目次

1. まとめ 3
2. 毒性試験の要約....5
2.1 単回投与毒性試験....5
2.2 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 5
2.2.1 AMG 757：雌性カニクイザルを用いた10日間反復静脈内投与毒性試験（121423試験） 5
2.2.2 AMG 757：カニクイザルを用いた28日間反復持続静脈内投与毒性試験及び28日間回復性試験（121424試験） 5
2.2.3 AMG 757：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（122516試験） 9
2.2.4 muS757：BALB/cマウスを用いた1カ月間反復静脈内投与毒性試験（153960試験） 10
2.3 遺伝毒性試験....11
2.4 がん原性試験（TK評価を含む） 11
2.5 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 11
2.5.1 muS757：マウスを用いた急速静脈注入による胚・胎児発生に関する試験（122517試験） 11
2.6 局所刺激性試験....12
3. 考察及び結論....13
4. 参考文献 14

表一覧

表 1 AMG 757：非臨床毒性試験....4
表 2 カニクイザルにAMG 757を28日間IV投与したときのTKパラメータ（雌雄併合） 6
表 3 カニクイザルにAMG 757を3カ月間IV投与したときのTKパラメータ（雌雄併合） 9
表 4 カニクイザル及びマウスにおけるAMG 757及びmuS757のPK/TKパラメータ 10
表 5 カニクイザルとマウスとの非臨床所見の比較 14

略号一覧

略号又は用語	定義／説明
ADA	anti-drug antibody　抗薬物抗体
ADA-IC	ADA-related immune complexes　抗薬物抗体免疫複合体
AMG 757	also designated as tarlatamab　タルラタマブの開発番号
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 168 hours)　定量可能限界（最長168時間）までの血中濃度-時間曲線下面積
BiTE®	bispecific T　cell engager　二重特異性T細胞誘導
C_0	calculated drug concentration at time zero after an IV bolus dose　薬物投与直後の血中薬物濃度
CD3/CD3ε	cluster of differentiation 3, epsilon chain　分化抗原群3、イプシロン鎖
CD25	cluster of differentiation 25; T cell activation antigen　分化抗原群25（T細胞活性化抗原、IL-2受容体α鎖）
CD69	cluster of differentiation 69; early T cell activation antigen　分化抗原群69（T細胞初期活性化抗原）
CRP	C-reactive protein　C反応性タンパク
CSF	cerebral spinal fluid　脳脊髄液
DLL3	delta-like ligand 3　デルタ様リガンド3
EC_{50}	half-maximal effective concentration　50%効果濃度
EMA	European Medicines Agency　欧州医薬品庁
Fc	fragment crystallizable　結晶化フラグメント
FcRn	neonatal Fc receptor　新生児型Fc受容体
FDA	Food and Drug Administration (United States)　米国食品医薬品局
GD	gestation day　妊娠日
GLP	Good Laboratory Practices　医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HNSTD	highest non-severely toxic dose　重篤な毒性が発現しない最大投与量
hr	hour　時間
ICH	International Council on Harmonisation　医薬品規制調和国際会議
IFN-γ	interferon gamma　インターフェロン-ガンマ
IV	intravenous　静脈内
K_D	equilibrium dissociation constants　平衡解離定数
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1　単球走化性タンパク質-1
MFD	maximal feasible dose　投与可能な最大用量
MHRA	Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (United Kingdom)　英国医薬品・医療製品規制庁
muS757	mouse surrogate of AMG 757; bispecific T cell engager with binding specificities for mouse//human DLL3, mouse CD3 and mouse FcRn　AMG 757のマウスサロゲート
N	number　数
N/A	not applicable　該当せず
NOAEL	no observed adverse effect level　無毒性量
NV	Nevada (USA)　ネバダ
PA	Pennsylvania (USA)　ペンシルバニア
SC	subcutaneous　皮下
SCLC	small cell lung cancer　小細胞肺癌
SD	standard deviation　標準偏差
Swiss	マウスの一系統
TK	toxicokinetics　トキシコキネティクス
t_{max}	time to reach C_{max}　最高血中濃度到達時間

1. まとめ

AMG 757（一般的名称：タルラタマブ）はDLL3（デルタ様リガンド3）及びCD3εへの結合部位を含む二重特異性T細胞誘導（BiTE®）分子であり、血清中半減期延長のため一本鎖Fc部分を有する。AMG 757は、医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン「S6R1；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」、「S9；抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」及び「S9；抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインに関する質疑応答集」（ICH S6R1, 2011、ICH S9, 2010、ICH S9 Q&A, 2018）に適合した開発方針に従って、小細胞肺癌（SCLC）の治療を目的とする試験が実施されている。

AMG 757の非臨床安全性評価を、4500 µg/kgまでの用量での週1回投与によるカニクイザルを用いた10日間、28日間及び3カ月間反復静脈内（IV）投与毒性試験にて実施した。投与経路は予定される臨床投与経路に基づいてIV投与を選択した。AMG 757の物理化学的特性のため、カニクイザルへの投与可能な最大用量（MFD）は4500 µg/kgであった。標的結合親和性及び生物活性データ（モジュール2.6.2 2.1項）に基づき、カニクイザルを毒性試験動物種として選択した。平衡解離定数（K_D）は、DLL3結合部位（ヒトで0.64 nmol/L、カニクイザルで0.5 nmol/L）及びCD3結合部位（ヒトで14.9 nmol/L、カニクイザルで12 nmol/L）のいずれも、ヒトとカニクイザルで同程度であった（122717試験）。AMG 757のCD3結合部位は、マウス、ラット、ビーグル犬、ウサギ及びミニブタのCD3とは反応しない（R20140017試験）。

標的を発現する細胞に対する細胞傷害性T細胞による再指向性溶解を媒介する分子は、組織分布が限定的であり、細胞質発現レベルが低く、AMG 757との結合には到達できないため、カニクイザルの毒性試験では、予想されるようにAMG 757に直接起因する毒性変化は認められなかった。（モジュール2.6.2 2.1.4項、モジュール2.6.2 3.1項）。

1000 µg/kg以下の用量での探索的10日間反復投与毒性試験（121423試験）におけるAMG 757関連の変化は、リンパ球集団の減少、並びにC反応性タンパク（CRP）、MCP-1及びIFN-γの血清中濃度の軽微な増加のみであった。AMG 757関連の病理組織学的所見は、肺、肝臓及び下垂体での軽微及び軽度の混合炎症性細胞浸潤のみであり、いずれの組織においても細胞傷害は認められなかった。

4500 µg/kg以下の用量で実施した28日間反復投与毒性試験（121424試験）での再指向性細胞溶解に一致するAMG 757関連の変化は、4500 µg/kg以下の用量での軽度のリンパ球集団減少（2回目投与後のみに検出）のみであった。その他のAMG 757関連の変化は、500 µg/kg以上でのごく軽度の心拍数増加（Day 2にみられたがDay 23には認められず）、並びに50及び500 µg/kgでの下垂体における軽微から軽度の混合細胞（リンパ球及び好酸球）浸潤（28日間の休薬期間終了時までに回復した）のみであった。抗薬物抗体（ADA）の発現率に用量依存的な増加が認められ、試験終了時における曝露量のばらつきの一因と考えられた。1例で心臓及び肺の血管傷害関連の変化がみられたが、これはADA免疫複合体（ADA-IC）による二次的影響と考えられた。

3カ月間反復投与毒性試験（122516試験）におけるAMG 757関連の臨床病理学的変化は、最高投与量の4500 µg/kgでの軽微なリンパ球減少のみであった。また、下垂体ではAMG 757関連の変化が50 µg/kg以上で認められ、その特徴は主にリンパ球からなる軽微から軽度の単核細胞浸潤であったが、組織傷害のエビデンスは認められなかった。

28日間及び3カ月間反復投与毒性試験、並びに胚・胎児発生に関する試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）規制を遵守し、該当するICH、欧州医薬品庁（EMA）及び米国食品医薬品局（FDA）のガイダンス文書に従って実施した。

米国食品医薬品局（FDA）の提言に従い、DLL3を標的とするBiTE®分子のマウス胚・胎児発生に対する影響の有無を評価するため、AMG 757のマウスサロゲート分子（muS757）を開発した。AMG 757に対するmuS757の同等性を、モジュール2.6.2及びモジュール2.6.4に要約した結合特性及び*in vitro*生物活性、並びにマウスを用いた反復投与毒性試験（153960試験、2.2.4項）に基づいて評価した。

胚・胎児発生に関する試験（122517試験）において、適時交配した雌のSwissマウスに、muS757を500又は4500 µg/kg（MFD）の用量で妊娠日（GD）6及び15に急速静脈注入したところ、妊娠結果及び胎児パラメータにmuS757関連の変化は認められなかった。

モジュール2.6.6に記載したAMG 757及びmuS757の非臨床試験の一覧を表 1に示す。

表 1　AMG 757：非臨床毒性試験

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.	Study Status
Repeat-dose Studies muS757: 1-Month Intravenous Toxicology Study in the BALB/c Mouse	[redacted]	No	153960	Final report
AMG 757: 10-Day Intravenous Toxicology Study in the Female Cynomolgus Monkey		No	121423	Final report
AMG 757: 28-Day Intravenous Infusion Toxicology Study in the Cynomolgus Monkey with a 28-Day Recovery Period		Yes	121424	Final report
AMG 757: 3-Month Intravenous Toxicology Study in the Cynomolgus Monkey		Yes	122516	Final report
Reproductive and Developmental Toxicity muS757: An Embryo-fetal Development Study by Intravenous (Bolus) Injection in Mice		Yes	122517	Final report
Local Tolerance An Exploratory Single-Dose Pharmacokinetic and Local Tolerance Study of AMG 351 and AMG 757 in the Cynomolgus Monkey		No	157064	Final report

GLP = Good Laboratory Practice; [redacted].

