目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.2.1 静脈内単回投与試験（4.2.3.1-1 及び 4.2.3.1-2） 8
2.6.6.2.2 GLP 単回投与試験（4.2.3.1-3） 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 12
2.6.6.3.1 4 週間用量設定試験（4.2.3.2-1） 12
2.6.6.3.2 4 週間静脈内及び皮下投与並びにステロイド及びリツキシマブの前投与を検討する 4 週間試験（4.2.3.2-2） 13
2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた磁気共鳴画像法による 4 週間パイロット毒性試験（4.2.3.2-3） 15
2.6.6.3.4 漸増投与法を検討するカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4） 16
2.6.6.3.5 カニクイザルを用いた 26 週間 GLP 反復投与毒性試験（4.2.3.2-5） 18
2.6.6.4 遺伝毒性試験 19
2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 19
2.6.6.6 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） 20
2.6.6.7 局所刺激性試験 20
2.6.6.8 その他の毒性試験 20
2.6.6.8.1 ヒト及び特定のカニクイザル組織に対するモスネツズマブの組織交差反応性（4.2.3.7.7-1） 20
2.6.6.8.2 ヒト PBMC を用いた *in vitro* T 細胞活性化及びサイトカイン放出試験（4.2.3.7.7-2） 20
2.6.6.8.3 ヒト PBMC 中の製品バリアントである抗 CD3 ホモ二量体の生物学的特性及びリスク評価（4.2.3.7.7-2） 22
2.6.6.9 考察及び結論 27
2.6.6.10 引用文献 29

略語一覧

略語	英名	和名
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
aPTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the serum concentration–time curve	血清中濃度-時間曲線下面積
BAFF	B cell activating factor	B 細胞活性化因子
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum observed serum concentration	最高血清中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CRS	cytokine release syndrome	サイトカイン放出症候群
ECG	electrocardiogram	心電図
E. coli	*Escherichia coli*	大腸菌
Fc	fragment crystallizable	結晶化可能フラグメント
GALT	gut associated lymphoid tissues	腸管関連リンパ組織
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HNSTD	the highest non severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大用量
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IHC	immunohistochemistry	免疫組織化学
IFN	interferon	インターフェロン
Ig	immunoglobulin	イムノグロブリン
IL	interleukin	インターロイキン
IV	intravenous	静脈内
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像法
NOAEL	the no observed adverse effect level	無毒性量
PALS	periarteriolar lymphoid sheaths	細動脈周囲リンパ鞘
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PD	pharmacodynamic	薬力学
SC	subcutaneous	皮下
SWI	susceptibility weighted images	磁化率強調画像
Tc	cytotoxic T	細胞傷害性 T
TDB	T cell–dependent bispecific	T 細胞依存性二重特異性
Th	helper T	ヘルパーT
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
T_{max}	time of observed C_{max}	最高血清中濃度到達時間
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

TSE	turbo spin echo	ターボスピンエコー

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

モスネツズマブ（BTCT4465A としても知られる）は，チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞で産生される全長型ヒト化免疫グロブリン（Ig）G1抗 CD20/CD3 T 細胞依存性二重特異性（TDB）抗体である。本剤は結晶化可能フラグメント（Fc）領域の N297G アミノ酸置換により非グリコシル化重鎖となり，Fcγ 受容体への結合が最小限であるため，Fc を介するエフェクター機能が著しく低下する。また，機能的に同等な抗体である2H7v16/40G5c（表 2.6.6.1-1）を開発初期の非臨床試験で使用した。両分子から得られたデータは，初回臨床試験の実施を裏付けるために総合的に使用した。

表 2.6.6.1-1　トキシコキネティクス試験に用いたモスネツズマブ及び2H7v16/40G5c の特性

抗 CD20/CD3 TDB 抗体	内容	産生細胞/菌	Fc 変異/糖付加
モスネツズマブ（BTCT4465A としても知られる）	• 開発抗体 • 抗 CD20 半抗体：ヒト及びカニクイザルの CD20 に結合するクローン 2H7v16[a] • 抗 CD3 半抗体：ヒト及びカニクイザルの CD3 に結合するクローン 40G5c[b]	CHO	N297G/無し
2H7v16/40G5c	• 機能的にモスネツズマブ[c]と同等 • モスネツズマブと同じアミノ酸配列であるが，Fc 領域の N297G 置換はない • 抗 CD20 半抗体：クローン 2H7v16[a] • 抗 CD3 半抗体：クローン 40G5c[b]	*E. coli*	無し/無し

CHO＝チャイニーズハムスター卵巣; *E. coli*＝大腸菌; TDB＝T 細胞依存性二重特異性

[a] Fc 領域に“knob”変異を含む（T366W）

[b] Fc 領域に“hole”変異を含む（T366S，L368A，Y407V）

[c] モスネツズマブと 2H7v16/40G5c は，*in vitro* 及び *in vivo* 試験において同等の薬理活性，PK プロファイル及び PK/PD 関係を示した（2.6.2 薬理試験の概要文及び 2.6.4 薬物動態試験の概要文を参照）。

モスネツズマブと2H7v16/40G5c はいずれもカニクイザルと交差反応し，カニクイザル末梢血単核細胞（PBMC）における標的結合親和性及び *in vitro* 効力は，ヒト PBMC におけるものと同様である。これらはげっ歯類の CD3や CD20には測定可能な親和性では結合しない。したがって，毒性試験に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。

モスネツズマブの非臨床毒性試験は，再発性又は難治性及び未治療の B 細胞性悪性腫瘍に対するモスネツズマブの静脈内（IV）投与又は皮下（SC）投与を支持するために，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン，特に，ICH 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」について，薬食審査発0323第1号 平成24年3月23日）及び ICH S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて，薬食審査発0604第1号 平成22年6月4日）に記載された原則に基づいてデザインされた。臨床試験の実施を支持するための主要な毒性は，米国食品医薬品局（FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP，21 CFR Part 58）又は経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準の原則［C（97）186/Final］に従い，OECD のデータ相互受入れ制度の加盟国において実施された。追加の補助的な毒性試験は，非 GLP 試験として科学的な信頼性をもって実施した。

カニクイザルに 1 mg/kg 未満の用量でモスネツズマブ又は 2H7v16/40G5c を投与したところ，抗薬物抗体（ADA）の高発現率及び高力価が認められ，速やかな薬物クリアランスと薬力学

（PD）効果の消失が認められた。ICH S9 ガイダンスに従い，また ADA の影響を考慮して，ヒト初回投与試験を裏付けるために，モスネツズマブの GLP 単回投与毒性及び安全性薬理試験を実施した。更に，2H7v16/40G5c の IV 及び/又は SC 投与による複数の単回投与試験及び 4 週間（非 GLP）パイロット試験及び探索的試験，ヒト及びカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（GLP 適用），並びにヒト及びカニクイザルの PMBC におけるサイトカイン放出評価をモスネツズマブを用いて実施した（表 2.6.6.1-2）。

2H7v16/40G5c を用いた初期の試験の結果から，カニクイザルにおける ADA 発現を抑制し，長期試験で薬物曝露を維持するためには，血液及びリンパ組織中の B 細胞を迅速かつ完全に枯渇させるために，最初の 1 週間以内に 1 mg/kg の用量を投与する必要があった。モスネツズマブ 1 mg/kg の初回 IV 投与に伴うサイトカイン放出症候群（CRS）様の急性毒性を最小限に抑えるため，漸増投与法（1 日目に 0.2 mg/kg，2 日目に 0.8 mg/kg）をモスネツズマブの 4 週間パイロット試験で評価した。このアプローチにより，CRS のような急性毒性を軽減しながら，組織 B 細胞を効果的に急速に減少させ，ADA 発現を軽減することができた。その後，性成熟したカニクイザルを用いた漸増投与法による 26 週間反復投与毒性試験（GLP 試験）を実施した。

安全性薬理（心血管系，呼吸系及び神経系）の評価項目は、GLP 適用の単回投与毒性試験等に組み込んだ。性成熟したカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の一部として，雌雄の生殖能を評価した。

カニクイザルを用いて実施した毒性試験の主要な結果を以下に示す。

- モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c の IV 又は SC 投与により，循環血中及びリンパ組織中の持続的な B 細胞枯渇の薬理作用が誘導されたが，休薬により回復した。更に，モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c は一過性の T 細胞活性化，サイトカイン放出及び循環血中 T 細胞の減少を誘発し，その後，細胞の遊走及び再分布に起因する回復がみられたが，これらはすべて主に初回投与に限られていた。
- IV 投与後の主なモスネツズマブ又は2H7v16/40G5c 関連毒性はサイトカイン放出に起因するものであり，臨床症状（嘔吐，下痢，活動性低下/円背位），低血圧，頻脈，発熱，凝固系の軽微な活性化を伴う急性期反応と一致する炎症の指標，並びにサイトカインを介した肝細胞損傷に起因すると考えられるアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）/アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の軽度な増加を伴う軽微又は軽度の肝細胞変性及び肝細胞単細胞壊死が認められた。いずれの所見も一過性であり，概して初回投与時に限定的であった。
- モスネツズマブ又は2H7v16/40G5c の投与に伴い，病理組織学的検査で軽度から中等度の血管/血管周囲の炎症細胞浸潤が認められ，主に中枢神経系（CNS）に（単回又は反復投与後）及び全身にも（26週間試験では，短期試験と比較して重症度が低かった）認められた。炎症性浸潤は可逆的であり，ニューロン損傷のエビデンスはなかった。生存中の神経学的所見は，4週間試験（4.2.3.2-4）の動物1例における痙攣の発現のみであった。このときの最高血清中濃度（C_{max}）及び血清中濃度–時間曲線下面積（AUC）の曝露量は，第 I/Ib 相試験（GO29781試験）で同程度の期間にわたってモスネツズマブを投与された患者の曝露量のそれぞれ約50倍及び20倍であった。いずれの毒性試験においても，長期投与後にもその他の神経学的異常は認められなかった。
- 26週間反復投与毒性試験では，病理組織学的検査で上部尿路感染及び腸感染が認められ，2例が瀕死状態となり早期安楽死に至った。感染に対する感受性の増加は，モスネツズマブの薬理作用である長期にわたる B 細胞枯渇に続発したものと考えられた。
- サイトカインに関連する低血圧，心拍数及び体温の増加並びに痙攣の1件を除き，安全性薬理（心血管系，呼吸器系又は神経系）評価においてその他の所見は認められなかった。
- 器官重量，剖検及び病理組織学的検査では，雌雄の生殖器にモスネツズマブに関連した影響は認められなかった。

- 反復投与試験では，SC 投与によりサイトカイン放出が効果的に減少し，CRS 様の急性毒性が最小限に抑えられ，血管/血管周囲浸潤の発現率が低下したが，B 細胞の枯渇に影響を及ぼさなかった。SC 投与の全般的な安全性プロファイルの改善は，IV 投与動物と比較して SC 投与動物で C_{max} が鈍化して T_{max}（最高血清中濃度到達時間）が遅延し，その後サイトカイン放出が減少したことによる可能性があり，このことは，SC 投与が臨床においてモスネツズマブに関連する毒性を軽減する実行可能な方法であることを示唆している。

更に，モスネツズマブの製造中に低レベルで生成される可能性がある製品関連変異体である抗 CD3 ホモ二量体の影響を評価するため，ヒト PBMC を用いた in vitro 試験を実施した。様々な濃度の抗 CD3 ホモ二量体を含むモスネツズマブ（最高臨床用量 60 mg の C_{max} 値に相当する濃度まで）を添加したとき，抗 CD3 ホモ二量体は最大 5%までモスネツズマブによる T 細胞活性化又はサイトカイン放出を有意に増強しなかった。更に，モスネツズマブ誘発性の T 細胞活性化，サイトカイン放出，又は B 細胞殺傷を有意に増強しなかった。これらのデータは，市販予定製剤の抗 CD3 ホモ二量体の管理戦略を支持している。本項で考察した毒性試験を表 2.6.6.1-2 に示す。

表 2.6.6.1-2　非臨床毒性試験の要約

CTD 番号	試験表題	GLP	被験物質及び用量 (mg/kg/日)
単回投与毒性			
4.2.3.1-1	雄カニクイザルを用いた抗 CD20/CD3 TDB 抗体の単回 IV 投与によるトキシコキネティクス，薬力学及び毒性試験 [a]	否	2H7v16/40G5c 1 (IV)
4.2.3.1-2	雄カニクイザルを用いた抗 CD20/CD3 TDB 抗体の単回 IV 投与によるトキシコキネティクス，薬力学及び毒性試験 [a]	否	2H7v16/40G5c 1 (IV)
4.2.3.1-3	カニクイザルを用いたモスネツズマブの IV 又は SC 単回投与トキシコキネティクス，薬力学及び毒性試験（7 週間の回復期間を含む）[b]	適	モスネツズマブ 0, 0.01, 0.1, 1 (IV); 1 (SC)
反復投与毒性			
4.2.3.2-1	カニクイザルに抗 CD20/CD3 TDB 抗体を反復 IV 投与したときのトキシコキネティクス，薬力学及び毒性試験 [a]	否	2H7v16/40G5c 0, 0.01, 0.1, 1 (IV)
4.2.3.2-2	雄カニクイザルを用いたステロイド又はリツキシマブ前投与の有無による抗 CD20/CD3 抗体の IV 又は SC 反復投与トキシコキネティクス，薬力学及び毒性試験 [a]	否	2H7v16/40G5c 0 (IV), 1 (IV or SC)
4.2.3.2-3	カニクイザルを用いた磁気共鳴画像法による抗 CD/CD3 TDB 抗体の 28 日間反復 IV 投与パイロット試験 [a]	否	2H7v16/40G5c 1 (IV)
4.2.3.2-4	モスネツズマブ：サルを用いた 25 日間 IV 持続投与パイロット毒性試験 [b]	否	モスネツズマブ 0.2/0.8/0.3 [c] 0.2/0.8/1 [c] 0.2/0.8/3 [c] (IV)
4.2.3.2-5	モスネツズマブ：カニクイザルを用いた 26 週間反復 IV（持続）投与毒性及びトキシコキネティクス試験 [b]	適	モスネツズマブ 0/0/0 [d] 0.2/0.8/0.1 [d] 0.2/0.8/0.5 [d](IV)
その他の毒性試験			
4.2.3.7.7-1	ヒト及び特定のカニクイザル組織に対するモスネツズマブの組織交差反応性 [b]	適	10及び50 µg/mL
4.2.3.7.7-2	モスネツズマブの生物活性の *in vitro* 特性及びモスネツズマブ活性に対する抗 CD3 ホモ二量体の低割合の混入の影響 [b]	否	1.6 ng/mL～25 µg/mL モスネツズマブ + 0%，2.5%，5%抗 CD3 ホモ二量体

GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IV＝静脈内； SC＝皮下；TDB＝T 細胞依存性二重特異性

[a] 抗 CD20/CD3 TDB 抗体（2H7v16/40G5c）は大腸菌で産生された。

[b] モスネツズマブはチャイニーズハムスター卵巣細胞で産生された。

[c] Day 1/Day 2/ 2～4 週目の用量

[d] Day 1/Day 2/2～26 週目の用量

2.6.6.2　単回投与毒性試験

反復投与パイロット毒性試験（4.2.3.2-1）で認められた中枢神経系の病理組織学的所見を検討するため，カニクイザルを用いた2つの単回投与試験（4.2.3.1-1及び4.2.3.1-2）を実施した。

第 I 相臨床試験を支持するために，モスネツズマブの GLP 単回投与毒性試験（4.2.3.1-3）を実施した。

2.6.6.2.1 静脈内単回投与試験（4.2.3.1-1及び4.2.3.1-2）

最初の単回投与試験（4.2.3.1-1）では，雄カニクイザル3例に2H7v16/40G5c を1 mg/kg の用量で緩徐に単回 IV ボーラス投与（約30秒~1分）し，試験7日に安楽死させた。本試験の主要目的は，4週間用量設定試験（4.2.3.2-1，2.6.6.3）で認められた CNS の血管炎/血管周囲炎が単回 IV 投与後に検出されるかどうか，また，その所見が潜在的な介入方法を検討する陽性対照として使用するのに十分に一貫しており頑健であるかどうかを検討することであった。2番目の単回投与試験（4.2.3.1-2）では，雄カニクイザル9例に2H7v16/40G5c を1 mg/kg の用量で緩徐に単回 IV ボーラス投与し，Day 3, 14及び28に安楽死させた（3例/時点）。2H7v16/40G5c を用いたこれら2つの単回投与試験では，CNS の病理組織学的所見の経時変化（進行及び回復）を評価した。上記2試験の結果を以下に要約する。

トキシコキネティクス（TK）及び ADA：2番目の試験（4.2.3.1-2）では，Day 14及び28に安楽死させた6例中3例で ADA が検出された。血液及びリンパ組織中の持続的な B 細胞枯渇が，ADA 陽性の1例及び ADA 陰性の全例で認められた。TK データの詳細は，2.6.4薬物動態試験の概要文，2.6.4.3項に要約する。

薬力学的作用：2H7v16/40G5c を1 mg/kg の用量で単回 IV 投与したときの薬力学的作用として，末梢及び二次リンパ器官（脾臓及びリンパ節）における B 細胞の完全な枯渇が投与7日後という早期に認められ，これに対応する血清中 B 細胞活性化因子（BAFF）濃度の増加（4~17倍）が認められた。BAFF 量は B 細胞が枯渇すると増加することが示されている[1)]。

生存状況，一般状態観察，体重及び摂餌量：全例が計画剖検時まで生存した。一部の動物における投与後の一般状態の変化として，投与日に嘔吐，水様便及び活動性低下が認められ，投与1週目に食欲減退が認められた。また，2番目の試験の1例で Day 1に自発運動の低下及び低体温（35.9 °C）が認められ，支持療法により回復したが，Day 4に二次性の消化管感染が認められ，1週目に18%の体重減少が認められた。すべての症状は支持療法及び抗生物質治療により消失した。投与後の一般状態の変化は，サイトカイン放出及び/又は急性期蛋白反応に起因すると考えられた。

臨床病理検査：血液学的検査では，総白血球数，リンパ球数，単球数，好酸球数及び好塩基球数の一過性かつ顕著な減少，並びに血小板数の約30%の減少が Day 2に認められたが，Day 7までに回復した。これらの変化は，サイトカインに関連した細胞の遊走，再分布及びその後の増殖によるものであった。血清生化学的検査及び凝固パラメータの投与後の変化として，C 反応性蛋白（CRP，32倍），フィブリノゲン（約1.5倍），ALT（2～3倍）及び AST（2～6倍），総ビリルビン（3～4倍），活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT，1.3倍～1.6倍）の増加，並びにアルブミン（13～27%），総蛋白（15～24%）及びコレステロール（21～44%）の減少が Day 2に認められた。これらの変化はサイトカイン放出及びそれに伴う凝固系の軽微な活性化を伴う急性期反応に起因するものであり，Day 7までに回復した。

病理組織検査：2H7v16/40G5c 関連の病理組織学的所見が，リンパ器官，脳，坐骨神経及び肝臓に認められた。

リンパ系器官では，脾臓及びリンパ節の濾胞胚中心の大きさ及び数に，すべての時点（Day 3～28まで）で中等度から重度の減少が認められ，B 細胞枯渇の薬理作用と一致していた。Day 3及び7には，脾臓の T 細胞領域内，即ち細動脈周囲リンパ鞘（PALS）及びリンパ節の傍皮質にリンパ球の細胞密度増加/有糸分裂も認められ，Day 14及び28までに回復のエビデンスが認められた。この所見は，T 細胞のリンパ系組織への再分布及び/又は増殖によるものと考えられた。

脳では，病理組織学的所見として軽度から中等度の血管及び血管周囲の混合型炎症細胞浸潤が Day 7に3例中2例の脳白質で認められた。この2例のうち1例の所見として，軽度から中等度

の血管及び血管周囲の混合型炎症性細胞浸潤（好酸球を含む）を伴う軽度反応性血管が少数散在し，主に小脳脚の領域にみられたが，髄質内の血管にもまれに認められた。他の1例では，一つの小さな血管周囲に非常に少数の単核細胞浸潤が認められた。その後の時点における脳の病理組織学的所見は，Day 14及び28の脈絡叢の血管周囲領域，並びに Day 14の1例の坐骨神経及び隣接する軟部組織における軽微又は軽度の混合性細胞浸潤のみであった。免疫組織化学（IHC）解析では，Day 3，14及び28に，それぞれ3例中2例，3例中1例及び3例中0例の血管周囲領域にミクログリア反応が認められた。IHC による検査では，星状細胞反応又は神経損傷の徴候は認められなかった。

肝臓では，Day 3の病理組織学的所見として，3例全例で軽微から軽度の肝細胞変性（主に小葉中心性）がみられ，1/3例で ALT 及び AST の軽度増加に関連した肝細胞の単細胞壊死が認められた。これらの変化はサイトカイン誘発性肝細胞損傷に起因する可能性がある。その後の時点で，Day 7に軽微～軽度の類洞内白血球増加及び軽微～軽度の炎症細胞の門脈浸潤（主に形質細胞及び少数の多形核細胞を含む単核細胞），Day 3及び14にクッパー細胞の肥大/過形成，Day 14及び28に軽度の類洞の循環血中好中球増加症が認められた。これらの所見は，損傷した細胞及び/又は治療抗体の正常なクリアランス過程を反映している可能性があり，最初の傷害の回復と一致している。

結論：カニクイザルに2H7v16/40G5c を1 mg/kg の用量で単回 IV 投与したところ，忍容性が認められ，7日以内に末梢及びリンパ組織で急速かつ完全な B 細胞枯渇が誘発された。急性毒性は一過性であり，サイトカイン放出及び急性期反応と一致していた。単回投与後，脳に血管/血管周囲の炎症細胞浸潤が認められたが，所見は軽微から軽度であり，個体間変動が大きかった。これらの理由から，CNS の病理組織学的所見の軽減方法及びモニタリング可能性を評価するため，その後の試験を反復投与試験（4.2.3.2-2及び4.2.3.2-3）で実施した。また，これらの試験結果に基づき，カニクイザルに IV ボーラス投与したときの最大耐量は1 mg/kg と判断し，GLP 毒性試験の高用量として1 mg/kg を選択した。

2.6.6.2.2 GLP 単回投与試験（4.2.3.1-3）

本試験の目的は，カニクイザルに単回 IV（1時間の点滴静注）又は SC 投与したときのモスネツズマブの毒性を評価し，7週間の回復期間後の毒性の可逆性又は持続性を評価することであった。雌雄サルを5つの投与群に割り付けた。第1群の動物には溶媒対照（[redacted] mM ヒスチジン酢酸塩，[redacted] mM スクロース，[redacted]% (w/v) ポリソルベート20）を IV 及び SC 投与した。第2群～第4群の動物には，モスネツズマブをそれぞれ0.01，0.1及び1 mg/kg の用量で IV 投与した。第5群の動物にはモスネツズマブを1 mg/kg の用量で SC 投与した。各群雌雄各3例を Day 8（最終剖検）に安楽死させた。回復期間中に2回剖検し，1回目は第 I 相試験で実施された21日間の投与サイクルに類似させた Day 22（1群雌雄各2例）に，2回目は約5半減期の Day 57（溶媒対照群及び高用量 IV 投与群のみ雌雄各2例）に実施した。

毒性評価は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，神経学的検査，心電図検査，臨床病理検査及び解剖病理検査に基づいて行った。心血管系の評価として，Day 22回復群の動物から試験開始前にテレメトリー機器を外科的に埋め込んで覚醒下自由行動下で投与期間中及び投与後3週間の心血管系評価項目を収集し，残りの試験動物からは体表心電図（ECG）及び血圧を収集した。更に，BAFF 分析，サイトカイン分析，フローサイトメトリー，TK 及び ADA 分析用の血液試料を採取した。

体重，摂餌量，眼科学的検査，呼吸数及び神経学的評価項目に，モスネツズマブに関連した影響は認められなかった。

TK 及び ADA：モスネツズマブの曝露量は，0.01～1 mg/kg の範囲で用量にほぼ比例して増加した。性差は認められなかった。0.01及び0.1 mg/kg IV 投与群では Day 8及び Day 15まで，1 mg/kg IV 又は SC 投与群では Day 22まで，1 mg/kg IV 投与群の回復性試験群では Day 36～Day 57まで，モスネツズマブの血清中薬物濃度が維持された。同じ用量の1 mg/kg を SC 投与した

とき，1時間かけて IV 投与したときと比較して，観察された T_{max} の時間は延長し（IV 投与では投与終了後0.5時間，SC 投与では投与後24時間），C_{max} は72%低下し，AUC は29%減少した。0.01，0.1及び1 mg/kg を IV 投与した10例中7例，10例中5例及び14例中7例，並びに1 mg/kg を SC 投与した10例中5例で ADA 反応が検出された。Day 8以降に評価した動物（回復性試験群）のうち，0.1 mg/kg 以下を投与した動物の全例（0.01及び0.1 mg/kg 群の各4例中4例）で Day 8～22までに ADA 反応が認められたのに対し，1 mg/kg を IV 又は SC 投与した動物では11例中4例のみで ADA が認められた。一部の動物では，ADA 陽性と相関して全身曝露量の減少及び薬力学的作用の減弱が認められた。TK 及び ADA データの詳細については，2.6.4 薬物動態試験の概要文，2.6.4.3項を参照のこと。

薬力学的作用：モスネツズマブは，末梢血及び脾臓やリンパ節などの二次リンパ器官における B 細胞の枯渇（血清中 BAFF 濃度の上昇と一致），並びに一過性の T 細胞活性化，サイトカイン放出，及び T 細胞再分布（初期の血中濃度の低下に続くリバウンド）などの用量依存的な薬力学的作用を誘導した。リンパ系組織におけるモスネツズマブによる B 細胞枯渇は，Day 8までにほぼ完全（0.01 mg/kg）又は完全（0.1 mg/kg 以上）となり，Day 22から57の間に休薬と相関する回復が認められた。B 細胞の組織枯渇に対応して，血清中 BAFF 濃度は用量依存的に上昇し，0.01，0.1及び1 mg/kg を IV 投与及び1 mg/kg を SC 投与した動物におけるピーク値は，それぞれのベースライン値の2.0～3.7倍，5.1～6.6倍，6.8～11倍及び9.0～18倍であった。

