	3.15	2.90	3.28
Day 85	2.68	2.90	3.03	3.23	3.05	3.53
Day 92	2.70	2.85	3.15	3.30	2.98	3.30
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Terminal Euthanasia, Day 92 (No. Evaluated)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Histopathology [a, b]						
Kidney						
Regeneration, tubular						
Minimal	0	0	2	4	2	2
Infiltration, mixed cell, interstitial						
Minimal	0	0	0	0	2	0
Liver						
Pigment, Kupffer cell, sinusoid with Kupffer cell hypertrophy						
Minimal	0	0	2	3	1	3
Mild	0	0	1	1	2	1

[a] Number of animals with finding is shown.

[b] Findings of uncertain relationship to JNJ-61186372 administration were observed in the stomach at ≥ 60 mg/kg. Minimal mucosal/glandular epithelial degeneration/regeneration was seen in 1 animal in each group at ≥ 60 mg/kg and included occasional foci of dilated gastric glands that contained rare sloughed necrotic epithelial cells and/or mixed neutrophilic infiltrates; minimal focal mucosal erosion noted in one 60 mg/kg dose group female; and focal epithelial basophilia/regeneration, consistent with a reparative response seen in another 60 mg/kg dose group male. Both findings were associated with acute hemorrhage. The stomach findings were of limited severity, acute in nature, focal to multifocal in distribution, absent in 75% of other animals with comparable or higher exposures in all groups, and within the spectrum of spontaneous background findings reported for cynomolgus monkeys and thus were considered most likely incidental.

- No noteworthy findings.

cMET = MET, mesenchymal-epithelial transition factor; EGFR = epidermal growth factor receptor; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

Genotoxicity studies have not been conducted with amivantamab. As indicated in the ICH S6(R1) guidance, genotoxicity studies, routinely conducted for pharmaceuticals, are not appropriate for biotechnology-derived pharmaceuticals such as monoclonal antibodies. The standard battery of assays recommended for small molecules as defined by the ICH S2(R1) guidance is primarily designed to detect substances that induce gene mutations, chromosome aberrations, and/or DNA damage. Because of their large molecular size, monoclonal antibodies, such as amivantamab (approximately 14800 Daltons), are not expected to pass through the nuclear membranes and are not expected to interact with DNA or other chromosomal material.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

Genotoxicity studies have not been conducted with amivantamab. As indicated in the ICH S6(R1) guidance, genotoxicity studies, routinely conducted for pharmaceuticals, are not appropriate for biotechnology-derived pharmaceuticals such as monoclonal antibodies. The standard battery of assays recommended for small molecules as defined by the ICH S2(R1) guidance is primarily designed to detect substances that induce gene mutations, chromosome aberrations, and/or DNA damage. Because of their large molecular size, monoclonal antibodies, such as amivantamab (approximately 14800 Daltons), are not expected to pass through the nuclear membranes and are not expected to interact with DNA or other chromosomal material.

2.6.7.10　がん原性試験

Carcinogenicity studies have not been conducted with amivantamab. As indicated in the ICH S9 guidance, carcinogenicity studies are not warranted to support marketing for therapeutics intended to treat patients with advanced cancer. Additionally, as indicted in the ICH S6(R1) guidance, standard carcinogenicity bioassays are generally inappropriate for biotechnology-derived pharmaceuticals that are not cross-reactive with rodents.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験

Reproductive and developmental toxicity studies have not been conducted with amivantamab and are not warranted to support marketing of pharmaceuticals for the treatment of patients with advanced cancer. This is based in consideration of the use of the cynomolgus monkey as the only relevant nonclinical species for amivantamab, the absence of any adverse effects on reproductive organs and tissues in repeat-dose toxicity studies, the restricted access of immunoglobulins to these organs in males, the intended use in patients with advanced malignancies, and in concurrence with the available ICH S9, ICH S5(R3), and ICH S6(R1) guidelines, and the U.S. FDA guidance for Oncology.

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

Fertility studies have not been conducted with amivantamab; however, effects on fertility were evaluated based on the repeat-dose toxicity studies in accordance with ICH S6(R1) and S9 and the U.S. FDA guidance for Oncology. No adverse effects on reproductive organs and tissues were observed in repeat-dose toxicity studies with weekly IV dosing of up to 120 mg/kg amivantamab for up to 3 months.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

Embryo-fetal development studies have not been conducted with amivantamab. In accordance with ICH S5(R3) and S6 and the U.S. FDA guidance for Oncology, a weight-of-evidence evaluation, based on data from knockout mice and developmental toxicity studies, showed that disruption of the EGFR and MET pathways are likely to cause adverse effects on embryo-fetal development.

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

Prenatal and postnatal development studies were not conducted in accordance with ICH S9 and the U.S. FDA guidance for Oncology; however, a weight-of-evidence evaluation showed that disruption of the EGFR and MET pathways are likely to cause adverse effects on embryo-fetal and postnatal development and survival.