2. 毒性試験の要約

2.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかったが、AMG 757による急性の影響については、カニクイザルを用いた10日間、28日間及び3カ月間反復投与毒性試験で評価した。MFDである4500 µg/kgまでの用量で、急性毒性の変化は認められなかった。

2.2 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.2.1 AMG 757：雌性カニクイザルを用いた10日間反復静脈内投与毒性試験（121423試験）

この探索的試験では、カニクイザル（1群雌2例）にAMG 757を100又は1000 µg/kgの用量でDay 1及び8にIV投与したときの毒性及びトキシコキネティクス（TK）を、10日間にわたって評価した。

AMG 757血清中濃度の経時的推移から、試験期間を通した持続的な曝露が確認された。また、AMG 757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、用量を10倍に増加させると血中濃度－時間曲線下面積（AUC）及び最高血中濃度（C_{max}）値は約7倍に増加した。

一般状態、体重及び眼科学的検査にはAMG 757関連の変化は認められなかった。高用量群の1例でDay 10に体温が上昇した。低用量群の2例及び高用量群の1例で、初回投与24時間後にCRPの軽微かつ一過性の増加が認められた。高用量群の1例でDay 11に血清CRPの軽微な増加が認められた。

AMG 757による数種類のリンパ球亜集団（すなわちB細胞、T細胞、ヘルパーT細胞及び細胞傷害性T細胞）の減少がDay 1の投与4時間後にみられ、多くの細胞型及び動物ではDay 11の試験終了時まで認められた。

AMG 757によりIFN-γ及びMCP-1血清中濃度のごく軽度の増加が誘導されたが、IL-6及びTNF-α値への影響は認められなかった。MCP-1値の軽微な増加が初回投与後に全例でみられ、高用量群及び2回目の高用量投与後ではより高かった。MCP-1血清中濃度は、2回目の高用量投与後におおむね投与前値まで戻った。IFN-γ濃度は、高用量群の2例で2回目投与後にベースラインより高かった。

アンジオポエチン2値は高用量群の1例のみで増加した。

剖検時にAMG 757関連の肉眼的組織所見は認められなかった。AMG 757関連の病理組織学的所見は、肺、肝臓及び下垂体における軽微及び軽度の混合炎症性細胞浸潤のみであった（2.2.2項）。いずれの組織にも細胞傷害は認められなかった。

以上、カニクイザルにAMG 757を100又は1000 µg/kgの用量で 週1回10日間急速静脈注入しても、AMG 757関連の毒性変化は認められなかった。

2.2.2 AMG 757：カニクイザルを用いた28日間反復持続静脈内投与毒性試験及び28日間回復性試験（121424試験）

本試験では、AMG 757を週1回28日間低速ボーラス静脈内注入（約4分間）したときの毒性及びTKを評価した。カニクイザル（1群雌雄各3例）にAMG 757を0、50、500又は4500 µg/kgの用量で投与期間中に投与し、更にカニクイザル（1群雌雄各2例）にはAMG 757を0又は500 µg/kgの用量で投与期間中に投与後28日間の休薬期間を設けた。AMG 757の物理化学的特性のため、MFDは4500 µg/kg

に制限された。対照動物には溶媒のみ（10 mmol/L L-グルタミン酸、9.0% (w/v)精製白糖、0.01% (w/v) ポリソルベート80、pH4.2）を投与した。計画剖検を投与期間終了時（Day 29）及び休薬期間終了時（Day 56）に実施した。

本試験では以下の試験パラメータ及び評価項目を評価した：一般状態、体重、定性的摂餌量、眼科学的検査、呼吸数、体温、神経学的検査、体外ジャケット式テレメトリー（JET）心電図検査、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査及び脳脊髄液（CSF）細胞数検査）、TKパラメータ（血清及び脳脊髄液）、抗薬物抗体分析、サイトカイン、フローサイトメトリー、肉眼剖検所見、器官重量及び病理組織学的検査。

TK解析の結果を表 2に示す。結合したADAが、500 µg/kg群の10例中6例及び4500 µg/kg群の6例中6例で認められた。ADAの存在が、最終投与後に観察された曝露量のばらつきに影響した可能性がある。50 µg/kg群の1例で投与前にADAが検出されたが、この個体では、その後の投与では曝露量が増加しており、これは試験終了時にADAが検出されなかったことと一致していた。

表 2　カニクイザルにAMG 757を28日間IV投与したときのTKパラメータ（雌雄併合）

Dose (µg/kg)			Day 1 T_{max} (hr)	Day 1 C_0 (µg/mL)	Day 1 AUC_{last} (hr·µg/mL)	Day 22 T_{max} (hr)	Day 22 C_0 (µg/mL)	Day 22 AUC_{last} (hr·µg/mL)
50	All Animals	N	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.08	0.465	24.3	1.4	0.801	61.6
		SD	0	0.404	21.9	3.2	0.477	25.6
	ADA Negative Only[a]	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.08	0.554	29.2	0.08	0.905	65.8
		SD	0	0.381	20.6	0	0.452	26.3
500	All Animals	N	10	10	10	10	10	10
		Mean	0.87	9.41	490	0.08	12.5	861
		SD	2.5	3.5	139	0	4.83	662
	ADA Negative Only[a]	N	4	4	40	4	4	4
		Mean	0.08	10.2	506	0.08	16.4	1430
		SD	0	2.99	145	0	1.54	115
4500	All Animals	N	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.08	95.1	4950	0.08	62.3	1940
		SD	0	8.33	280	0	46.6	2570
	ADA Negative Only[a]	N	6	6	6	0	0	0
		Mean	0.08	95.1	4950	N/A	N/A	N/A
		SD	0	8.33	280			

ADA = anti-drug antibody; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 168 hours); C_0 = calculated drug concentration at time zero after an IV bolus dose; N= number of animals; N/A = not applicable; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach C_{max}.

[a] For day 1 data, ADA-negative animals did not have detectable binding ADAs at the pre-study time point. For day 22 data, ADA negative animals did not have detectable binding ADAs at both day 22 and day 29 time points.

AMG 757 concentrations were not quantifiable in serum samples collected from the control group.

Source: Study 121424.

試験終了時にすべての個体で脳脊髄液（CSF）中のAMG 757濃度も測定した。Day 29に3例（500 µg/kg群におけるADA陰性の2例と4500 µg/kg群のADA陽性の1例）でCSF中にAMG 757が検出され、その濃度は500 µg/kgで2.13及び4.28 ng/mL、4500 µg/kgで3.15 ng/mLであった。これは同じ時点での血清曝露量の約0.05%に相当する。カニクイザルエフェクター細胞によるヒトSCLC細胞株パ

ネルでの再指向性溶解を評価した*in vitro*アッセイに基づく平均50%効果濃度（EC_{50}）は、CSFにおける曝露量の6～12倍であった（最も感度の高い細胞株であるDMS 79では1.3～2.6倍高い）（モジュール2.6.2 2.1.4項）。以上のことから、AMG 757の曝露量は血清中では高いものの、CSF中ではごくわずかな薬理活性を示す程度の曝露量であることが確認された。休薬期間終了時にはCSF中のAMG 757濃度は定量できなかった。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、呼吸数、体温、神経学的検査、臨床検査、サイトカイン、器官重量及び剖検において、AMG 757関連の変化は試験期間を通して認められなかった。免疫活性化療法に通常伴うサイトカイン変化や一般状態の変化が認められないことは、正常組織において到達可能なDLL3の発現量が極めて低いことと一致している。

500 µg/kg以上の投与群でDay 2にAMG 757に関連したPR、RR及びQT間隔の短縮を伴う心拍数のごく軽度増加がみられた。24時間の測定期間を通して、心拍数の変化の平均値は対照群と比較して10%未満であるが増加した（個々で比較した場合最大23%の変化）。次回測定時点のDay 23には、ADAの有無にかかわらず、いずれの動物においてもこれらの変化は明らかでなかった。心拍数の増加の程度が小さく、投与を継続しても試験終了時に影響が認められなかったことから、これは毒性所見ではないと考えられた。