0.01 mg/kg 以上のモスネツズマブ投与により，サイトカイン IL-1RA，IL-2，IL-5，IL-6，IL-13，IL-17，顆粒球コロニー形成刺激因子（G-CSF），TNF-α及び IFN-γの血漿中濃度が用量依存的に上昇した。この増加は一過性であり，投与後2～6時間に発現し，投与後24時間までにベースライン値又はベースライン付近まで回復した。1 mg/kg IV 投与群と比較して，1 mg/kg SC 投与群のサイトカイン放出は概して低く，わずかに遅延した。CD25及び CD69の単独又は二重発現により測定したヘルパーT（Th）及び細胞傷害性 T（Tc）リンパ球の一過性かつ用量依存的な活性化が，すべての投与群で認められた。投与直後に T リンパ球及びナチュラルキラー細胞の一過性の減少がみられたが，これはおそらくリンパ球の退行及び/又は二次リンパ系組織への再分布によるものであり，この濃度は2～8日目に回復した。PD データの詳細については，2.6.2項の薬理試験の概要文，2.6.2.2項を参照のこと。

生存状況及び一般状態観察：モスネツズマブに関連した死亡又は瀕死状態は認められなかった。1 mg/kg の IV 投与を受けた1例では，テレメトリー式カテーテル留置に続発した部分的動脈血栓症の結果として，後肢腫脹及び廃用の臨床症状が認められ，Day 2に安楽死させた。被験薬に関連した一般状態の変化は1 mg/kg IV 投与群のみにみられ，Day 1に14例中5例で投与後の嘔吐，活動性低下/円背位及び粘液便が認められた。また，1例で投与約4時間後に脱水及び低体温が認められた。支持療法及びインキュベーターでの一晩の維持療法により Day 2までに症状は消失した。1 mg/kg を SC 投与したとき，モスネツズマブに関連した一般状態の変化は認められなかった。

心血管系安全性薬理：テレメトリー機器を外科的に埋め込んだ動物（1群雌雄各2例）を用いて心血管系安全性薬理を評価したところ，Day 1に一過性かつ用量依存的な心拍数及び体温の上昇並びに血圧（収縮期，拡張期及び平均動脈圧）の低下が認められたが，Day 7までに完全に回復した。0.1及び1 mg/kg IV 投与又は1 mg/kg SC 投与では，Day 1に心拍数及び体温の上昇が認められ，対照群及び試験前の値と比較して日内変動パターンが減弱した。Day 1に1 mg/kg を IV 投与した動物で血圧が低下し，収縮期及び拡張期血圧は試験前及び対照値よりそれぞれ11～18及び22～25 mmHg 低下した。これらの所見は，モスネツズマブによるサイトカイン放出及び関連する急性期蛋白反応に続発したものと考えられた。1 mg/kg を IV 又は SC 投与した動物では，心拍数増加（RR 間隔短縮）に関連して PR 間隔及び QT 間隔の短縮が認められた。しかし，QTc への影響はみられなかったことから，これらの変化は完全に心拍数依存的であり，心室再分極への影響を示すものではないと考えられた。評価した ECG はカニクイザルで定性

的に正常と判断された。

臨床病理検査：モスネツズマブの IV 投与に関連した血液学的パラメータの変化として，0.01 mg/kg 以上で一過性かつ顕著なリンパ球数減少，白血球数，単球数及び好塩基球数の軽度から中等度の減少，0.1 mg/kg 以上で Day 2に軽度の血小板数減少が認められた。Day 8までに回復し，Day 22又は57までにベースライン値に戻った。これらの変化は，サイトカイン/ケモカイン放出に伴う B 細胞の枯渇及び辺縁化とそれに続く T 細胞及びその他の白血球集団の再分布及び/又は増殖によるものと考えられた。凝固系及び血液生化学的パラメータの変化は一過性（Day 2のみ）であり，用量依存的であり，サイトカイン放出及び急性期蛋白反応による二次的な影響と一致していた。その結果，0.01 mg/kg 以上で CRP の中等度から顕著な増加，0.1 mg/kg 以上でフィブリノゲン及びビリルビンの軽度な増加，コレステロール及びアルブミン（総タンパク，アルブミン/グロブリン比及びカルシウムの減少を伴う）の軽微から軽度な減少，1 mg/kg で aPTT 及び PT の軽微から軽度な延長が認められた。1 mg/kg を SC 投与したときの臨床検査パラメータの変化は，1 mg/kg を IV 投与したときと同様であった。いずれの変化も Day 8又は22までに回復した。

病理組織検査：病理組織学的所見は8日目にリンパ系組織，肝臓及び CNS にみられ，Day 22又は57までに回復した。リンパ組織では，すべてのモスネツズマブ投与群で所見が認められ，予想される PD 作用と一致していた。脾臓，リンパ節及び腸管関連リンパ組織（GALT）の B 細胞コンパートメントにおいて，用量依存的な大きさ/数の減少又は濾胞胚中心の欠如が認められた。同時に，T 細胞コンパートメント内でリンパ球の細胞密度増加（脾臓の PALS，リンパ節の傍皮質）が認められ，これは T 細胞のリンパ系組織への再分布及び/又は増殖に起因すると考えられた。これらの所見は回復性を示し，0.01 mg/kg 群では Day 22に，0.1 mg/kg 以上の群では Day 57に回復が認められた。肝臓では，0.1 mg/kg（IV 投与）を Day 8に，1 mg/kg（IV 及び SC 投与）を Day 8及び22に投与した動物で類洞クッパー細胞の肥大/過形成が認められたが，Day 57には所見は認められなかった。この所見は，抗体及び/又は ADA の正常なクリアランス過程を反映している可能性があり，直接的な薬物関連作用ではないと考えられる。中枢神経系組織では，Day 8に1 mg/kg IV 投与群の雌2例及び1 mg/kg SC 投与群の雌雄各1例で，軽微から軽度の血管周囲の好酸球浸潤とそれに伴う小膠細胞症が認められた。これらの変化は，臨床症状に至るとは考えられない頻度及び重症度で認められ，関連するアストロサイトーシス又はニューロンの変化は認められなかったことから，有害ではないと考えられた。標準的な神経学的検査では，薬剤関連所見は認められなかった。Day 22及び57の中枢神経系に所見は認められなかった。

IV 及び SC 投与の比較：SC で1 mg/kg を投与した動物では，一般状態の変化は認められず，一貫した血圧低下も認められなかったことから，IV 投与より SC 投与の方が忍容性が良好であると考えられた。これは，SC 投与した動物では IV 投与した動物と比較して，薬物曝露量が減少し，その後サイトカイン放出が減少及び/又は遅延したためと考えられる。IV（1時間の点滴静注）と比較して，SC 投与では T_{max} の遅延，C_{max} の72%の低下，AUC の29%の低下が認められ，これがサイトカイン放出の低下と遅延及び忍容性の向上に寄与している可能性がある。臨床病理及び病理組織検査におけるその他の所見並びに薬力学的作用は，SC 投与群と IV 投与群で概ね同様であった。

結論：カニクイザルにモスネツズマブを0.01及び0.1 mg/kg の用量で1時間かけて単回 IV 投与，又は1 mg/kg の用量で単回 SC 投与したときの忍容性は良好であった。1 mg/kg IV 投与で認められた毒性はサイトカイン放出に起因するものであり，投与後の一般状態の変化，低血圧，心拍数及び体温の上昇，急性期蛋白反応と一致する血清生化学的パラメータ及び凝固パラメータの変化が認められた。本試験のデータに基づき，1時間かけて IV 投与したとき又は SC 投与したときの重篤な毒性が発現しない最大用量（HNSTD）は1 mg/kg と判断した。1 mg/kgIV 投与の HNSTD では，Day 1の投与前から最終定量可能時点までの雌雄合算した平均 C_{max} 及び AUC は，それぞれ17.8 μg/mL 及び40.4 day·μg/mL であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

カニクイザルを用いた2H7v16/40G5c の4週間反復投与試験を3試験実施した。これらの試験には，用量設定試験（4.2.3.2-1）と，この試験で認められた中枢神経系の所見を軽減し（4.2.3.2-2），モニタリングする（4.2.3.2-3）ための方法を検討することを目的とした探索的試験2試験が含まれる。更に，再発性又は難治性及び未治療の B 細胞性悪性腫瘍患者を対象とした臨床開発及びモスネツズマブの販売承認申請を支持するために，漸増投与法を検討する4週間試験（4.2.3.2-4）及び26週間 GLP 毒性試験（4.2.3.2-5）を含むモスネツズマブの2つの反復投与試験を実施した。

2.6.6.3.1 4週間用量設定試験（4.2.3.2-1）

本用量設定試験は，2H7v16/40G5c を用いて実施した最初の毒性試験であった。雌雄カニクイザルに0，0.01，0.1及び1 mg/kg の用量で週1回4週間 IV 低速ボーラス投与し，その後8週間休薬した。各用量群の雌雄各2例を Day 29（最終投与の7日後）の最終剖検時に安楽死させた。溶媒対照群及び1 mg/kg 群の雌雄各2例を，7週間の休薬期間後の Day 79に安楽死させた（計8週間の休薬期間）。

体重，身体検査パラメータ，バイタルサイン（体温，心拍数，呼吸数），酸素飽和度，標準的な神経学的検査，凝固検査及び尿検査パラメータには，薬剤に関連した影響は認められなかった。

TK 及び ADA：2H7v16/40G5c の曝露量は用量とともに増加した。性差は認められなかった。クリアランス値は低用量で増加し，標的介在性クリアランス機序と一致した。投与期間中，0.01，0.1及び1 mg/kg の2H7v16/40G5c を投与した4例中4例，4例中3例及び8例中5例に，それぞれ高力価の ADA 反応が検出された。その結果，投与期間を通して薬物曝露量を維持できた動物は，0.1 mg/kg 以下の群では8例中1例のみであったのに対し，1 mg/kg 群では8例中7例であった。休薬期間中，1 mg/kg を投与した別の3例が高力価 ADA 陽性を示し，薬物曝露量の減少及び B 細胞回復と相関した。詳細なトキシコキネティクスの結果は，2.6.4薬物動態試験の概要文，2.6.4.3項に要約する。

薬力学的作用：薬理作用は単回投与試験で認められた作用と同様であり，検討したすべての用量（0.01 mg/kg 以上）で用量依存的な B 細胞枯渇及びそれに関連する血清中 BAFF 濃度増加，T リンパ球活性化，サイトカイン放出及び T リンパ球の遊走/再分布が認められた。副次的リンパ器官（脾臓及びリンパ節）における完全又はほぼ完全な B 細胞枯渇が，最終剖検時に全 ADA 陰性動物及び一部の ADA 陽性動物で認められた。しかし，最初の2週間に2H7v16/40G5c への曝露を喪失した一部の ADA 陽性動物では，B 細胞の再増殖が認められた。T リンパ球の活性化及び遊走/再分布は主に初回投与と関連しており，より程度は低いが2回目の投与とも関連していたが，それ以降の投与では認められなかった。サイトカイン増加は主に初回投与に関連しており，投与後2時間以内に用量依存的に急速に増加し，投与後2日以内にベースライン値に戻った。PD の詳細な結果を2.6.2項「薬理試験の概要文」の2.6.2.2項に要約する。

生存状況，一般状態観察及び摂餌量：全例が計画剖検時まで生存した。被験物質と関連のある一般状態の変化は1 mg/kg IV 投与群のみにみられ，初回投与後のみ（Day 1及び/又は Day 2）の嘔吐及び食欲減退並びに Day 15及び22の皮膚剥離が認められた。

臨床病理検査：2H7v16/40G5c に関連した初回投与後の血液学的パラメータの変化は，単回投与試験で認められた変化と同様であり，0.01 mg/kg 以上でリンパ球，単球及び好酸球の中等度から顕著な減少，0.1 mg/kg 以上で血小板の中等度減少及び網状赤血球の軽微な減少，1 mg/kg で好中球数の中等度の減少が認められた。Day 4又は8までに回復した。これらの変化は主に初回投与時に認められた。2H7v16/40G5c に関連する血液生化学的検査の変化として，0.01 mg/kg 以上で Day 9（最初の測定時点）及び Day 23及び/又は Day 29に軽微から中等度の CRP 増加，1 mg/kg の雄で軽度のアルブミン減少（総タンパク及びアルブミン/グロブリン比の

減少を伴う）が認められた。これらの所見は，T 細胞及びその他の白血球集団の再分布及び/又は増殖に続くサイトカイン放出によって誘導される辺縁帯形成，並びに急性期反応と一致していた。

解剖病理学検査：Day 29の最終剖検では，薬物関連の肉眼所見は認められなかった。器官重量の減少を含むリンパ系器官の所見及び病理組織学的所見は B 細胞の枯渇と一致していた。リンパ節のリンパ濾胞内の用量依存的なリンパ球枯渇及び脾臓の胚中心の数/大きさの減少又は消失が0.1 mg/kg 以上で認められ，CD20の IHC 解析で示される完全～ほぼ完全な B 細胞枯渇に相当した。1 mg/kg では GALT の減少及び胸腺における薬剤関連の可能性のあるリンパ球密度低下が認められ，0.1 mg/kg 以上では骨髄における造血亢進が認められた。Day 79の回復期間終了時の剖検では，ほとんどの動物で回復傾向を示す病理組織学的所見が認められたが，血中薬物濃度が高かった雌1例（1 mg/kg）では，リンパ節及び脾臓のリンパ球数の顕著な減少が依然として認められた。

Day 29の最終剖検時の病理組織学的所見として，1 mg/kg 群の全例及び薬物曝露量を維持していた0.1 mg/kg 群の ADA 陰性例1例の脳及び脊髄の白質に，血管壁内又は血管壁周囲に軽度の混合細胞浸潤が散在性に認められた。浸潤細胞は主に好酸球を少量含む単核細胞であった。IHC 解析により，これらの所見は一部の動物では軽微なミクログリア反応を伴うことが示され，アストロサイト反応やニューロン損傷の証拠は認められなかった。Day 79の回復期間終了時の剖検では，病理組織学的所見の発現割合及び重症度は低下し，回復性が認められた。