2.6.7.15　生殖発生毒性試験 - 新生児を用いた試験

No juvenile toxicity studies were conducted because amivantamab is intended for the treatment of adult patients.

2.6.7.16　局所刺激性試験

Test Article: Amivantamab (JNJ-61186372)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Monkey, cynomolgus 4M/group (GLP compliant)	SC, once weekly for 2 doses (formulation buffer[a])	0 + rHuPH20[b] 125 ± rHuPH20[b] (Days 1 and 8)	Well tolerated at the injection site. No treatment-related injection site observations based on dermal (Draize) scoring (4, 24, 48, 72, and 96 hours after each dose compared to Day -1). All observations were Grade 0 (no edema or erythema) for groups administered amivantamab alone or with rHuPH20. No body weight changes, effect on food consumption, or gross or microscopic findings. Liquid feces (1 or 2 occurrences) in both the amivantamab alone and amivantamab plus rHuPH20 groups, and brown mucoid material in the amivantamab alone group were considered non-adverse due to the infrequency and short duration (1 or 2 days) and possibly related to amivantamab treatement. All amivantamab-treated animals had quantifiable concentrations of amivantimab throught the sampling period (Days 1 to 12). Slighlty higher mean serum exposure in the amivantimab + rHuPH20 group than the amivantamab alone group. Serum Amivantamab Exposure Following Dose on Day 1[c]: C_{max} (µg/mL), AUC_{Day1-8} (µg·day/mL) Following Dose on Day 8[c]: C_{max} (µg/mL), $AUC_{Day8-12}$ (µg·day/mL) Dose (mg/kg) 125 Mean: 1018.93, 5854.81, 1693.86, 6116.17 125 SD: 123.67, 616.50, 195.93, 698.62 125 + rHuPH20 Mean: 1589.34, 8019.59, 2022.88, 7116.54 125 + rHuPH20 SD: 286.79, 1065.53, 264.57, 1166.10	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.6.1

[a] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% [w/v] sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% Polysorbate 80, and 20 µg/mL ethylenediaminetetraacetic acid at pH 5.7.
[b] The rHuPH20 concentration was 2,000 U/mL.
[c] AUC interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 instead of Days 0 and 7 as in the study report.

AUC_{t1-t2} = area under the serum concentration versus time curve between two defined sampling time points, t1 and t2; C_{max} = maximum observed serum concentration; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous; SD = standard deviation; w/v = weight/volume.

2.6.7.17　その他の毒性試験

Test Article: Amivantamab (CNTO 4424)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity					
Tissue cross reactivity in normal cynomolgus monkey tissue (full panel) and normal human tissue (limited panel), non-GLP 1 donor/tissue	In vitro (precomplexed with biotinylated DkαHuIgG[a])	NA	5 & 25 µg/mL	Membrane staining in epithelium. Limited membrane staining in perineural sheath cells of peripheral nerves and/or myenteric plexus. Cross-reactive with cytoplasm and/or cytoplasmic granules of epithelium, smooth myocytes, and stromal cells of gastrointestinal tissues. In general, similar binding profile to cynomolgus monkey and human tissues. Minor variation in findings between human and monkey were attributed to section-to-section or interindividual variability.	T-20[redacted]-006/ 4.2.3.7.7.1
Tissue cross reactivity in normal human tissue (full panel), GLP 3 donors/tissue	In vitro (precomplexed with biotinylated DkαHuIgG[a])	NA	5 & 25 µg/mL	Membrane staining limited to epithelium and peripheral nerve sheath cells, and also in placental decidual cells. Broadly cross-reactive with cytoplasm, cytoplasmic processes, cytoplasmic granules, and/or cytoplasmic globules in multiple tissue elements.	T-20[redacted]-010/ 4.2.3.7.7.2
Cytokine release, non-GLP	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	148 µg/mL (immobilized on Protein A polystyrene coated beads)	No statistically significant increase in cytokines compared to negative control (autologous plasma).	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.3
Serum compatibility, non-GLP	In vitro (diluent: formulation buffer)	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	Compatible with human serum (no precipitation based on assay of solution turbidity as measured by light absorption)	T-20[redacted]-025/ 4.2.3.7.7.4
Hemolytic potential, non-GLP	In vitro (diluent: formulation buffer)	40 minutes	0.025 to 25 mg/mL	Compatible with human blood (no hemolysis)	T-20[redacted]-026/ 4.2.3.7.7.5

[a] Amivantamab was mixed with biotinylated F(ab')$_2$ donkey anti-human IgG Fcγ fragment specific antibody followed by overnight incubation to allow attachment to the labelled secondary antibody.

GLP = Good Laboratory Practice; IgG = immunoglobulin G; NA = not applicable; No. = number; PBS = phosphate buffered saline.