フローサイトメトリーによるイムノフェノタイピングで、4500 µg/kgのAMG 757の投与に関連したすべてのT細胞サブセット（T細胞全体、ヘルパーT細胞及び細胞傷害性T細胞）の軽度かつ一過性の減少が、6例中4例で2回目投与の4時間後より認められた。AMG 757の作用機序には、T細胞の再指向性及び活性化、並びにそれに続くDLL3発現細胞の溶解が関与している。したがって、循環血中T細胞の軽度の減少は、AMG 757の作用機序と正常組織においてDLL3の発現量が低いことと一致している。この再配分に関連した毒性変化は認められなかった。DLL3が形質膜表面に局在しており、AMG 757及びT細胞が到達可能なSCLC患者では、T細胞のより効果的な再配分及び活性化が予想される。T細胞活性化マーカー（CD25及びCD69）に検出可能な増加はみられず、これらの動物の病理組織学的検査に基づくと細胞／組織傷害は認められなかった。

50及び500 µg/kg群のいずれにおいても、6例中3例で、投与期間終了時に、軽微から軽度のAMG 757関連の混合細胞浸潤が下垂体に認められた。浸潤巣は主にリンパ球と様々な程度の好酸球で構成され、中間部と後葉の間の境界面に局在しており、これは下垂体におけるDLL3の発現パターンと一致していた（123377試験）。浸潤と関連した組織傷害のエビデンスは認められなかった。DLL3の発現は下垂体前葉の好塩基球にも観察されたが、下垂体のこの部分には関連する浸潤は認められなかった。4500 µg/kgでは曝露レベルがより高かったにもかかわらずこの変化がみられなかったことに関連して、ADAがこの用量で全例に、また500 µg/kgで6例中3例に認められた。血清中AMG 757濃度の測定に使用したアッセイでは、AMG 757を捕捉するためにAMG 757の抗CD3抗体部分に対するモノクローナル抗体を使用し、検出のため可溶型DLL3を使用している。そのため、このアッセイでは、中和（すなわち抗イディオタイプ）抗体に結合していないAMG 757の部分が測定される。しかし、AMG 757濃度の測定に使用したアッセイでは、ADAが分子の他の部分（一本鎖Fc等）に結合したAMG 757が検出される可能性は否定できない。BiTE®分子が標的細胞及びT細胞の両方に接触すると、細胞溶解性シナプスが形成され、それにより標的細胞が溶解する（Offner et al, 2006）。したがって、AMG 757へのADAの結合に伴うサイズの増加が、立体的に細胞溶解性シナプ

スの形成を妨げる可能性があり、これにより、曝露量がより高かったにもかかわらず、すべてのADA陽性例で浸潤が認められなかったことが説明される。下垂体の変化がみられなかった50 µg/kg群の3例では、下垂体の変化を示した動物と比較して、初回投与後の曝露量（C_0及びAUC_{last}の両方）が低かった。

休薬期間後に、500 µg/kg（休薬期間で評価した唯一の用量）群の4例中3例で、下垂体に軽微な巣状ないし多巣性の単核細胞浸潤が認められた。投与期間終了時の所見と同様に、浸潤は一貫して中間部と後葉の間の境界面にみられたが、投与期間終了時にはこの変化が境界面に沿ってびまん性に認められたのに対し、回復性試験例では、浸潤は巣状領域に限局していた。分布の減少と混合細胞浸潤から単核細胞浸潤への変化に基づき、投与期間終了時剖検例で観察された混合細胞浸潤の存在は、休薬期間後に部分的に回復したと判断され、これは時間の経過とともに完全に回復すると考えられる（Perry et al, 2013）。

カニクイザルの下垂体におけるAMG 757関連の混合細胞浸潤は、免疫チェックポイント阻害薬を投与した一部の患者で報告され、臨床的に管理されている下垂体炎とは形態学的に異なっており、はるかに重症度は低い。チェックポイント阻害薬による下垂体炎は自己免疫関連疾患であり、組織損傷を引き起こすびまん性の炎症、磁気共鳴画像検査で認められる下垂体腫大、臨床症状（頭痛、疲労等）、並びに副腎、甲状腺及び性腺に関与する続発性の内分泌機能障害を伴うことが報告されている（Rossi et al, 2016、Torino et al, 2016）。一方、カニクイザルにおけるAMG 757関連の混合細胞浸潤の分布は限局性であり、下垂体重量の変化、細胞傷害、内分泌腺機能障害を示す明らかな所見及び一般状態の変化は認められなかった。これらの違い及び変化の可逆性から、AMG 757に関連した下垂体における混合細胞浸潤は毒性変化ではないと考えられた。

投与終了時に安楽死させた50 µg/kg群の1例で、心臓及び肺の血管変化が認められたが、これはADAとAMG 757により形成されたADA-ICの二次的影響と考えられた。心臓では、冠動脈周囲の冠状溝に肉芽腫性炎症がみられ、肺動脈では2つの小さな器質化血栓が認められた。病理組織学的特徴から慢性の変化とみられることから、本試験の早期にADA-ICが影響を及ぼしたことが示唆された。この動物の血清中においてADAは検出されなかったが、これらの変化の解剖学的部位及び病理組織学的特徴に基づく科学的根拠の重み付けは、ADA-ICによる血管傷害と一致していた（Rojko et al, 2014、Schrieber and Penny, 1984、Germuth, 1953、Germuth et al, 1955）。さらに、ADAは4500 µg/kg群の全例及び500 µg/kg群の10例中6例に認められたが（血管変化のエビデンスなし）、ADA-IC関連の変化が用量に依存せずにみられることは稀ではなく、一般に高用量で認められる可能性は低い（Ponce et al, 2009、Rojko et al, 2014）。要約すると、この動物における炎症性変化の解剖学的部位及び特徴は、抗AMG 757抗体の発現に続発したICによる炎症に一致しており、AMG 757との直接的な関連はなかった。

以上、カニクイザルに50、500又は4500 µg/kgの用量で週1回28日間IV投与したところ、AMG 757関連の毒性変化は認められなかった。AMG 757関連の心拍数の変化（10%未満の増加）がDay 2にみられたが、（持続的曝露にもかかわらず）Day 23には認められず、下垂体の混合細胞浸潤は休薬期間後に部分的に回復し、時間の経過に伴い完全に回復すると考えられた（Perry et al, 2013）。

2.2.3 AMG 757：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（122516試験）

本試験では、カニクイザル（1群雌雄各4例）にAMG 757を0、50又は4500 µg/kgの用量で週1回、3カ月間、低速ボーラス静脈内注入したときの毒性及びTKを評価した。対照動物にはG42SuT希釈剤（10 mmol L-グルタミン酸、9% (w/v) 精製白糖、0.01% (w/v) ポリソルベート80、pH 4.2）及びIV溶液安定化剤（25 mmolクエン酸、1.25 mol/Lリシン、0.1% (w/v) ポリソルベート80、pH 7.0）を投与した。投与期間終了時のDay 92に全例について最終計画剖検を実施した。

以下の試験パラメータを評価した：一般状態（ケージサイド観察及び詳細な一般状態観察を含む）、体重、摂餌量、獣医学的身体検査、眼科学的検査、心電図検査、体温、神経学的検査、呼吸数、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査）、生体試料分析（ADA及びTK）、剖検、器官重量及びすべての組織の病理組織学的検査。

TK解析の結果を表 3に示す。AMG 757の曝露量は用量及び反復投与に伴って増加した。AMG 757の投与を受けた多くの動物で、試験終了時までにADAが検出された。

表 3 カニクイザルにAMG 757を3カ月間IV投与したときのTKパラメータ（雌雄併合）

Dose (µg/kg)		Day 1 C_0 (µg/mL)	Day 1 AUC_{last} (hr·µg/mL)	Day 22 C_0 (µg/mL)	Day 22 AUC_{last} (hr·µg/mL)	Day 85 C_0 (µg/mL)	Day 85 AUC_{last} (hr·µg/mL)
50	N	8	8	8	8	6[a]	6[a]
	Mean	1.37	74.4	2.05	195	2.33	272
	SD	0.0966	7.13	0.296	57.1	2.03	268
4500	N	8	8	8	8	8	8
	Mean	126	7000	222	20600	315	35500
	SD	14.9	602	28.6	5010	90.1	13200

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration (up to 168 hours); C_0 = calculated drug concentration at time 0 after an IV bolus dose; IV = intravenous

[a] There were insufficient data points to ascertain mean C_0 or AUC_{last} on day 85 for 2 animals.