結論：カニクイザルに2H7v16/40G5c を1 mg/kg までの用量で週1回，4週間 IV 投与したときの忍容性は概ね良好であった。CNS の病理組織学的所見を軽減及びモニタリングする方法を検討し，CNS の病理組織学的所見を更に特徴づけるため，単回投与試験2試験（4.2.3.1-1及び4.2.3.1-2）及び1 mg/kgIV 投与の反復投与試験2試験（4.2.3.2-2及び4.2.3.2-3）を含むいくつかの探索的試験を実施した。

2.6.6.3.2 4週間静脈内及び皮下投与並びにステロイド及びリツキシマブの前投与を検討する4週間試験（4.2.3.2-2）

本試験の目的は，2H7v16/40G5c に関連する CNS 血管/血管周囲浸潤を低減する様々な方法を評価することであった。観察された CNS 所見の原因の一つと考えられる T 細胞活性化及びサイトカイン放出を低下させる方法を検討した。これらには，T 細胞活性化及びサイトカイン放出を抑制する C_{max} の減少及び T_{max} の遅延のための SC 投与，サイトカイン産生を抑制するためのデキサメタゾンによる前投与，循環血中 B 細胞を枯渇させ CD20依存性 T 細胞活性化及びサイトカイン放出を抑制するための治療用量以下のリツキシマブによる前投与が含まれる。In vitro データから，2H7v16/40G5c は，デキサメタゾン又は Fc を介したエフェクター機能が低下したリツキシマブ変異体であるリツキシマブ–DANA の存在下で活性を示すことが示された。したがって，デキサメタゾン又はリツキシマブの前投与は，2H7v16/40G5c による B 細胞枯渇に影響を及ぼさないと仮定した（2.6.2薬理試験の概要文，2.6.2.2.1項）。試験デザインを表2.6.6.3.2-1に要約する。

表 2.6.6.3.2-1 4週間静脈内及び皮下投与並びにステロイド及びリツキシマブの前投与を検討する4週間試験の試験デザイン（4.2.3.2-2）

群	動物数（雄）	被験物質	投与量 (mg/kg)	前投与物質	投与量 (mg/kg)
1[a]	3	対照群	0 (IV)	—	—
2	4	2H7v16/40G5c	1 (IV)	—	—
3	4	2H7v16/40G5c	1 (SC)	—	—
4	4	2H7v16/40G5c	1 (IV)	デキサメタゾン[b]	0.5 (IM)
5	4	2H7v16/40G5c	1 (IV)	リツキシマブ[c]	2 (IV)

IM＝筋肉内; IV＝静脈内（ボーラス投与）; SC＝皮下.

備考: 1 群は媒体のみを投与した。

[a] 2H7v16/40G5c は投与濃度 1 mg/mL，投与容量 1 mL/kg で投与した。Day 29 にすべての動物を剖検した。病理組織学的評価は，脳，心臓，腎臓，肝臓，肺，下顎及び腸間膜リンパ節，坐骨神経並びに脾臓で行った。

[b] デキサメタゾンは各投与前に投与した：Day-1, 7, 14 及び 21 に 2 回（午前及び午後，6 時間以上の間隔を空ける），Day 1, 8, 15 及び 22 の 2H7v16/40G5c 投与の約 1 時間前に 1 回（±30 分）。投与濃度は 4 mg/mL，投与容量は 0.125 mL/kg とした。

[c] リツキシマブは Day-7 に 1 回，1 mg/mL の用量で 2 mL/kg の容量で投与した。

カニクイザルに2H7v16/40G5c をデキサメタゾン又はリツキシマブの併用下又は非併用下で1 mg/kg の用量で週1回4週間 IV 又は SC 投与したときの忍容性は良好であった。Day 29の最終剖検では，体重，摂餌量，凝固系及び尿検査パラメータ並びに剖検所見に，2H7v16/40G5c に関連した影響は認められなかった。

第2～4群（IV，SC 又はデキサメタゾンの前投与）では，各群4例中2例で ADA 反応が検出され，その結果，各群4例中1例で2H7v16/40G5c の曝露量が減少した。対照的に，第5群（リツキシマブ前投与）では，4例すべてで高力価の ADA が検出され，2週目までに4例中3例で2H7v16/40G5c の曝露量が減少した。

2H7v16/40G5c を IV 投与したときの2H7v16/40G5c に関連する所見は，最初の単回投与試験（4.2.3.2-1）で同用量を投与した動物で認められた所見と概ね一致していた。一般状態の変化は Day 1の嘔吐及び活動性低下のみであった。初回投与後に血液学的パラメータの変化が認められ，リンパ球絶対数，単球数，好酸球数及び好塩基球細胞数の中等度から顕著な減少，並びに血小板数の軽微かつ一時的な減少が認められた。薬力学的作用として，末梢血及びリンパ系器官における B 細胞枯渇，並びに初回投与に関連した一過性のサイトカイン放出，T 細胞の活性化及び再分布が認められた。病理組織学的所見として，軽微から軽度の多巣性の血管/血管周囲浸潤が，第2群（1 mg/kg IV 投与）の4例全例で脳白質に認められ，4例中1例では髄膜及び坐骨神経にも認められた。所見は主に単核細胞浸潤であり，一部の動物では血管壁及びその周囲の好酸球数が少なく，軽微な小膠細胞症を伴っていたが，星状細胞反応又は神経細胞損傷のエビデンスは認められなかった。これらの所見は最初の単回試験で認められた所見と同様であった。しかし，病変の範囲及び重症度は最初の単回試験よりも低かった。

IV ボーラス投与と比較して，SC 投与では C_{max} が80%， AUC が約35～45%減少し，T_{max} が遅延した。大部分のサイトカイン及びケモカインの血漿中濃度を低下させ，IL-6及び IFN-γ など一部のサイトカインのピークをわずかに遅延させた。これにより，薬剤に関連した一般状態の変化は認められず，脳の血管/血管周囲浸潤の発現率が低下しており［第3群（1 mg/kgSC 投与）では4例中1例に対して第2群（1 mg/kgIV 投与）では4例中4例］，忍容性の改善が認められた。すべての投与群（第2群を含む）で軽度の所見がみられたこと，動物数が少なかったこと，及び動物間のばらつきがみられたことから，この結果の意義は慎重に解釈すべきである。

臨床症状は嘔吐のみに限られていたため，デキサメタゾン又はリツキシマブの前投与により，2H7v16/40G5c の IV 投与の忍容性が改善した可能性がある。対照的に，2H7v16/40G5c のみの IV 投与は嘔吐と活動性低下をもたらした。本試験では，デキサメタゾンの前投与によるサイトカイン放出への影響は限定的であり（すべてのサイトカインではないが，一部のサイトカイン［IL-6など］の減少），CNS 血管/血管周囲浸潤への明らかな影響は認められなかった［第4群3例（1 mg/kg IV 2H7v16/40G5c+デキサメタゾン）対第2群4例（1 mg/kg IV 2H7v16/40G5c のみ）］。すべての投与群で軽度の所見がみられたこと，動物数が少なかったこと，サイトカイン及び CNS 所見に動物間でばらつきがみられたこと，試験デザインの限界（検討したデキサメタゾンの用量は1用量のみ）に基づき，デキサメタゾンの影響の解釈は困難であった。また，デキサメタゾンを前投与した動物では，第2群の動物と比較して2H7v16/40G5c の曝露量が約30%高かったが，これはデキサメタゾンを前投与した動物で T 細胞数が減少し，標的介在性2H7v16/40G5c クリアランスが低下したためと考えられる。本試験に基づき，2H7v16/40G5c 誘発性 CNS 所見に対するデキサメタゾンの潜在的影響を明確に決定することはできなかった。

治療用量以下のリツキシマブの前投与は，循環血中 B 細胞を効果的に枯渇させ，いくつかのサイトカイン（例：IL-2）の平均ピーク値を低下させ，投与後の活動性低下とは関連しなかった。しかし，これらの動物は急速に高力価の ADA を発現し，2週目までに4例中3例で2H7v16/40G5c の曝露量が減少した。CNS の病理組織学的所見は，薬物曝露を維持していた1例で認められた。リツキシマブの前投与による毒性軽減能は，ADA による2H7v16/40G5c 曝露量の急速な減少により不明瞭となった。

重要な点として，B 細胞枯渇の発現及び程度は，2H7v16/40G5c 曝露量を維持したすべての動物で同程度であったことから，デキサメタゾン又はリツキシマブの SC 投与又は前投与は，2H7v16/40G5c-誘発性の B 細胞枯渇に悪影響を及ぼさないことが示された。

2.6.6.3.3 カニクイザルを用いた磁気共鳴画像法による4週間パイロット毒性試験（4.2.3.2-3）

本試験の目的は，カニクイザルに2H7v16/40G5c を反復 IV 投与した後の CNS 血管の変化及び/又は炎症の発現をモニタリングするための脳磁気共鳴画像法（MRI）の利用可能性を評価することであった。雄カニクイザル3例に2H7v16/40G5c を1 mg/kg の用量で Day 1, 8, 15及び22に週1回，計4回 IV 投与した。脳 MRI は，全例について Week-1，Day 3，7，14，21及び28に実施した。

全例が計画剖検時まで生存した。体重，摂餌量及び神経学的評価に2H7v16/40G5c に関連した影響は認められなかった。一般状態の変化は投与1日目のみの投与後の嘔吐のみであった。被験物質に関連した臨床検査値の変化，TK プロファイル及び薬力学的作用は，最初の単回投与試験（4.2.3.2-1）及び2番目の単回投与試験（4.2.3.2-2）の1 mg/kg IV 投与で認められた変化と概ね一致していた。3例全例が投与期間を通して薬物曝露量を維持した。3例中1例は ADA 陽性であり，ADA 陰性の2例よりも薬物曝露量が低かった。

本試験の目的に基づき，脳，坐骨神経及び脊髄のみを病理組織学的に評価した。所見として，2例で脳白質及び/又は脊髄に軽微な多巣性の血管周囲単核細胞浸潤，他の1例で脳白質に軽微な血管炎症が認められた。上記の二つの単回試験と比較して，本試験で認められた所見は類似していたが，軽微で概して限定的であり，MRI による検出限界を下回る可能性があると考えられた。

MRI 検査の結果，明らかな薬剤に関連した変化は認められなかった。造影剤投与前又は投与後のいずれにおいても，T2強調ターボスピンエコー（TSE）画像又は T1強調 TSE 画像に明らかな実質病変は認められなかった。磁化率強調画像（SWI）及び飛行時間血管造影は，投与期間中に3例の全ての動物で脳動脈と静脈血管床の明らかな全体の拡張を示した。しかし，これらの画像読影は非定量的であるため，観察された変化を2H7v16/40G5c 又は潜在的な血管病変とみなすことはできなかった。拡散 MRI スキャンでは一貫した画像変化は認められなかった。

全体として，本症例では，従来の T1及び T2強調 MRI 並びに定性的磁気共鳴血管造影及び SWI は，2H7v16/40G5c 投与で観察された軽微な脳の病理組織学的変化を in vivo でモニタリングするための頑健な方法ではないと考えられた。

2.6.6.3.4 漸増投与法を検討するカニクイザルを用いた4週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4）

本試験の目的は，カニクイザルに1時間かけて漸増 IV 投与したときのモスネツズマブの毒性及び TK プロファイルを検討することであった。試験デザインを表 2.6.6.3.4-1に示す。

表 2.6.6.3.4-1 漸増投与法を検討するカニクイザルを用いた4週間反復投与毒性試験の試験デザイン （4.2.3.2-4）

		投与量 (mg/kg)			動物数	
群	群構成	漸増用量 #1 (Day 1)	漸増用量 #2 (Day 2)	目標用量 [a] (Days 8, 15, 22)	雄	雌
1	対照群 [b]	0	0	0	2	1
2	低用量	0.2	0.8	0.3	2	1
3	中用量	0.2	0.8	1	2	1
4	高用量	0.2	0.8	3	2	1

[a] 目標用量は，投与群を識別するために使用した。

[b] [redacted]mM ヒスチジン酢酸塩，[redacted]mM スクロース，[redacted]% (w/v) ポリソルベート 20 を投与した。

すべての生存動物を Day 25に安楽死させ，病理学的検査を実施した。

第2群，第3群及び第4群の動物には Day 1（0.2 mg/kg）及び Day 2（0.8 mg/kg）に同じ漸増用量を投与したため，初回及び2回目投与後の急性毒性，TK プロファイル及び PD 作用は3つの投与群間で同様であった。

TK 及び ADA：Day 8, 15及び22の投与後，モスネツズマブの曝露量は0.3 mg/kg から3 mg/kg への用量増加に伴って増加した。性差は認められなかった。全例が Day 25までモスネツズマブ曝露量を維持した。0.3 mg/kg 群の1例のみに持続的な ADA が認められたが，曝露量への影響は軽微であった。これらの結果から，Day 1と Day 2に1 mg/kg を分割投与した後，週1回投与量を0.3 mg/kg に減量することで，ADA の発現を回避し，薬物曝露量を維持できることが示された（2.6.4薬物動態試験の概要文，2.6.4.3項）。

薬力学的作用：検討したすべての用量で，血中及びリンパ系組織における B 細胞の枯渇，T 細胞の活性化及び遊走/再分布，並びにサイトカイン放出を含む，モスネツズマブの薬力学的作用が認められた。循環血中サイトカインの一過性の増加は主に初回投与（0.2 mg/kg）後に認められ，投与2～6時間後に最大となり，概して投与24時間後にベースライン値に回復した。Day 2の2回目の投与（0.8 mg/kg）後，又は Day 8，15及び22のそれ以降の投与後に，軽微～軽度の増加が一部の動物に認められた。

生存状況及び一般状態観察：Day 1のモスネツズマブの初回投与（0.2 mg/kg）後に嘔吐及び/又は活動性低下を含む投与後の一般状態の変化が9例中5例で認められたが，Day 2の2回目投与（0.8 mg/kg）後には1例のみで認められた。

第3群（目標用量1 mg/kg）の1例が Day 11に痙攣を発現したため安楽死させた。他のすべての動物は Day 25の計画剖検まで生存した。痙攣が認められた動物では，CRP 増加がより持続的であると考えられたことを除き，その他の臨床病理学的所見，モスネツズマブ曝露量及び PD 作用は，同用量以上の群の生存動物と概ね同様であった。Day 11に死亡した動物の病理組織学的所見として，脳及び脊髄の血管における中等度の多巣性の血管/血管周囲の混合性炎症

細胞浸潤及び内皮肥大が認められ，心臓，舌及び肝臓（類洞腔及び血管）における軽微から軽度の血管/血管周囲の混合性炎症細胞浸潤も認められた。脳内のいくつかの所見があった血管に隣接して，神経網及びまれに軸索スフェロイドの隣接領域への局所炎症細胞拡大を伴う又は伴わない少数の反応性グリア細胞が顕在化した。脳の fluoro jade B 及び GFAP 染色切片の検査では，軸索損傷，アストロサイトーシス又はグリア瘢痕の徴候は認められなかったが，銀染色切片の検査では，炎症領域内及び隣接領域に少量の銀陽性細胞内物質が認められた。この所見は，軸索プロセスの局所的凝縮とそれに続くミクログリアの食作用と一致する可能性がある。この動物の中枢神経系の病理組織学的所見は，Day 25の計画剖検時に残りの動物の中枢神経系で認められた所見よりも広範囲であり，この動物で認められた痙攣の一般状態の変化の原因と考えられた。

体重，体重増加量又は摂餌量に対するモスネツズマブの影響は認められなかった。

血圧と心拍数：心拍数と血圧を，ジャケット外部テレメトリーシステム（JET）と外科的に移植した動脈血圧プローブを用いて動物で記録した。モスネツズマブの IV 投与により， Day 1及び2に全例で頻脈が認められ，特に暗期に顕著であった。Day 8に1 mg/kg 群の雌及び3 mg/kg 群の雄で暗期に軽度の頻脈が認められたが，Day 22には認められなかった。全身血圧に明らかな薬剤に関連した変化は認められなかった。

臨床病理検査：モスネツズマブに関連した臨床検査所見は，すべての用量で認められ，過去の試験で確認された所見と同様であった。これらの所見には，サイトカイン誘導性リンパ球再分布によるリンパ球数の減少，非染色大細胞数の増加，CRP 及びフィブリノゲンの軽度から中等度の増加，並びにサイトカイン放出及び急性期蛋白反応と一致するアルブミンの軽微な減少（総蛋白，アルブミン：グロブリン比及びカルシウムの減少を伴う）が含まれた。これらの所見は主に Day 3に認められ，Day 9には軽微な変化が認められた。さらに，モスネツズマブの Day 3, 9及び（又は）25における軽微な赤血球系の変化として，目標用量の0.3 mg/kg 又は1 mg/kg を投与した動物におけるヘモグロビン濃度及びヘマトクリットの軽微な減少，3 mg/kg でのヘモグロビン分布幅の軽微な増加，平均赤血球容積，平均赤血球ヘモグロビン量及び平均赤血球ヘモグロビン濃度の軽微な減少が認められた。

病理組織検査：病理組織検査では，全身のリンパ組織及び血管に所見が認められた。リンパ組織では，モスネツズマブはすべての動物で B 細胞の枯渇を誘発した。これは，皮質の胚中心及び濾胞の大きさ及び数の中等度から顕著な減少，並びにリンパ節，脾臓及び GALT における CD20の IHC 染色のほぼ完全な消失によって示された。中枢神経系では，0.3，1及び3 mg/kg 群のそれぞれ3例中1例，2例中2例及び3例中3例の脳並びに程度は低いが脊髄において，軽微から軽度の血管/血管周囲混合炎症細胞浸潤及び内皮細胞肥大並びに一部の影響を受けた血管に隣接する反応性グリア細胞が認められた。モスネツズマブとの関連性が不明な所見として，2例で坐骨神経の軽微な多巣性好酸球浸潤（それぞれ0.3又は3 mg/kg を投与），1例で下顎リンパ節の軽微な好酸球/好中球浸潤，胸骨骨髄の軽微な顆粒球形成増加（未成熟な骨髄前駆細胞数の増加）及び肝臓の類洞好酸球/好中球増加（3 mg/kg を投与）が認められた。

結論：Day 1/2の漸増投与アプローチによるモスネツズマブの IV 投与により，最初の2日以内に1 mg/kg を投与することができ，サイトカインに関連する急性の臨床症状及び低血圧を最小限に抑えながら，組織 B 細胞を急速に枯渇させ，ADA の発現を軽減することができた。中枢神経系における血管/血管周囲の混合細胞炎症性細胞浸潤の病理組織学的所見は，過去の非漸増投与試験で特定された所見と同様であった。Day 1，2及び8に0.2/0.8/1 mg/kg を投与した1例で痙攣が認められ，Day 25に評価した残りの動物と比較して脳内の血管/血管周囲の炎症性浸潤が顕著であったことから，痙攣の一般状態所見と病理組織学的所見との因果関係が示唆された。本試験の結果に基づくと，最大耐量は Day 1に0.2 mg/kg，Day 2に0.8 mg/kg，その後さらに3週間にわたって週1回0.3 mg/kg した投与量であった（C_{max_Day0-7}=20.6 μg/mL，$AUC_{_Day0-21}$=97.6 day·μg/mL）。更に，Day 1/Day 2に0.2/0.8 mg/kg を投与した後に週1回 IV 投与する漸増投与レジメンは，カニクイザルにおけるモスネツズマブの長期投与を支持する実行可能な方法

であると考えられる。慢性毒性試験では，同様の漸増用量及びレジメンを用い，目標用量を0.1及び0.5 mg/kg に減量した。

2.6.6.3.5 カニクイザルを用いた26週間 GLP 反復投与毒性試験（4.2.3.2-5）

本試験の目的は，60分間持続 IV 投与により，カニクイザルに2日間連日漸増投与し，その後26週間にわたり週1回投与したときのモスネツズマブの毒性及び TK プロファイルを明らかにすることであった。試験デザインを表 2.6.6.3.5-1に示す。

表 2.6.6.3.5-1 カニクイザルを用いた26週間 GLP 反復投与毒性試験の試験デザイン （4.2.3.2-5）

		投与量 (mg/kg)			動物数	
群	群構成	漸増用量 #1 (Day 1)	漸増用量 #2 (Day 2)	目標用量 [a] (Weeks 2～26，毎週)	雄	雌
1	対照群 [b]	0	0	0	4	4
2	低用量	0.2	0.8	0.1	4	4
3	高用量	0.2	0.8	0.5	4	4

[a] 目標用量は，投与群を識別するために使用した。

[b] [redacted] mM ヒスチジン酢酸塩，[redacted]mM スクロース，[redacted]% (w/v) ポリソルベート 20, [redacted] mM L-メチオニンを投与した。

すべての生存動物を Day 186に安楽死させ，病理学的検査を実施した。モスネツズマブに関連した投与部位反応，眼科学的検査，神経学的検査及び直腸温の評価における変化は認められなかった。

TK 及び ADA：モスネツズマブの曝露量は，0.1 mg/kg から0.5 mg/kg への用量増加に伴って増加した。曝露量に性差は認められなかった。0.1 mg/kg 群の生存例7例中4例及び0.5 mg/kg 群の生存例7例中7例では，試験期間を通して曝露量が維持された。0.1 mg/kg 群の8例中5例及び0.5 mg/kg 群の8例中4例で ADA が検出された。0.1 mg/kg を投与した ADA 陽性動物では曝露量が低かったが，0.5 mg/kg を投与した動物では ADA による影響は一貫して認められなかった（2.6.4薬物動態試験の概要文，2.6.4.3項）。

薬力学的作用：検討したいずれの用量においても，血中及びリンパ組織中の持続的な B 細胞枯渇，一過性のサイトカイン放出及び T 細胞活性化，並びにそれに伴う循環血中の T 細胞及びナチュラルキラー細胞の一過性の減少が認められた。循環血中サイトカインの一過性の増加は主に初回投与（0.2 mg/kg）後に認められ，投与2～6時間後に最大となり，概して投与24時間後にベースライン値に回復した。Day 2の2回目（0.8 mg/kg）以降の投与では，軽微から軽度の増加が一部の動物で認められた。

死亡：1例（0.1 mg/kg）は Day 96に，他の1例（0.5 mg/kg）は Day 158に，下痢（0.5 mg/kg）及び/又は体重減少（両動物;0.1 mg/kg 群で−26%，0.5 mg/kg 群で−14%）を含む瀕死状態のため切迫屠殺した。安楽死時のモスネツズマブに関連した所見は，炎症（複数の臓器における血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤，並びに腎臓，膀胱及び/又は腸における炎症），衰弱，脱水及び脂質パラメータの増加に起因するものと考えられた。これらの所見及びこれら2例の瀕死状態は，B 細胞枯渇によるモスネツズマブ誘発性免疫抑制に続発したと考えられる上行性の尿及び/又は腸の日和見感染の疑いと一致した。

一般症状観察：モスネツズマブと関連のある投与後の一般状態の変化は主に初回投与後に発現し，顔面の発赤/腫脹，眼/眼瞼の腫脹，体表温度の上昇，活動性低下，被毛の隆起，鼻汁，嘔吐及び流涎が認められた。これらの所見は，モスネツズマブに関連するサイトカイン放出と

一致していた。週1回の投与期間中，0.1又は0.5 mg/kg を投与した動物では，モスネツズマブに関連した一般状態の変化として，液状便，皮膚テント及び半閉眼が散見された。

体重：生存動物では，0.1 mg/kg 群の雌1例及び0.5 mg/kg 群の雌3例で顕著な体重減少が認められた。体重減少の大部分は Day 1～29に発現した。全体として，他のすべての動物は対照群の動物と同様に体重が増加した。

臨床病理検査：漸増投与期（1週目）におけるモスネツズマブに関連した臨床病理学的変化は，過去の試験で報告されたものと同様であり，一過性のサイトカイン放出，関連する急性期蛋白反応及び肝損傷，白血球遊走/再分布並びに B 細胞の枯渇と一致していた。

週1回の投与期間中に認められたモスネツズマブに関連した変化は，炎症関連パラメータ（単球数，リンパ球数，好酸球数，好塩基球数，グロブリン，CRP，フィブリノゲン濃度）の増加又は炎症に続発した変化（トリグリセリド及び/又はコレステロール濃度の増加）であり，更に，赤血球量（PCV，ヘモグロビン濃度及び赤血球数）並びに網状赤血球数の絶対値及び/又は相対値の1つ以上の指標の減少（炎症に伴う二次的変化と考えられる）もみられた。これらの変化は，血管/血管周囲腔への炎症性細胞浸潤及び病理組織検査で認められた上行性尿路感染と相関するか又はそれに続発したものと考えられた。

病理組織検査：0.1又は0.5 mg/kg を投与した動物の全身血管系，リンパ組織，骨髄，腎臓（雄のみ），副腎及び膵臓にモスネツズマブに関連した所見が認められた。

血管系の所見は，軽微な反応性グリア細胞（CNS のみ）及び内皮細胞を伴う軽微な血管/血管周囲炎症細胞浸潤を特徴とし，主に脳内に認められ，他の器官（心臓，肝臓，腎臓，消化管，胆嚢）での発現頻度は低く，発現頻度及び/又は重症度は用量依存的に増加する傾向が認められた。全身リンパ組織内の胚中心及び濾胞の用量依存的な減少は，B 細胞枯渇と一致していた。0.1又は0.5 mg/kg 群の雄で認められた腎臓の変化（軽微から軽度の尿細管好塩基球増加症及び軽微から中等度の尿細管間質の炎症性細胞浸潤の発現頻度/重症度の増加を含む）は，B 細胞枯渇に伴うモスネツズマブの免疫抑制の結果として生じた上行性尿路感染に対する感受性の増加に関連するものと考えられた。また，副腎（副腎重量の減少と相関する皮質空胞化の軽微な減少）及び膵臓（外分泌細胞の軽微な顆粒減少）にも，二次的変化と考えられる軽微な所見が認められた。