AMG 757に関連した臨床病理学的変化は、4500 µg/kgで雄4例中2例及び雌4例中3例の軽微なリンパ球減少のみであった。病理組織学所見として、50 µg/kg以上の用量でAMG 757に関連した主にリンパ球からなる軽微から軽度の単核細胞浸潤を特徴とする変化が下垂体で観察された。浸潤は中間部と後葉の間の境界面に位置していたほか、中間部内に浸潤している例もあった。これは下垂体におけるDLL3の発現パターンに一致していた（123377試験）。下垂体前葉の好塩基球にも発現がみられたが、下垂体のこの部分には関連する浸潤は認められなかった。下垂体には組織傷害を示す病理組織学的特徴は認められなかった。

50 µg/kg以上の用量にみられたその他の病理組織学的所見としては、複数の組織（心臓、肺、脳及び胆嚢）で認められた、主に血管周囲に位置するリンパ球の小さい浸潤巣で構成される軽微な単核球及び／又は混合炎症性細胞浸潤であった。認められた細胞浸潤は、この動物種に共通して観察される自然発生的浸潤と組成、重症度及び分布の点で類似しているが、AMG 757を投与した動物の複数組織で発生率が増加した原因は、異物となる生物学的薬剤のIV投与及び／又はADAの存在と考えられた（Naylor et al, 2019、Rojko et al, 2014）。

以上、カニクイザルにAMG 757を50及び4500 µg/kgの用量で週1回、3カ月間、低速ボーラス静脈内注入したときの忍容性は良好であった。AMG 757に関連するすべての所見は、いずれも変化の程度／重症度が軽微から軽度であったことから、毒性変化ではないと考えられた。

2.2.4 muS757：BALB/cマウスを用いた1カ月間反復静脈内投与毒性試験（153960試験）

本試験は、マウスにおけるmuS757の毒性及びTKを評価するとともに、AMG 757をカニクイザルに投与したときに認められた変化と比較することを目的に実施した。

BALB/cマウスにmuS757を週1回4週間、ボーラス静脈内注入した。動物（1群雌雄各10例）にmuS757を0、50、500又は4500 µg/kgの用量でDay 1、8、15及び22に投与した。muS757の物理化学的特性により、マウスに投与可能なMFDは4500 µg/kgに制限された。TK評価用に設定した別のサテライト動物（1群雌雄各6例）に、同じ用法で投与した。最終投与7日後（Day 29）に計画剖検を実施した。

以下の試験パラメータを評価した：TK、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、機能観察総合評価法、臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）、器官重量、剖検及びすべての組織の病理組織学的検査。

TK解析の結果を表 4に示す。muS757の曝露量は特に500 µg/kg以上の用量で用量比例的かつ経時的に増加した。Day 1及び22の曝露量（AUC_{last}及びC_{max}）には性差は認められなかった。

表 4 カニクイザル及びマウスにおけるAMG 757及びmuS757のPK/TKパラメータ

				Day 1		Day 22	
Study	Molecule	Species	Dose (µg/kg)	C_0 or C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (hr*µg/mL)	C_0 or C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (hr*µg/mL)
1-month	AMG 757	Cyno		0.465	24.3	0.801	61.6
3-month	AMG 757	Cyno	50	1.37	74.4	2.05	195
1-month	muS757	Mouse		1.15	62.5	1.44	91.8
1-month	AMG 757	Cyno		9.41	490	12.5	861
1-month	muS757	Mouse	500	9.28	493	13.9	1110
1-month PK[a]	muS757	Mouse		8.08	500	11.5	754
1-month	AMG 757	Cyno		95.1	4950	62.3	1940
3-month	AMG 757	Cyno	4500	126	7000	222	20 600
1-month	muS757	Mouse		88.1	6080	171	150 000

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from zero up to the last concentration at the last measurable time point; C_0 = concentration at time 0; C_{max} = maximum serum concentration; muS757 = murine surrogate of AMG 757 muS757 = bispecific T cell engager with binding specificities for mouse//human DLL3, mouse CD3 and mouse FcRn.

Source: Toxicology studies: Study 153960 (1-month muS757 study); Study 121424 (1-month AMG 757 study); Study 122516 (3-month AMG 757 study); [a] Pharmacokinetic Study 154480 (Repeat-dose muS757)

途中死亡はみられず、muS757に関連した一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、神経学的評価及び器官重量の変化、並びに剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。

500 µg/kg以上でDay 29にmuS757投与に関連した軽微な臨床病理学的変化がみられたが、総白血球の軽微な減少（雌雄）、並びに不随するリンパ球及び好中球の減少（雄のみ）に限定されていた。また、雄のみで軽微なトリグリセリド減少が認められた（表 5）。

以上、BALB/cマウスにmuS757を週1回、4週間（Day 1、8、15及び22）、IV投与したときの忍容性は良好であり、500 µg/kg以上の群の雄でDay 29に軽微な白血球減少及び軽微なトリグリセリド減少が認められたのみであった。

2.3 遺伝毒性試験

AMG 757の遺伝毒性及び変異原性を評価する試験は実施していない。AMG 757はすべて天然のアミノ酸からなる遺伝子組換えBiTE®分子で、無機又は合成有機リンカー等の非タンパク部分は含まれていない。したがって、ICHガイドラインS6「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」（ICH S6R1, 2011）に基づき、遺伝毒性試験は実施及び計画していない。

2.4 がん原性試験（TK評価を含む）

ICHガイドラインS9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（ICH S9, 2010）に基づき、AMG 757のがん原性試験は計画及び実施していない。

2.5 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

FDAの提言に従い、マウスの胚・胎児発生に対するDLL3標的化BiTE®分子の影響の有無を評価するため、AMG 757のマウスサロゲート分子であるmuS757を開発した。AMG 757に対するmuS757の同等性を、モジュール2.6.2及びモジュール2.6.4に要約した特性及び*in vitro*生体活性、並びにマウスを用いた反復投与毒性試験（2.2.4項）に基づいて評価した。

2.5.1 muS757：マウスを用いた急速静脈注入による胚・胎児発生に関する試験（122517試験）

本試験では、妊娠Crl:CD1雌マウスに着床から硬口蓋閉鎖までmuS757を曝露したときの雌性マウス及び胚・胎児発生に及ぼす有害作用の有無を検討した。

適時交配した雌性マウス（1群22例）に、溶媒対照又はmuS757を500若しくは4500 µg/kgの用量で、GD 6及び13にボーラス静脈内注入した。muS757の物理化学的特性により、マウスに投与可能なMFDは4500 µg/kgに制限された。TK評価のため、別のサテライト群マウス（対照群に3例、各muS757群に9例）に同様に投与した。

すべてのマウスについて、母動物の生死、母動物の一般状態、母動物の体重、及び母動物の体重変化を調べた。また、主試験のマウスについて肉眼観察を実施し、卵巣及び子宮内容物（黄体の数及び分布、着床数、生存及び死亡胎児数、並びに早期及び後期吸収胚数）、並びに妊娠子宮重量を評価した。胎児について、外表、内臓及び／又は骨格異常の有無を検査した。母動物からGD 6の投与0.5、48及び168時間後、並びにGD 13の投与0.5、48及び120時間後に血液検体を採取し、muS757の血清中濃度及びTKを測定した。GD 18に胎児血液検体を採取し、胎児内muS757濃度を測定して母動物・胎児曝露量比を算出した。本試験のTKをモジュール2.6.4 3.2.2項に示す。

muS757関連の一般状態の変化及びGD 18より前の出産は認められなかった。計画剖検日の剖検実施前に出産したため途中安楽死させた4例の雌（対照群の2例及び500 µg/kg群の2例）を除いて、すべてのマウスが計画剖検日まで生存した。

妊娠雌マウスにおけるmuS757曝露量は、ほぼ用量に比例して増加した（2倍以内）。実施した1回の検体採取時点（GD 13の投与120時間後）での胎児血清中濃度は、母動物血清中濃度の22.6～29.5倍であった。muS757の胎児血清中濃度は、マウスエフェクター細胞によるマウスDLL3発現細胞株の再指向性溶解を評価した*in vitro*試験のEC_{50}値を十分に上回ったことから、薬理作用がみられる濃度と考えられた（モジュール2.6.2 2.2.3項）。

平均母動物体重及び体重増加量を含むいずれの母動物パラメータにも、muS757関連の変化は認められなかった。また、いずれの用量においても、muS757関連の肉眼所見はみられず、いずれの卵巣、子宮及び同腹児パラメータにも変化は認められなかった。muS757の投与による胎児外表、内臓及び骨格の奇形及び変異は認められなかった。

以上、いずれの用量においても、muS757関連の母動物の変化は認められなかった。胚・胎児の生存性及び成長にはmuS757関連の変化はみられず、外表、内臓及び骨格検査ではmuS757関連の奇形及び変異は認められなかった。

2.6　局所刺激性試験

AMG 757の局所刺激性を、カニクイザルを用いた28日間反復投与毒性試験（121424試験）、3カ月間反復投与毒性試験（122516試験）及び単回皮下（SC）投与局所刺激性試験（157064試験）で評価した。

28日間反復投与毒性試験では、IV投与部位に刺激性及びその他の局所変化は認められなかった。2例の動物で投与部位に病理組織学的変化（出血及び血栓）が認められたが、これらは投与処置に起因するもので、AMG 757に関連するものではなかった。このIV投与部位の出血及び血管血栓は、反復IVカテーテル挿入に付随することが報告されている（Morton et al, 1997）。