結論：カニクイザルにモスネツズマブを2日間連日漸増投与（0.2及び0.8 mg/kg）し，その後0.1又は0.5 mg/kg の用量で週1回25週間 IV 投与したときの主なモスネツズマブ関連毒性所見は，急性期のサイトカイン放出に関連した変化，全身血管系における軽微な血管/血管周囲の炎症性浸潤，末梢血及びリンパ組織における持続的な B 細胞枯渇，並びに上行性の尿路及び/又は腸感染への感受性増加と一致する腎臓及び/又は腸の炎症であった。0.1 mg/kg 群及び0.5 mg/kg 群の各1例で，上行性の尿路感染及び/又は腸感染と一致する所見が認められたため，瀕死状態のため早期に安楽死させた。感染に対する感受性の増加及びそれに伴う瀕死状態は，B 細胞枯渇によるモスネツズマブ誘発性免疫抑制の結果であり，モスネツズマブに直接起因するものではないと考えられた。Day 1に0.2 mg/kg, Day 2に0.8 mg/kg,その後さらに0.5 mg/kg を週1回25週間投与したとき，C_{max}（時間0から TK Day 3まで）は22.2 μg/mL，定常状態における週1回投与時の $AUC_{175\ 182}$は84.6 day·μg/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

最新の ICH ガイダンス（ICH S6（R1），2011）に従い，バイオテクノロジー応用医薬品，特に高分子量のモノクローナル抗体が求電子反応を介して体細胞又は生殖細胞の DNA 損傷を誘発する可能性は低いと考えられることから，モスネツズマブの遺伝毒性試験は実施していない。

2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

モスネツズマブを用いたがん原性試験は実施されておらず，ICH S6及び S9ガイダンスに従

い，予定されている適応症に対するがん原性試験は計画していない。

2.6.6.6 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）

ICH S9ガイダンスに準拠して，本薬の胚・胎児発生に関する試験，並びに出生前及び出生後の発生に関する試験は実施していない。性成熟したカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-5）の一部として，雌雄の生殖発生毒性を評価した。評価には器官重量，雌雄生殖器の剖検及び病理組織検査（雄では精子形成の定性的評価，雌では月経周期の一般的な時期の評価）を含めた。雌雄の生殖能評価では，モスネツズマブに関連した影響は認められなかった。

発生への潜在的な影響に関する重み付けに基づいた（WOE）リスク評価を実施した。妊娠第1三半期における抗体の胎盤通過性が低いこと，モスネツズマブの作用機序及び入手可能なデータ，並びに申請者が所有する他の抗 CD20抗体（例：リツキシマブ（遺伝子組換え）[3)]，オビヌツズマブ（遺伝子組換え）[4)]，オクレリズマブ［Ocrevus ® （米国添付文書）USPI[5)]］）のデータに基づくと，催奇形性のリスクは低いと考えられる。妊娠していない動物を用いたモスネツズマブの試験では，オクレリズマブで示されているように，母動物における長期の B 細胞枯渇は日和見感染のリスクを増加させ，胎児死亡に至る可能性があることが示されている。モスネツズマブ投与に伴う一過性の CRS も妊娠に有害な可能性がある。

2.6.6.7 局所刺激性試験

カニクイザルを用いた単回投与 GLP 毒性試験（4.2.3.1-3）及び反復投与毒性試験（4.2.3.2-4及び4.2.3.2-5）の一環として，IV 又は SC 投与したときの局所刺激性を評価した。IV 又は SC 投与部位に肉眼的又は病理組織学的変化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 ヒト及び特定のカニクイザル組織に対するモスネツズマブの組織交差反応性（4.2.3.7.7-1）

本試験の目的は，ヒト及びカニクイザルの組織におけるモスネツズマブの交差反応性を検討することであったが，被験物質を IHC 試薬として検出するには限界があるため，達成できなかった。主試験及び競合試験の結果を総合すると，モスネツズマブが IHC 試薬として分析感度及び特異度の両方が低いという結論を裏付けている。これらの限界から，特異的な組織結合を評価し，モスネツズマブの標的外結合の可能性をスクリーニングするための頑健で再現性のある正確な IHC アッセイを開発することはできなかった。

2.6.6.8.2 ヒト PBMC を用いた *in vitro* T 細胞活性化及びサイトカイン放出試験（4.2.3.7.7-2）

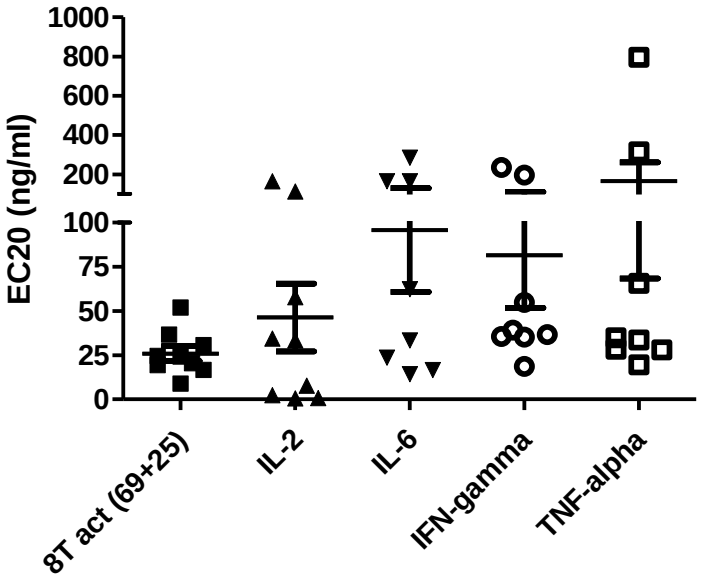
T 細胞上の CD3及び B 細胞上の CD20にモスネツズマブが同時に結合すると，T 細胞が活性化され，続いて T 細胞を介した B 細胞の殺傷が誘導される。ヒトにモスネツズマブを初回投与したときのサイトカインを介した毒性のリスクを評価し，ヒトにおける安全な開始用量を選択するために，ヒト PBMC を用いた非 GLP *in vitro* 試験を実施した。T 細胞活性化及びサイトカイン産生を含むモスネツズマブの生物活性を評価した。

モスネツズマブ誘発活性を評価するのに最も適切な試験法と考えられるため，ヒト PBMC を用いた可溶性相試験を用いた。まず，モスネツズマブは CD20+B 細胞と CD3+T 細胞の間の免疫学的シナプス形成を介して T 細胞を直接活性化し，共刺激シグナルは必要ない。第2に，モスネツズマブは Fc 領域の N297G アミノ酸置換により Fc 受容体に結合しないため，その活性は Fc 架橋に依存しない。したがって，モスネツズマブは可溶性相で完全に活性化され，共刺激シグナル及び/又は Fc 架橋を必要とする抗体で必要とされるプレート結合を必要としない

[2)]。最後に，プレートに結合させた測定法は，可溶性測定法よりも感度が低く，立体障害及び組織培養プレート内の細胞の表面積/密度の物理的制限により，固定化したモスネツズマブによる T 細胞及び B 細胞のシナプス形成を阻害する可能性がある。

9例の健康なドナーから採取した PBMC を用いて，1.6 ng/mL～25 μg/mL の濃度でモスネツズマブを検討した。最高濃度は，ヒトで予想される最高 C_{max} と一致するように選択され，後に臨床最高用量である60 mg で観察された C_{max} の約2倍であることが示された。24時間のインキュベーション後，T 細胞活性化（CD69+CD25+）及び総サイトカイン放出を測定した。CD8+及び CD4+T 細胞の活性化は同程度であった。CD8+T 細胞活性化及びサイトカイン産生（IL-2, IL-6, IFN-γ 及び TNF-α を含む）の20%有効濃度（EC_{20}）値を算出した（図 2.6.6.8.2-1及び表 2.6.6.8.2-1参照）。CD8+T 細胞の活性化における EC_{20}の平均値は25.9 ng/mL であり，IL-2, IL-6, IFN-γ 及び TNF-α のサイトカイン放出は46.3～165 ng/mL であった。第 I 相試験の開始用量である50 μg での C_{max} の推定値14 ng/mL（範囲：8～25 ng/mL）は，T 細胞活性化及びサイトカイン放出の平均 EC_{20}を下回る。

図 2.6.6.8.2-1　CD 8+T 細胞活性化（CD69+CD25+）及びサイトカイン産生における *in vitro* でのモスネツズマブの EC_{20}値の要約（4.2.3.7.7-2）



EC_{20}=20%有効濃度；IFN=インターフェロン；IL=インターロイキン；SEM=平均値の標準誤差；TNF=腫瘍壊死因子

注：8T act（69+25）=CD8+T 細胞上の CD69+/CD25+二重発現により測定した CD8+T 細胞活性化。エラーバーは SEM で平均値を示す。

表 2.6.6.8.2-1　CD 8+T 細胞活性化（CD69+CD25+）及びサイトカイン産生における *in vitro* でのモスネツズマブの EC_{20}値の要約（4.2.3.7.7-2）

	EC_{20} (ng/mL)				
	$CD8^+$ T 細胞活性化 ($CD69^+CD25^+$)	IL-2	IL-6	IFN-γ	TNF-α
平均	25.9	46.3	95.8	81.5	165
SD	8.82	12.6	57.8	84.0	274
SEM	4.19	19.3	35.0	29.7	96.8

EC_{20}=20%有効濃度；IFN=インターフェロン；IL=インターロイキン；SEM=平均値の標準誤差；TNF=腫瘍壊死因子

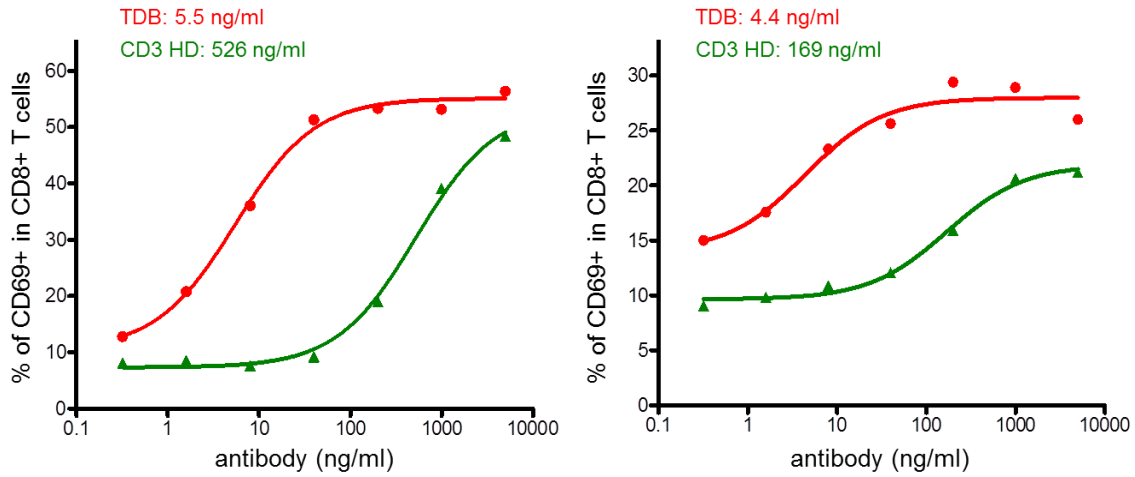
備考：EC_{20} 値は GraphPad Prism 5 で算出した。

2.6.6.8.3　ヒト PBMC 中の製品バリアントである抗 CD3ホモ二量体の生物学的特性及びリスク評価（4.2.3.7.7-2）

モスネツズマブ中には抗 CD3ホモ二量体が低レベルで存在している可能性があり（2.3.S.3.1 項），CD20非依存性の T 細胞活性化及びサイトカイン放出，並びに B 細胞を標的とするモスネツズマブの細胞傷害活性に影響を及ぼす可能性がある。製品中の抗 CD3ホモ二量体のリスク評価及び許容レベルの決定のために，生物活性の特性解析を行い，ヒト PBMC を用いて *in vitro* でのモスネツズマブ活性に対する潜在的影響を評価した。

ヒト PBMC 中の抗 CD3ホモ二量体の生物学的特性：抗 CD3ホモ二量体は T 細胞上のヒト CD3 ε 鎖への二価結合特性を保持する。ヒト PBMC を用いて，抗 CD3ホモ二量体及びモスネツズマブの T 細胞活性化活性を比較した。図 2.6.6.8.3-1に示すように，いずれの分子も用量依存的に T 細胞活性化を誘導した。しかし，抗 CD3ホモ二量体の効力はモスネツズマブよりも大幅に低かった。

図 2.6.6.8.3-1　T 細胞活性化アッセイにおける抗 CD3ホモ二量体の効力はモスネツズマブよりも大幅に低い（4.2.3.7.7-2）



HD=ホモ二量体；TDB=T 細胞依存性二重特異性抗体（モスネツズマブ）

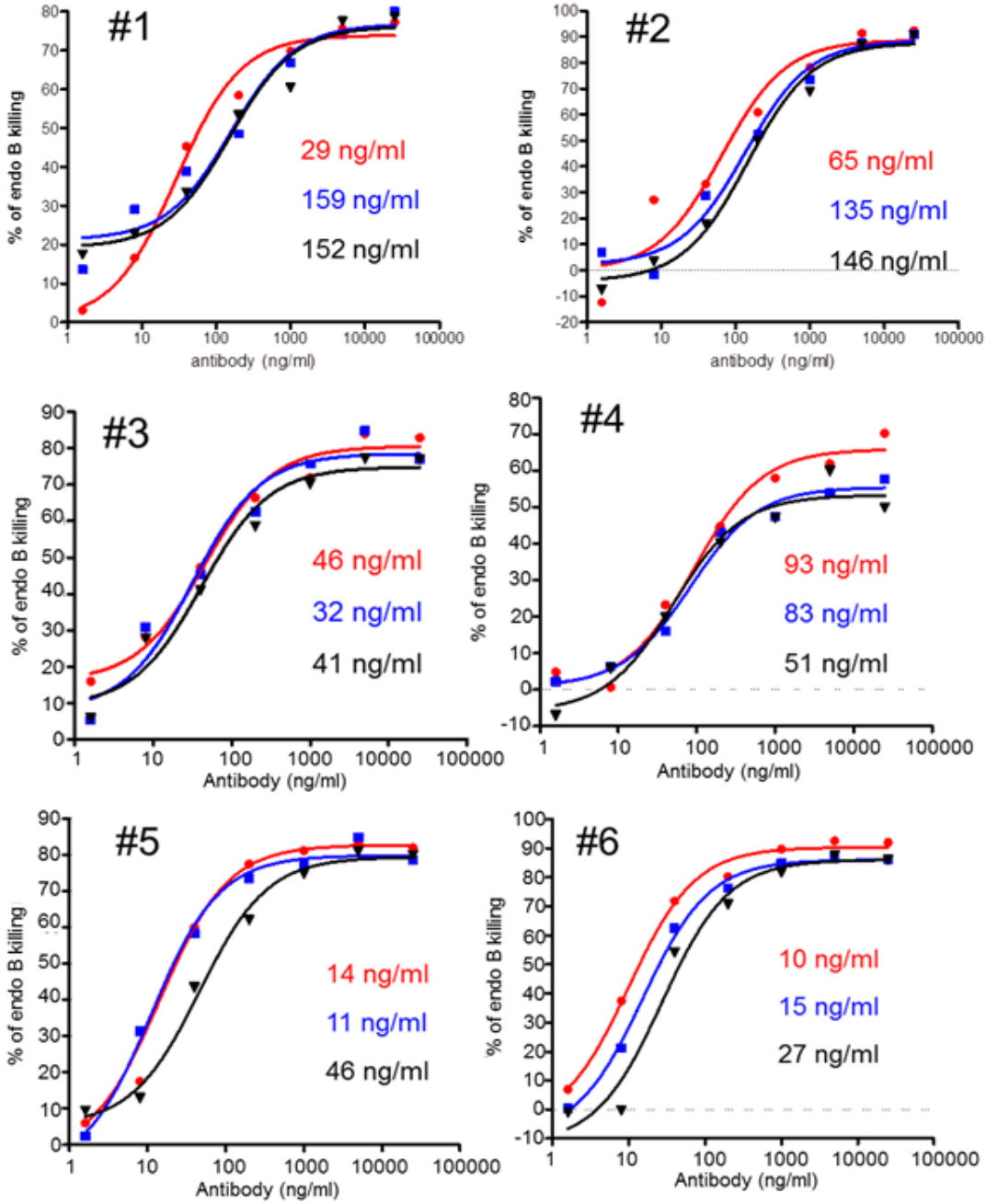
注：2名の健康ドナー（それぞれ左右の図）から採取したヒト末梢血単核細胞を，各抗体の濃度を漸増させながら（最高 5 μg/mL），24時間インキュベートした（赤色がモスネツズマブ，緑色が抗 CD3ホモ二量体であり，50%有効濃度値が示されている）。

モスネツズマブ製剤中には抗 CD3ホモ二量体が低レベルで存在するため，モスネツズマブが *in vitro* で混合物として存在した場合のモスネツズマブの活性に対する抗 CD3ホモ二量体の影響を評価した。具体的には，ヒト PBMC（健康ドナー6例）を用いた *in vitro* アッセイにおいて，モスネツズマブ単独及びモスネツズマブに2.5%又は5%の精製抗 CD3ホモ二量体を添加して広範な濃度（1.6 ng/mL～25 μg/mL）で検討した。最高抗体濃度は，ヒトで予想される最高 C_{max} と一致するように選択したが，後に，臨床最高用量の60 mg で観察された C_{max} の約2倍であることが示された。同一ドナー6例の PBMC を用いて，2セットのアッセイを並行して実施した。最初の試験セットでは全 PBMC を用い，その中でモスネツズマブと抗 CD3ホモ二量体の両方が活性を示した。2セット目のアッセイは B 細胞を除去した PBMC を用いて実施し，T 細胞活性化及びサイトカイン放出により測定した CD20非依存性活性を評価した。これは主に抗 CD3ホモ二量体によるものであり，モスネツズマブによるものではないと予想された。

図 2.6.6.8.3-2の用量反応曲線に示すように，抗 CD3ホモ二量体は，最大5%の濃度で，モスネツズマブによる B 細胞傷害を阻害しなかった。T 細胞活性化及びサイトカイン放出の評価については，1例のドナーから得られた代表的な完全用量反応曲線及び全6例のドナーから得られた検討した最高濃度である25 μg/mL での結果を図 2.6.6.8.3-3A 及び B に示す。サイトカイン放出については，すべてのサイトカインで同様の結果が認められており（例：IL-6，TNF-α，IL-2，INF-γ），IL-6及び TNF-α の結果を図 2.6.6.8.3-3B に示した。全 PBMC を用いたアッセイでは，抗 CD3ホモ二量体を2.5%又は5%の割合で添加しても，T 細胞の活性化又はサイトカイン放出レベルは，モスネツズマブ単独の場合を上回らなかった。B 細胞を死滅させた PBMC を用いたアッセイでは，T 細胞活性化及びサイトカイン放出は CD20非依存的活性のレベルを反映していると考えられる。モスネツズマブ単剤投与時に認められた T 細胞活性化及びサイトカイン放出の低下は，培養中に残存した B 細胞によるものと考えられた。25 μg/mL までの濃度で抗 CD3ホモ二量体を最大5%含むモスネツズマブは，B 細胞枯渇 PBMC においてモスネツズマブ単独と同程度か，わずかに活性を増加させたのみであった。また，最大5%の抗 CD3ホモ二量体と関連して観察された CD20非依存性活性は，全 PBMC におけるモスネツズマブの CD20依存性作用よりも大幅に低かった。これらの結果から，抗 CD3ホモ二量体が最大5%の濃度で存在しても，ヒトにおける予想有効用量でのモスネツズマブの生物活性及び活性への影響はごくわずかであることが示唆される。

図 2.6.6.8.3-2　抗 CD3ホモ二量体を最大5%添加しても，*in vitro* ではモスネツズマブによる B 細胞傷害は阻害されない（4.2.3.7.7-2）

赤＝モスネツズマブ
青＝モスネツズマブ＋2.5% 抗 CD3 二量体
黒＝モスネツズマブ＋5% 抗 CD3 二量体

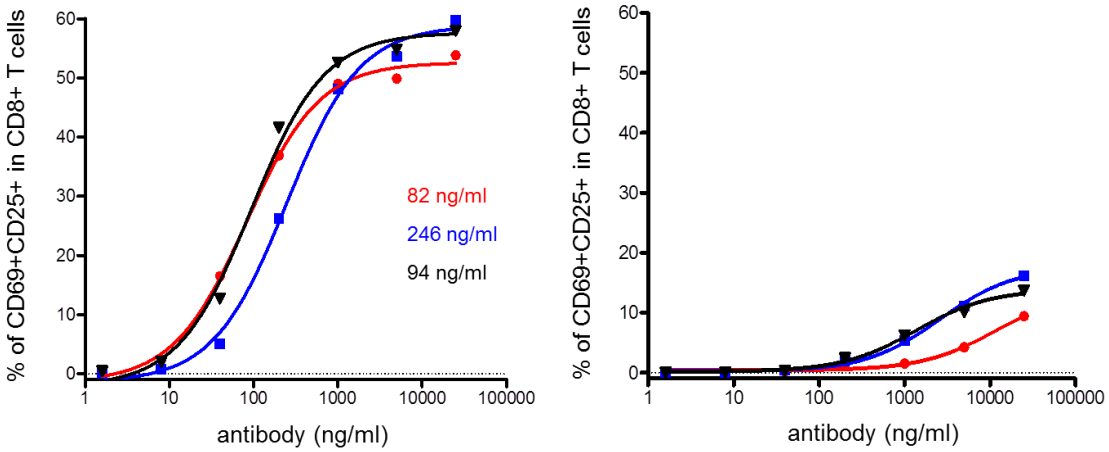


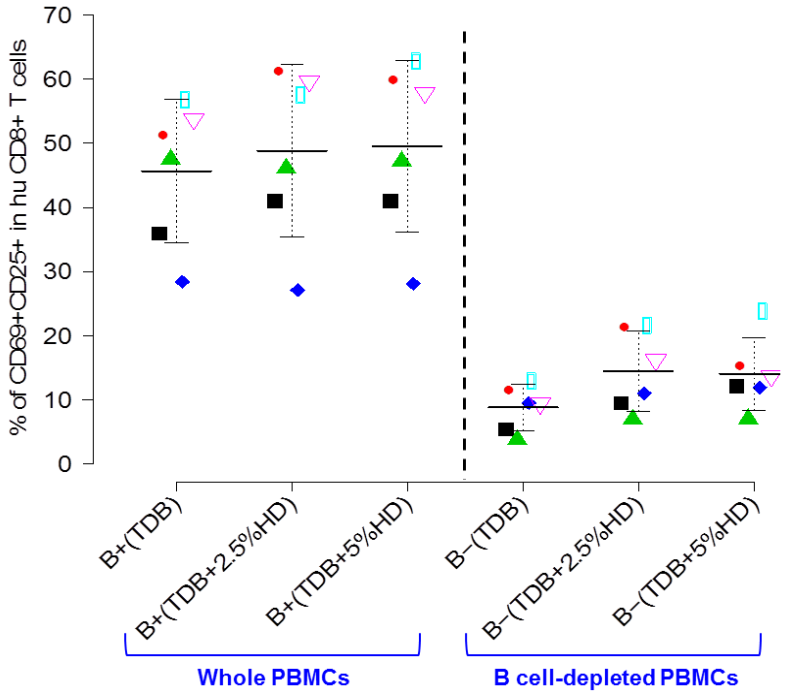
注：B 細胞死滅アッセイでは，健康ドナー6例から単離したヒト末梢血単核細胞（PBMC）を使用した（50%有効濃度値が示されている）。モスネツズマブ（赤色）及び2.5%又は5%の抗 CD3ホモ二量体（それぞれ青色及び黒色）とともに PBMC を24時間インキュベートした。蛍光活性化セルソーターにより生存 B 細胞数を測定した。B 細胞傷害率は非処理対照に基づいて算出した。

図 2.6.6.8.3-3　モスネツズマブに抗 CD3ホモ二量体を最大5%添加しても，T 細胞の活性化及びサイトカイン放出への影響は最小限である（4.2.3.7.7-2）

A.　CD8⁺ T 細胞活性化 (CD69⁺CD25⁺)

赤＝モスネツズマブ
青＝モスネツズマブ＋ 2.5% 抗 CD3 二量体
黒＝モスネツズマブ＋5% 抗 CD3 二量体



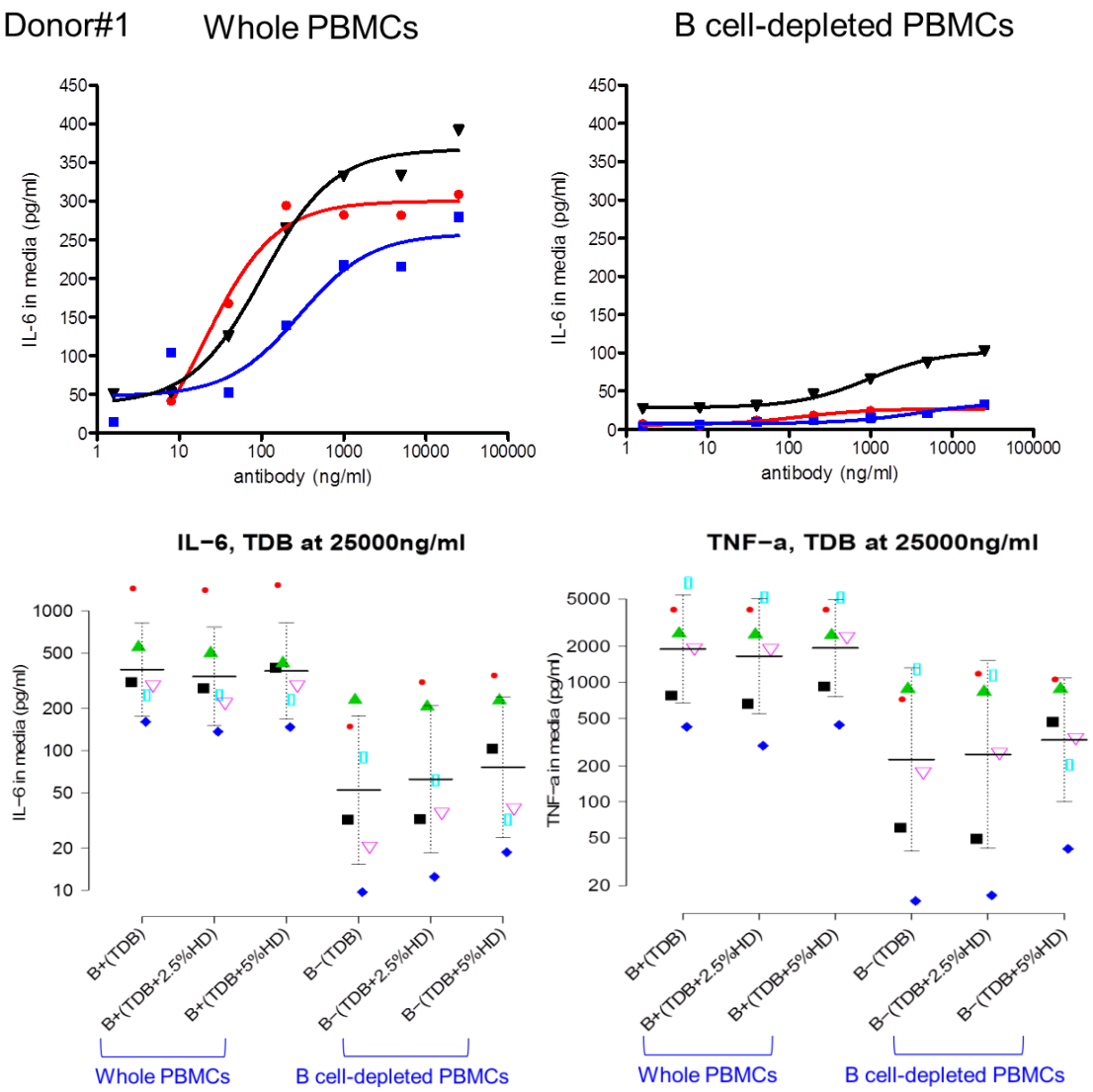


HD=ホモ二量体；hu=ヒト；PBMC=末梢血単核球；TDB=T 細胞依存性二重特異性抗体（モスネツズマブ）

注：代表例として1例のドナーから採取した CD8陽性 T 細胞活性化アッセイの結果を上図に示す。下図は，全 PBMC 又は B 細胞を除去した PBMC（各色は1つの特定ドナーを表す。群平均及び標準偏差も示す）を用いて，抗体濃度25 μg/mL で CD8+T 細胞活性化を要約したものである。