3カ月間反復投与毒性試験では、対照群及びAMG 757投与群の動物に、IV投与部位の病理組織学的所見（すなわち、単核細胞浸潤、壊死、線維増殖）が認められたが、これらは投与処置に起因するものであり、AMG 757には関連しないと考えられた。

SC局所刺激性試験では、3例の雌カニクイザルを単回投与群に割り付け、Day 1に対照物質（G42SuT希釈剤、2.2.3項）を左肩甲骨部位に、AMG 757を1 mg/kgの用量で右肩甲骨部位に、それぞれ注射した。

Day 4に投与部位の皮膚生検検体を採取したところ、観察／皮膚採点及び病理組織学的検査においてAMG 757関連の変化は認められなかった。SC投与部位の投与関連の変化は軽微であり、所見として、血管周囲単核細胞浸潤が対照物質投与部位の1カ所に、皮膚好中球浸潤が対照物質投与部位の1カ所及びAMG 757投与部位の1カ所に、それぞれ認められた。これらの変化の発現頻度及び重症度は、対照物質投与部位とAMG 757投与部位で同程度であったことから、AMG 757の直接作用に起因するものではなく、投与処置による二次的な変化と考えられた。

以上、非臨床局所刺激性評価により、AMG 757をヒトにSC投与しても安全性に問題なく、AMG 757関連の局所変化が発現する可能性は低いことが示唆される。

3. 考察及び結論

AMG 757の非臨床安全性を、カニクイザルを用いた10日間、28日間及び3カ月間反復IV投与毒性試験、並びにマウスを用いたマウスサロゲートmuS757の28日間反復投与毒性試験及び胚・胎児発生に関する試験結果に基づいて評価した。

AMG 757関連の変化は、T細胞活性化及び少数の正常組織（下垂体、脳及び膵島）に存在するDLL3発現細胞の再指向性溶解を引き起こす分子で想定されるものであった（モジュール2.6.2 3項）。

探索的10日間反復投与毒性試験におけるAMG 757関連の変化は、リンパ球集団減少、並びにCRP、MCP-1及びIFN-γ血清中濃度の軽微な増加のみであった。AMG 757関連の病理組織学的所見は、肺、肝臓及び下垂体における軽微及び軽度の混合炎症性細胞浸潤のみであり、いずれの組織にも細胞傷害は認められなかった。

28日間反復投与毒性試験での再指向性細胞溶解に一致するAMG 757関連の変化は、4500 µg/kgでの2回目投与後にみられた軽度のリンパ球集団減少のみであったが、AMG 757関連の組織損傷及び細胞溶解は認められなかった。50及び500 µg/kgで軽微から軽度の混合細胞浸潤が観察されたが、組織の損傷及び修復は認められなかった。免疫組織化学的検査で下垂体におけるDLL3の細胞質染色が検出されたが、このことは、膜上のDLL3発現がアッセイの検出限界未満であった可能性を否定するものではない。検出可能なDLL3発現がみられた2つの組織（脳及び膵島）には、付随するAMG 757関連の所見は認められなかった（モジュール2.6.2 3項）。その他のAMG 757関連の変化は、500 µg/kg以上でDay 2にみられた（しかしDay 23にはみられなかった）ごく軽度の心拍数増加のみであった。すべてのAMG 757関連の変化は完全又は部分的な回復性を示し、いずれの変化も毒性変化ではないと考えられた。

いかなるAMG 757関連の毒性所見も認められなかったことに基づき、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は4500 µg/kgと判断した。試験終了時に4500 µg/kg群の全例で検出可能なADAが認められたことから、より慎重に500 µg/kg群のデータを用いた予測安全域の算出も行った。それはこの用量でも毒性所見はみられず、この群の一部の動物では試験終了時にADAが検出されなかったためである。

3カ月間反復投与毒性試験におけるAMG 757関連の臨床病理学的変化は、4500 µg/kgでの軽微なリンパ球減少のみであった。また、AMG 757関連の下垂体の変化が50 µg/kg以上で観察され、その特徴は主にリンパ球からなる軽微から軽度の単核細胞浸潤であったが、下垂体における組織傷害のエビデンスは認められなかった。

以上、標的（DLL3）の組織内分布が限定的で発現レベルも低いことを考慮すると、カニクイザルの毒性試験におけるAMG 757関連の変化は想定される作用機序に一致している。毒性試験で観察されたAMG 757関連の変化は可逆的かつ臨床モニタリング（バイタルサイン、心電図、臨床徴候及び症状）が可能である（モジュール2.5.6 4.2項）。

AMG 757のマウスサロゲートであるmuS757も極めて忍容性が良好で、それぞれの毒性試験において被験物質関連の毒性変化は認められなかった。カニクイザル及びマウスの毒性試験で検出された

軽微から軽度の変化を表 5に要約する。これらの結果から、muS757の無毒性量（NOAEL）は4500 µg/kgと判断された。

まとめると、muS757はAMG 757に類似した結合親和性、生物活性（モジュール2.6.2）、薬物動態（PK）（モジュール2.6.4）及び忍容性プロファイルを示すことから、本分子は胚・胎児発生毒性評価に適したサロゲート分子と考えられた。

これらのデータに基づき、FDA、EMA、医薬品・医療製品規制庁（MHRA、英国）及びスイス医薬品局から、muS757がマウスにおける胚・胎児発生毒性評価に関してAMG 757の正当なサロゲートであることに同意を得ている。

胚・胎児発生に関する試験では、いずれの用量においてもmuS757関連の母動物の変化は認められず、また胚・胎児の生存性及び成長にmuS757関連の影響はみられず、外表、内臓及び骨格検査でmuS757関連の奇形及び変異は認められなかった。

非臨床局所刺激性評価は、カニクイザルを用いた28日間及び3カ月間反復IV投与毒性試験、並びにSC局所刺激性試験に基づいて実施した。この結果から、AMG 757をヒトにSC投与しても安全性に問題はなく、AMG 757関連の局所変化が生じる可能性は低いことが示された。

総括として、AMG 757及びそのサロゲートの毒性プロファイルにより、これらの分子は良好な忍容性を有しており、薬理作用と関連のない全身性の変化を引き起こさないと考えられた。

表 5　カニクイザルとマウスとの非臨床所見の比較

Finding	Molecule: Duration:	muS757 1-month	AMG 757 1-month	AMG 757 3-month
Minimal decrease in lymphocytes		Yes	Yes	Yes
Minimal decrease in triglycerides		Yes	No	No
Minimal to mild inflammatory cell infiltrate in the pituitary gland		No	Yes	Yes
Minimal increase in heart rate		NA	Yes	No

muS757 = bispecific T cell engager with binding specificities for mouse//human DLL3, mouse CD3 and mouse FcRn.

Source: Toxicology studies: Study 153960 (1-month muS757 study); Study 121424 (1-month AMG 757 study); Study 122516 (3-month AMG 757 study)

4.　参考文献

Germuth FG, Pace MG, Tippett JC. Comparative histologic and immunologic studies in rabbits of induced hypersensitivity of the serum sickness type. II. The effect of sensitization to homologous and cross-reactive antigens on the rate of antigen elimination and the development of allergic lesions. *The Journal of experimental medicine.* 1955;101:135-150.

Germuth FG, Jr. A comparative histologic and immunologic study in rabbits of induced hypersensitivity of the serum sickness type. *The Journal of experimental medicine.* 1953;97:257-282.

ICH Harmonized Tripartite Guideline. S6 (R1): Addendum to ICH S6: Preclinical Safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals, 2011.　ICH Guideline S6(R1) June 2011.

ICH Harmonized Tripartite Guideline. S9: Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals, 2010.　ICH Guideline S9.

ICH Harmonized Tripartite Guideline. S9 Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals Questions and Answers ICH 2018

Morton D, Safron JA, Glosson J, et al. Histologic lesions associated with intravenous infusions of large volumes of isotonic saline solution in rats for 30 days. *Toxicologic pathology.* 1997;25:390-394.

Naylor SW, Czajkowski M, Harvey W, et al. Histopathological Findings in Cynomolgus Macaques (Macaca fascicularis) Consistent with Secondary Immunological Reaction to Biotherapeutics with an Emphasis on the CNS and Eye. *Toxicol Pathol.* 2019; 47:165-173.

Offner S, Hofmeister R, Romaniuk A, Kufer P, Baeuerle PA. Induction of regular cytolytic T cell synapses by bispecific single-chain antibody constructs on MHC class I-negative tumor cells. *Molecular immunology.* 2006;43:763-771.

Perry R, Farris G, Bienvenu JG, et al. Society of Toxicologic Pathology position paper on best practices on recovery studies: the role of the anatomic pathologist. *Toxicologic pathology.* 2013;41:1159-1169.

Ponce R, Abad L, Amaravadi L, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: assessment and interpretation of nonclinical safety studies. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP.* 2009;54:164-182.

Rojko JL, Evans MG, Price SA, et al. Formation, clearance, deposition, pathogenicity, and identification of biopharmaceutical-related immune complexes: review and case studies. *Toxicologic pathology.* 2014;42:725-764.

Rossi E, Sgambato A, De Chiara G, et al. Endocrinopathies induced by immune-checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Expert review of clinical pharmacology.* 2016;9:419-428.

Schrieber L and Penny R. Factors influencing immune complex localisation. *Rheumatology international.* 1984;4:95-109.

Torino F, Corsello SM, Salvatori R. Endocrinological side-effects of immune checkpoint inhibitors. *Current opinion in oncology.* 2016;28:278-287.

表一覧

表 1 毒性試験：一覧表 2
表 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 3
表 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 4
表 4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 5
表 5 単回投与毒性試験 6
表 6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 7
表 7a 反復投与毒性試験：重要な試験 9
表 7b 反復投与毒性試験：重要な試験 14
表 8 遺伝毒性試験：*In vitro* 17
表 9 遺伝毒性試験：*In vivo* 18
表 10 がん原性試験 19
表 11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 20
表 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（重要な試験） 21
表 13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験） 22
表 14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験（重要な試験） 26
表 15 幼若動物を用いた試験 27
表 16 局所刺激性試験（*In vivo*） 28
表 17 その他の試験 30

表 1　毒性試験：一覧表

被験物質：AMG 757又はmuS757

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Single-dose Toxicity	No single-dose studies						
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (slow bolus)	10-days (Days 1 & 8)	AMG 757: 100, 1000	Non-GLP	[redacted]	121423 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Mouse/ BALB/c	Intravenous (bolus)	28-days (once weekly)	muS757: 0, 50, 500, 4500	Non-GLP	[redacted]	153960 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (infusion, 4-minutes)	28-days (once weekly)	AMG 757: 0, 50, 500, 4500	GLP	[redacted]	121424 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (slow push)	3 months (once weekly)	AMG 757: 0, 50, 4500	GLP	[redacted]	122516 ([redacted])
Genotoxicity	No genotoxicity studies						
Carcinogenicity	No carcinogenicity studies						
Reproductive & Developmental Toxicity	Mouse/ Crl:CD1 (ICR)	Intravenous (bolus)	Twice (GD 6 & GD 13)	muS757 : 0, 500, 4500	GLP	[redacted]	122517 ([redacted])
Local Tolerance	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous	Single-dose	AMG 757: 0, 1000	Non-GLP	[redacted]	157064 ([redacted])
Other Toxicity Studies	No Other Toxicity studies						

[redacted]; CRO = Contract Research Organization; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICR = Institute of Cancer Research;

表 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

被験物質：AMG 757又はmuS757

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (µg/kg)	GLP Compliance	Amgen Study No.
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (slow bolus)	100, 1000	Non-GLP	121423
Repeat-dose Toxicity	Mouse/ BALB/c	Intravenous (bolus)	50, 500, 4500	Non-GLP	153960
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (infusion, 4-minutes)	50, 500, 4500	GLP	121424
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (slow push)	50, 4500	GLP	122516
Reproductive & Developmental Toxicity	Mouse/ Crl:CD1 (ICR)	Intravenous (bolus)	500, 4500	GLP	122517
Local Tolerance	Monkey/ Cynomolgus	Subcutaneous	1000	Non-GLP	157064

GLP = Good Laboratory Practice; ICR = Institute of Cancer Research

表 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

被験物質：AMG 757又はmuS757

Daily Dose (µg/kg)	Mouse / BALB/c / Crl:CD1(ICR)		Monkey / Cynomolgus		Human	
	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]
4500 (Study 153960)	150000 [b, d]	171	—	—	[c]	[c]
4500 (Day 22) (Study 121424)	—	—	1940 [d]	62.3 [e]		
4500 (Day 85) (Study 122516)	—	—	35500 [d,f]	315 [e,f]		
4500 (GD13) (Study 122517)	2300 [d,g]	77 [e,g]	—	—		

AUC = area under the concentration-time curve during the dosing interval; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum observed concentration during the dosing interval; C_0 = calculated drug concentration at time zero after an IV bolus dose; EFD = embryo-fetal development; GD = gestational day; IV = intravenous; NOAEL = no observable adverse effect level.

[a] Mean AUC values are at steady-state, reported as µg•hr/mL. Mean C_{max} values are reported as µg/mL. Values for repeat-dose studies are reported for the study of the longest duration at the specified dose level. Sexes are combined unless specified otherwise.

[b] Study 153960, repeat-dose (once weekly, 4 doses), IV (bolus), NOAEL = 4500 µg/kg.

[c] not applicable

[d] AUC_{last}.

[e] C_0 = calculated drug concentration at time zero after an IV bolus dose.

[f] Study 122516, repeat-dose, once weekly for 3-months, IV bolus, highest non-severely toxic dose = 4500 µg/kg.

[g] Study 122517, EFD, IV bolus, GD6 and GD13.

表 4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：AMG 757又はmuS757

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities					Amgen Study Number	Type of Study
		A	B	C	D	E		
Proposed Specification								
[redacted]	98.7	NS	NS	NS	NS	NS	121423	Repeat-dose
[redacted]	100	NS	NS	NS	NS	NS	153960	Repeat-dose
[redacted]	81.6 or 100	NS	NS	NS	NS	NS	121424	Repeat-dose
[redacted]	82.5 or 100	NS	NS	NS	NS	NS	122516	Repeat-dose
[redacted]	91.4 or 99.9	NS	NS	NS	NS	NS	122517	Reproductive & Developmental Toxicity
[redacted]	>95	NS	NS	NS	NS	NS	157064	Local Tolerance

NS = not specified

表 5　単回投与毒性試験

被験物質：AMG 757

単回投与毒性試験は実施していない。

表 6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AMG 757又はmuS757

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (μg/kg)	Sex and No. per Group	NOAEL (μg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (10 mM Glutamate, 9% (w/v) Sucrose, 0.01% (w/v) Polysorbate 80, pH 4.2)	Twice (Day 1 & Day 8)	AMG 757: 100, 1000	Female 2/Group	NA	Administration of AMG 757 BiTE induced slight test article-related increases in the circulating concentrations of IFNγ and MCP-1. Concentrations of IFNγ were higher in 2 animals after the second dose administration of 1000 μg/kg (Day 8). MCP-1 concentrations peaked after the first administration of 100 μg/kg and after both the first and second administrations of 1000 μg/kg with concentration changes being higher in high-dose animals. Circulating concentrations generally returned to pre-dose values by the end of the study. No significant increases in IL-6 and TNFα levels were detected.	121423 ([redacted]) (non GLP)

Footnotes included on the last page of this table.

表 6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：AMG 757又はmuS757

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (µg/kg)	Sex and No. per Group	NOAEL (µg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
Mouse/ BALB/c	Intravenous (bolus) (10 mM glutamic acid, 9% (w/v) sucrose, 0.01% (w/v) polysorbate 80, pH 4.2) IVSS (Intravenous Solution Stabilizer – 25 mM citric acid, 1.25 M lysine HCl, 0.1% (w/v) polysorbate 80, pH 7)	Repeat-dosing (once weekly for 4 weeks)	muS757: 0, 50, 500, 4500	Male & Female 10/sex/group	4500	Administration of muS757 by weekly intravenous injection for 4 weeks (Days 1, 8, 15 and 22) was well tolerated in BALB/c mice with only a minimal decrease in white blood cells and a minimal decrease in triglycerides in males on Day 29 at ≥ 500 µg/kg. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was considered to be 4500 µg/kg. At the NOAEL, up to 168 hours following the injection on Day 22, the mean C_{max} and AUC values were 171 µg/mL and 150000 µg•h/mL respectively.	153960 (non-GLP)

GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level.

表 7a　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 757: 28-Day Intravenous Infusion Toxicology Study in the Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period					Test Article: AMG 757		
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: 28-days (once weekly; 4 total doses)					Amgen S udy No. 121424		
Initial Age: 2.5 to 4.6 years	Duration of Postdose: 28-days					[redacted]Study No. [redacted]		
Date of First Dose: 2[redacted]20[redacted]	Method of Administration: Intravenous infusion (4-minute infusion)					GLP C mpliance: GLP		
Vehicle/Formulation: BiTE HLE Diluent;10 mM L-glutamic acid, 9% (w/v) sucrose, 0.01% (w/v) polysorbate 80, pH 4.2								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: Not defined								
Daily Dose (µg/kg)	0		50		500		4500	
Number of Animals [a]	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3
Toxicokinetics: Mean (SD) (Sex combined)								
AUC_{last} (µg•hr/mL)								
Day 1	NR		24.3 (21.9)		490 (139)		4950 (280)	
Day 22	NR		61.6 (25.6)		861 (662)		1940 (2570)	
C_0 (µg/mL)								
Day 1	NR		0.465 (0.404)		9.41 (3.50)		95.1 (8.33)	
Day22	NR		0.801 (0.477)		12.5 (4.83)		62.3 (46.6)	

Footnotes included on the last page of this table.

表 7a　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 121424
Daily Dose (µg/kg)	0		50		500		4500	
Number of Animals [a]	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (% [b, c])	2.90 kg	3.54 kg	—	—	—	—	—	—
Food Consumption (% [b, c, d])	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations [e]	—	—	—	—	—	—	—	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Respiration Rate (breaths/min)	—	—	—	—	—	—	—	—
Day 1 (pretreatment)	52.80	40.00	46.67	41.33	53.60	44.80	54.67	46.67
Day 1 (post-treatment)	46.40	48.00	45.33	46.67	46.40	44.80	42.67	48.00
Day 8	53.60	45.60	45.33	46.67	52.00	44.00	53.33	46.00
Day 15	41.60	45.60	44.00	44.00	43.60	41.60	44.00	48.00
Day 22	47.20	44.00	52.00	44.00	47.20	42.40	53.33	48.00
Neurologic Examinations	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiography								
Heartrate (bpm) [f]								
Pre-dose (1 hour)	182.70		-0.88		3.67		-3.05	
Day 2 (1 hour)	182.52		-9.39		-2.98		-2.11	
Day 23 (1 hour)	170.87		-6.40		-0.49		1.12	
R-R interval (ms) [f]								
Pre-dose (1 hour)	341.68		2.65		-4.45		3.67	
Day 2 (1 hour)	331.45		11.02		5.55		2.08	
Day 23 (1 hour)	358.35		6.44		-0.23		-2.47	

Footnotes included on the last page of this table.

表 7a　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 121424
Daily Dose (µg/kg)	0		50		500		4500	
Number of Animals [a]	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3
P-R interval (ms) [f]								
Pre-dose (1 hour)	80.75		5.78		12.09		8.40	
Day 2 (1 hour)	82.43		3.83		0.68		0.82	
Day 23 (1 hour)	95.27		-4.32		-6.48		-6.75	
Q-T interval (ms) [f]								
Pre-dose (1 hour)	204.19		0.69		-1.06		7.82	
Day 2 (1 hour)	199.57		6.60		-2.39		-3.12	
Day 23 (1 hour)	207.98		0.17		-2.34		-7.63	
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Coagulation	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Cerebrospinal Fluid	—	—	—	—	—	—	—	—
Flow Cytometry								
Total T-Lymphocytes (per µL) [g]								
Day 1								
4 hours	3360.60		-13.7		28.0		-13.9	
24 hours	3958.80		-3.2		-5.2		-35.9	
Day 8								
4 hours	3412.60		2.9		-3.7		-80.8 *	
24 hours	3758.60		7.6		13.9		-50.5	
Day 29	4343.80		-10.6		-21.5		-17.0	

Footnotes included on the last page of this table.

表 7a　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 121424
Daily Dose (µg/kg)	0		50		500		4500	
Number of Animals [a]	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3
Th- (helper) Lymphocytes (per µL) [g]								
Day 1								
4 hours	1848.40		-13.5		22.1		-23.4	
24 hours	2377.60		-12.8		-18.5		-49.9	
Day 8								
4 hours	2000.60		-6.3		-16.9		-80.0 *	
24 hours	2324.20		-0.14		0.67		-63.9	
Day 29	2647.80		-13.2		-24.2		-33.2	
Tc- (T-cytotoxic) Lymphocytes (per µL) [g]								
Day 1								
4 hours	1322.00		24.1		72.0		-5.12	
24 hours	1344.40		19.4		24.0		-17.7	
Day 8								
4 hours	1163.60		29.0		25.0		-72.3	
24 hours	1216.20		28.7		49.9		-34.7	
Day 29	1428.20		-0.36		-8.53		2.16	
Organ Weights (g, % [c])	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology [e]	—	—	—	—	—	—	—	—
Histopathology [e]								
Pituitary Gland								
Cyst								
Pars intermedia	0	1	1	1	0	0	0	0

Footnotes included on the last page of this table.

表 7a　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 121424
Daily Dose (µg/kg)	0		50		500		4500	
Number of Animals [a]	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3	M: 3 (2)	F: 3 (2)	M: 3	F: 3
Histopathology [e]								
Infiltration, mixed cell								
Minimal	0	0	2	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	1	0	1	1	0
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	1	0	0	0	0	1	0
Postdose Evaluation (Recovery, Day 56)								
Number Evaluated	2	2	NA	NA	2	2	NA	NA
Histopathology [e]								
Pituitary Gland								
Cyst								
Pars intermedia	0	1	NA	NA	0	0	NA	NA
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	0	0	NA	NA	2	1	NA	NA

− = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 168 hrs); C_0 = calculated drug concentration at time zero after an IV bolus dose; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NR = not reported; SD = standard deviation.

* $p<0.05$; using ANOVA with Dunnett's test.

a Main study (Recovery) animals.

b At end of dosing period.

c For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d Qualitative food consumption evaluation was performed daily.

e Incidence.

f For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

g For controls, group absolute values are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences, with sexes combined.).

表 7b　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 757: 3-Month Intravenous Toxicology Study in the Cynomolgus Monkey		Test Article: AMG 757 Batch: 0010352681
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: 3-months (once weekly; 13 total doses)		Amgen S udy No. 122516
Initial Age: 2.2 to 2.4 years	Duration of Postdose: None		[redacted]Study No. [redacted]
Date of First Dose: 0[redacted]20[redacted]	Method of Administration: Intravenous (slow bolus)		GLP C mpliance: GLP
Vehicle/Formulation: G42SuT Diluent (10 mM L-glutamic acid, 9% [w/v] sucrose, 0.01% [w/v] polysorbate 80, pH 4.2) and intravenous solution stabilizer (25 mM Citric acid, 1.25 M Lysine HCl, 0.1% [w/v] Polysorbate 80, pH 7.0) Special Features: None No Observed Adverse Effect Level: 4500 µg/kg/dose			
Daily Dose (µg/kg)	0	50	4500
Number of Animals	M: 4 F: 4 (Sexes combined)	M: 4 F: 4 (Sexes combined)	M: 4 F: 4 (Sexes combined)
Toxicokinetics: Mean (SD)			
AUC_{last} (µg•hr/mL)			
Day 1	NR	74.4 (7.13)	7000 (602)
Day 22	NR	195 (57.1)	20600 (5010)
Day 85 [a]	NR	272 [a] (268)	35500 (13200)
C_0 (µg/mL)			
Day 1	NR	1.37 (0.0966)	126 (14.9)
Day 22	NR	2.05 (0.296)	222 (28.6)
Day 85	NR	2.33 [a] (2.03)	315 (90.1)
ADA (by Day 85)	NR	6 of 8 developed (75%)	7 of 8 developed (87.5%)

Footnotes included on the last page of this table.

表 7b　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity							Amgen Study No. 122516
Daily Dose (µg/kg)	0		50		4500		
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	
Noteworthy Findings							
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	
Body Weight (% [b, c])	3.45 kg	2.90 kg	—	—	—	—	
Food Consumption (% [b, c, d])	—	—	—	—	—	—	
Clinical Observations [e]	—	—	—	—	—	—	
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	
Body Temperature (°C)	—	—	—	—	—	—	
Neurologic Examinations	—	—	—	—	—	—	
Respiration Rates (breaths/min)	—	—	—	—	—	—	
Electrocardiography	—	—	—	—	—	—	
Rhythm/Waverform	—	—	—	—	—	—	
Quantitative evaluation	—	—	—	—	—	—	
Hematology							
Lymphocytes							
Decreased, minimal	0	0	0	0	2	3	
Coagulation	—	—	—	—	—	—	
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	
Organ Weights (g, % [c])	—	—	—	—	—	—	
Gross Pathology [e]	—	—	—	—	—	—	

Footnotes included on the last page of this table.

表 7b　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：AMG 757

Repeat-dose Toxicity							Amgen Study No. 122516
Daily Dose (µg/kg)	0		50		4500		
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	
Histopathology [e]							
Pituitary Gland							
Infiltration, mononuclear cells; pars intermedia							
Minimal	0	0	1	1	2	0	
Mild	0	0	0	1	0	0	
Infiltration, mononuclear cells; pars nervosa							
Minimal	1	0	0	0	0	0	

− = no noteworthy findings; ADA = anti-drug antiboty; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to the last quantifiable concentration (up to 168 hour); C_0 = drug concentration at time zero after an IV bolus dose; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; M = male; NR = not reported; SD = standard deviaiton.

[a] There were insufficient data points to ascertain mean C_0 or AUC_{last} on Day 85 for Animal Nos. 2002 and 2004.

[b] At end of dosing period.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

[d] A qualitative assessment of food consumption was daily collected.

[e] Incidence.

表 8　遺伝毒性試験：*In vitro*

被験物質：AMG 757

*In vitro*遺伝毒性試験は実施していない。

表 9　遺伝毒性試験：*In vivo*

被験物質：AMG 757

*In vivo*遺伝毒性試験は実施していない。

表 10　がん原性試験

被験物質：AMG 757

がん原性試験は実施していない。

表 11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AMG 757

重要な試験以外の生殖発生毒性試験は実施していない。

表 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（重要な試験）

被験物質：AMG 757

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。

表 13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）

被験物質：muS757（AMG 757のマウスサロゲート）

Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-fetal Development Species/Strain: Mouse/Crl:CD1 (ICR) Initial Age: 70 to 84 days Date of First Dose: 1[redacted]20[redacted] Special Features: None No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 4500 µg/kg F_1 Litters: 4500 µg/kg	Report Title: muS757: An Embryo-fetal Development Study by Intravenous (Bolus) Injection in Mice Duration of Dosing: Twice (GD 6 & 13) Day of Mating: GD 0 Day of C-section: GD 18 Method of Administration: Intravenous (bolus) Vehicle/Formulation: 10 mM glutamic acid, 9% (w/v) sucrose, 0.01% (w/v) polysorbate 80, pH 4.2 IV Solution Stabilizer: 25 mM Citric acid, 1.25 M Lysine HCl, 0.1% (w/v) Polysorbate 80, pH 7.0	Test Article: muS757 (murine surrogate of AMG 757) Batch: [redacted] Amgen Study No. 122517 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: GLP	
Daily Dose (µg/kg)		0 (Vehicle)	500	4500
Dams/Does:	Toxicokinetics: Mean			
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·h/mL)			
	GD 6	NA	451000	4170000
	GD 13	NA	149000	2300000
	C_0 (ng/mL)			
	GD 6	NA	9410	79500
	GD 13	NA	4740	77000
	No. Mated	22	22	22
	No. Pregnant	17	18	15
	No. Died or Euthanized	2	1	0
	No. Aborted or With Total Resorption of Litter	7	9	9
	Clinical Observations [a]	—	—	—
	Necropsy Observations [a]	—	—	—
	Body Weight (g, % [b, c])	54.59	57.72 (5.72)	54.48 (7.12)

Footnotes included on the last page of this table.

表 13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）（続き）

被験物質：muS757（AMG 757のマウスサロゲート）

Reproductive and Developmental Toxicity				Amgen Study No. 122517
Daily Dose (μg/kg)		0 (Vehicle)	500	4500
Dams/Does:	Mean No. Corpora Lutea	13.2	14.0	14.4
	Mean No. Implantations	12.3	13.4	13.3
	Mean % Preimplantation Loss/Animal	6.00	4.24	6.84
Litters:	No. Litters Evaluated	17	18	15
	Mean No. Live Fetuses	11.6	12.5	12.3
	Mean No. Early Resorptions	0.5	0.7	0.7
	No. of Litters With Dead Fetuses	0	0	0.1
	Mean % Post implantation Loss/Animal	5.77	6.54	7.36
	Mean Fetal Body Weight (g)	1.377	1.372	1.373
	Fetal Sex Ratios (% Males)	48.79	49.07	50.02
	Fetal Anomalies (No. of Fetuses and Litter % of fetuses)	43 (41.62)	61 (53.36)	45 (47.48)
	Gross External	—	—	—
	Visceral Anomalies	—	—	—
	Skeletal Anomalies			
	All Classifications			
	No. of Fetuses	43	61	45
	Litter % of fetuses	41.62	53.36	47.48
	Variation			
	No. of Fetuses	43	61	45
	Litter % of fetuses	41.62	53.36	47.48

Footnotes included on the last page of this table.

表 13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）（続き）

被験物質：muS757（AMG 757のマウスサロゲート）

Reproductive and Developmental Toxicity			Amgen Study No. 122517
Daily Dose (μg/kg)	0 (Vehicle)	500	4500
Pelvic Girdle, malpositioned, both			
No. of Fetuses	12 (11.14)	7 (5.91)	12 (12.11)
Litter % of fetuses	5 (29.4)	4 (22.2)	5 (33.3)
Skull			
Hyoid body, Unossified			
No. of Fetuses	2 (1.96)	0 (0.00)	0 (0.00)
Litter % of fetuses	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)
Suture bone, Supernumerary site			
No. of Fetuses	19 (18.35)	23 (19.03)	14 (14.66)
Litter % of fetuses	11 (64.7)	9 (50.0)	7 (46.7)
Sternebra			
Sternebra, 1 or more, Fused			
No. of Fetuses	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.11)
Litter % of fetuses	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (6.7)
Sternebra, 1 or more, Misshapen			
No. of Fetuses	1 (0.98)	1 (1.11)	6 (6.19)
Litter % of fetuses	1 (5.9)	1 (5.6)	5 (33.3)
Sternebra, 1 or more, Supernumerary site			
No. of Fetuses	0 (0.00)	2 (1.85)	1 (1.33)
Litter % of fetuses	0 (0.0)	1 (5.6)	1 (6.7)
Sternebra, 1 or more, Incomplete ossification			
No. of Fetuses	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (3.02)
Litter % of fetuses	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (13.3)

Footnotes included on the last page of this table.

表 13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）（続き）

被験物質：muS757（AMG 757のマウスサロゲート）

Reproductive and Developmental Toxicity			Amgen Study No. 122517
Daily Dose (μg/kg)	0 (Vehicle)	500	4500
Supernumerary rib			
Cervical, 1 or more, Full			
Fetuses n, (%)	0 (0.00)	1 (0.69)	1 (1.33)
Litters n, (%)	0 (0.0)	1 (5.6)	1 (6.7)
Cervical, 1 or more, Short			
Fetuses n, (%)	19 (18.24)	21 (18.41)	20 (21.66)
Litters n, (%)	7 (41.2)	10 (55.6)	9 (60.0)
Thoracolumbar, 1 or more, Full			
Fetuses n, (%)	2 (1.68)	16 (14.42)*	2 (2.44)
Litters n, (%)	1 (5.9)	7 (38.9)	2 (13.3)
Thoracolumbar, 1 or more, Short			
Fetuses n, (%)	4 (4.51)	12 (10.68)	3 (3.00)
Litters n, (%)	2 (11.8)	8 (44.4)	2 (13.3)
Vertebra			
Cervical arch, 1 or more, Incomplete ossification			
Fetuses n, (%)	2 (2.16)	3 (2.65)	5 (5.30)
Litters n, (%)	2 (11.8)	2 (11.1)	4 (26.7)
Total Affected Fetuses (Litters)	—	—	—

− = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-last}}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to the last quantifiable timepoint (up to 168 hrs for GD 6 and 120 hrs for GD 13); C_0 = maximum observed concentration over a dosing interval; C-section = Cesarean section; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICR = Institute of Cancer Research; IV = intravenous; NA = not applicable.

* $p \leq 0.05$; using Kruskal-Wallis & Dunn's tests.

[a] Incidence

[b] At the end of the dosing period.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験（重要な試験）

被験物質：AMG 757

出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は実施していない。

表 15　幼若動物を用いた試験

被験物質：AMG 757

AMG 757の幼若動物に対する影響を評価する試験は実施していない。

表 16　局所刺激性試験（*In vivo*）

被験物質：AMG 757

Species/ Strain	Method of Administration	Doses [a] (µg/kg)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Monkey/ Cynomolgus	SC	1.00 (mg/kg)	Female 3/group	In a SC local tolerance study, skin biopsies of the injection sites were collected on Day 4, and there were no AMG 757-related changes in observations/dermal scoring and/or microscopic examinations. Treatment-related changes at the SC administration sites were minimal and included perivascular mononuclear cell infiltrates at one control article injection site and dermal neutrophilic infiltrates at one control article and one AMG 757 injection site. These changes were considered secondary to the injection procedure, because they were similar in incidence and severity for the control and AMG 757 test sites.	1 4 ([redacted] (no LP)
Monkey/ Cynomolgus	IV (4-min infusion)	0, 50, 500, 4500	Male & Female 3/sex/group (main study), 2/sex/group (Groups 1 and 3 only (recovery))	In a 28-day study (Study 121424), no evidence of irritation or other local effects at the IV administration sites were observed. Two (2) animals had light microscopic changes at the administration site (hemorrhage and thrombus) that were attributed to the infusion procedure and not AMG 757-related. Hemorrhage and vascular thrombosis at IV infusion administration sites have been reported to be associated with repeated IV catheter insertion (Morton et al, 1997).	12 24 [redacted] G P

Footnotes included on the last page of this table.

表16　局所刺激性試験（*In vivo*）（続き）

被験物質：AMG 757

Species/ Strain	Method of Administration	Doses (µg/kg)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Monkey/ Cynomolgus	IV (slow bolus)	0, 50, 4500	Male & Female 4/sex/group	In a 3-month study (Study 122516), the IV administration site in animals administered vehicle control and AMG 757 had light microscopic observations (i.e., mononuclear cell infiltrates, necrosis, fibroplasia) that were attributed to the injection procedure and considered unrelated to AMG 757.	1　6 [redacted] G　P)

CRL = Charles River Laboratories; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

[a] Unless otherwise specified

表 17　その他の試験

被験物質：AMG 757

その他の試験は実施していない。