B. IL-6 のサイトカイン放出

赤＝モスネツズマブ
青＝モスネツズマブ＋2.5% 抗 CD3 二量体
黒＝モスネツズマブ＋5% 抗 CD3 二量体



HD=ホモ二量体；IL=インターロイキン；PBMC=末梢血単核球；TDB=T 細胞依存性二重特異性抗体（モスネツズマブ）；TNF=腫瘍壊死因子

注：代表例として1例のドナーから得られた IL–6産生アッセイの結果を上図に示す。下図は，全 PBMC 又は B 細胞枯渇 PBMC を用いた場合の，抗体濃度25 μg/mL での IL-6及び TNF-α 産生の要約を示す（サイトカイン放出データの代表として）。PBMC からの B 細胞除去は磁気活性化セルソーティング CD19+磁気ビーズを用いて行い，B 細胞除去効率はドナー間で変動した。B 細胞除去 PBMC において観察されたモスネツズマブによる T 細胞活性化及びサイトカイン放出は，ごくわずかの残存 B 細胞があったためと考えられた。

これらの結果を総合すると，抗 CD3ホモ二量体が最大5%の濃度で存在しても，T 細胞活性化及びサイトカイン放出に伴う潜在的な臨床毒性が増強される可能性は極めて低いことが裏付けられる。更に，モスネツズマブによる B 細胞除去は，これらのレベルの抗 CD3ホモ二量体による影響を受けなかった。これらのデータと臨床安全性モニタリングの結果は，抗 CD3ホ

モ二量体抗体の管理戦略を支持する（2.3.P.5.6項）。

2.6.6.9 考察及び結論

IV 投与（ボーラス投与［約30秒~1分］又は1時間かけて点滴静注）又は SC 投与によるカニクイザルを用いた単回投与毒性試験及び最長26週間の反復投与毒性試験において，モスネツズマブと大腸菌から産生された機能的に同等な抗 CD20/CD3 TDB 抗体（2H7v16/40G5c）の特性が十分に明らかにされている。モスネツズマブの重要な非臨床所見として，主に初回投与時に限定される投与後の CRS 様の毒性，主に中枢神経系に認められ，その他の臓器への浸潤はまれであった可逆性の血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤，長期投与後の持続的な B 細胞枯渇による易感染性などが認められた。いずれの所見も薬理作用を介した変化と考えられた。

その作用機序と一致して，0.01 mg/kg 以上の用量では，IV 投与により一過性の用量依存的な T 細胞活性化，サイトカイン放出（例：IL-1RA，IL-2，IL-5，IL-6，IL-13，IL-17，G-CSF，TNF-α及び IFN-γ）及び CRP の増加が誘導された。血漿中サイトカイン濃度の増加は主に初回投与時のみに認められ，その後の投与では明らかなサイトカイン増加は認められなかった。投与後の急性毒性は CRS の症状と類似しており，0.1 mg/kg 以上で頻脈，体温上昇，血液生化学的検査値の変化（例：総タンパク，アルブミン/グロブリン比及びカルシウムの減少を伴うアルブミン及びコレステロールの減少）及び凝固パラメータの変化（例：フィブリノゲンの増加），0.2 mg/kg 以上で一般状態の変化（例：嘔吐，活動性低下，食欲減退），1 mg/kg で低血圧及び一般状態の変化（例：粘液便，円背位）が認められた。これらの所見は，モスネツズマブによるサイトカイン放出及び凝固系の軽微な活性化を伴う急性期蛋白反応に起因するものであった。更に，モスネツズマブの0.01 mg/kg 以上の用量では，サイトカインに関連した細胞の遊走及び再分布に起因する一過性の循環血中白血球（リンパ球，単球，好酸球など）の減少，1 mg/kg の用量では軽微な肝細胞変性及びそれに伴う軽微な ALT/AST 増加を伴う肝細胞の単細胞壊死が誘発され，これはサイトカインを介した肝細胞損傷によるものと考えられた。サイトカイン放出が初回投与時に限定されることと一致して，これらの所見は主に初回投与後又は単回投与後に認められた。CRS は臨床で特定されたリスクであり，主に1日目に1 mg，8日目に2 mg，15日目に60 mg のモスネツズマブを投与したときの初回サイクルに限定され，点滴静注による2段階増量レジメンで管理可能である。

血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤の病理組織学的所見は単回及び反復投与（最長26週間）試験で主に脳内にみられ，発現割合は低いものの脊髄及び坐骨神経でも認められた。また，26週間反復投与毒性試験では，心臓，肝臓，腎臓，消化管及び胆嚢などの他の器官にもまれに認められた。これらの所見は用量依存的に発現頻度及び/又は重症度が増加する傾向を示し，概して反応性の肥大した内皮細胞の存在を伴う亜急性又は慢性の活動性炎症細胞浸潤（すなわち，単核細胞及び多形核白血球，特に好酸球）を特徴とした。脳では，局所ミクログリア反応を伴う所見であった。回復性を検討した動物では，ニューロン変性は認められず，所見も認められなかったことから，回復性があると判断された。

生存中の神経学的異常は，4週間の漸増投与試験（4.2.3.2-4）において，Day 1，2及び8にそれぞれ0.2，0.8及び1 mg/kg のモスネツズマブを IV 投与した1例で Day 11に痙攣が1件発現したのみであった。この動物の CNS の病理組織学的病変は，Day 25の計画剖検時に残りの動物の CNS で確認された病変よりも広範囲であり，痙攣の一般状態の変化の原因と考えられた。この動物の C_{max} 及び AUC の値は，モスネツズマブ単剤を投与した第 I/II 相試験である GO29781試験で同程度の期間（投与開始から2週間；1日目に1 mg，8日目に2 mg）にわたってモスネツズマブを投与された患者の値と比較して，それぞれ約50倍及び20倍高かった。いずれの毒性試験においても，長期投与後においてもその他の神経学的異常は認められなかった。

中枢神経系の血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤の原因は明らかではないが，サイトカイン/ケモカインによる脳血管内のケモカイン受容体及び接着分子のアップレギュレーション並びに免疫細胞の活性化，遊走及び遊走に続発する可能性がある。この仮説に基づき，サイトカイン放

出を阻害することにより，CNS 所見と同様に，CRS 様急性毒性を軽減する様々な方法を検討した。

最初に，C_{max} 及び T_{max} を鈍化させる方法を評価した。モスネツズマブはカニクイザルにおいて高い免疫原性を示すことから，組織 B 細胞を急速に枯渇させることにより ADA の発現を防ぐため，最初の1週間に高用量の1 mg/kg が必要である。1 mg/kg の初回 IV 投与に伴う CRS 様の急性毒性を軽減するため，漸増投与法（Day 1に0.2 mg/kg，Day 2に0.8 mg/kg）を用いた。Day 1では漸増投与に伴ってサイトカイン放出及び有害な一般状態の変化が依然として認められたが，Day 2では高用量（0.8 mg/kg）でもサイトカイン放出の減少，軽微な一般状態の変化がみられ，両日とも低血圧は認められなかったことは有望な結果であった。

カニクイザルでは ADA の発現が速やかであり，臨床的に意義のある用量レベルでの漸増投与を SC 投与により評価することは困難であったため，カニクイザルを用いた単回投与試験及び反復投与試験の両方で IV 投与を検討した。IV 投与と比較すると，SC 投与では C_{max} が72又は80%低下し，T_{max} が約24時間遅延した。また，サイトカイン濃度及び T 細胞活性化が低下し，CRS 様の臨床徴候及び低血圧が消失した他，CNS の血管/血管周囲所見の発現頻度が低下した。IL–6及び IFN–γ などの一部のサイトカインでは，SC 投与によりピークがわずかに遅延した。いずれの試験においても，1 mg/kgIV 投与群と SC 投与群の末梢血及びリンパ組織における B 細胞枯渇レベルは同程度であったことから，SC 投与は非臨床有効性評価項目に影響を及ぼさないことが示唆された。臨床では，2ステップの段階投与法によるモスネツズマブの IV 投与及び SC 注射の両方が使用されており，サイトカインピーク及び CRS を軽減することが示されている。

コルチコステロイドの予防的投与は，T 細胞二重特異性療法及び CAR T 細胞療法における急性 CRS の緩和に有効であることが示されている[6)7)8)]。カニクイザルにモスネツズマブを IV 投与する前にデキサメタゾンを前投与すると，循環血中サイトカインの一部（IL-6等）及び一般状態の変化が緩和した。しかし，動物数が少ないこと，動物間のばらつきがあること，曝露量に差があることから，血管/血管周囲の所見に対するデキサメタゾンの影響を明らかにすることはできなかった。デキサメタゾンを前投与した動物では，モスネツズマブの曝露量が約30%増加したが，これはデキサメタゾンを前投与した動物で T 細胞数が減少し，標的介在性のモスネツズマブのクリアランスが低下したためと考えられる。

26週間反復投与毒性試験では，主に初回投与に関連する CRS 関連毒性及び軽微から軽度の血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤に加え，0.2/0.8/0.1 mg/kg 又は0.2/0.8/0.5 mg/kg（Day 1/Day 2/週）を投与した複数の動物でモスネツズマブに関連する上部尿路及び/又は腸感染の病理組織学的所見が認められた。このうち2例は体重減少及び/又は下痢が認められ，瀕死状態のため安楽死させた。感染に対する感受性の増加及び関連する瀕死状態は，モスネツズマブに直接起因するものではなく，モスネツズマブの薬理作用である B 細胞の長期枯渇による二次的変化と考えられた。感染症のリスク増加は，臨床で特定されたリスクである。上記の所見を除き，モスネツズマブの長期投与後にその他の毒性は認められず，最高投与量における曝露量［C_{max}（時間0から TK Day 3まで）=22.2 μg/mL；$AUC_{Day175\text{-}182}$=84.6 μg·day/mL］は，ヒトに臨床推奨用量の1/2/60/30 mg［1，2及び60 mg を段階的に漸増後に30 mg に減量（3週に1回投与）］を投与したときの曝露量［$C_{max\ CYCLE4}$=7.02 μg/mL；$AUC_{Day0\text{-}42}$=125.7 μg ·day/mL（7日間あたりに換算すると20.95 μg ·day/mL）］（CTD 5.3.3.5-1 Table 9）と比較して約3〜4倍あった。

モスネツズマブの薬物乱用の可能性を，証拠の重み付けアプローチを用いて評価した。脳には，500 Da を超える親水性治療薬の傍細胞輸送を制限するタイトジャンクションによって結合している脳微小血管及び毛細血管の特殊な内皮細胞によって形成される血液脳関門（BBB）が存在し，治療用抗体はこの BBB により脳内への通過が制限される[9)]。更に，モスネツズマブはその標的に対して高い選択性と特異性を示し，毒性試験において標的外結合や活性のエビデンスは認められなかった。したがって，モスネツズマブが直接 CNS 活性を誘導する可能性は極めて低い。サイトカインカスケード及び免疫細胞活性化に続発すると考えられる CNS の血

管周囲/血管炎症細胞浸潤の病理組織学的所見が認められたが，カニクイザルを用いたいずれの毒性試験においても乱用の可能性を示唆する行動又は活動パターンは認められなかった。更に，臨床試験では，モスネツズマブが薬物乱用及び依存の可能性を有するというエビデンスはない（2.7.4.5.6項）。したがって，証拠の重み付けからは，モスネツズマブが乱用の可能性を有する可能性は非常に低く，乱用傾向に関する更なる非臨床評価は，製造販売承認を支持するために必要ではないと考えられる。

要約すると，非臨床安全性プログラムにより安全性プロファイルの特性が明らかになり，モスネツズマブの臨床開発及び承認申請が裏付けられた。モスネツズマブの IV 投与後に認められた主な所見は，投与後の CRS 様の毒性，血管/血管周囲の炎症性細胞浸潤，持続的な B 細胞枯渇による長期投与後の易感染性の増加などであり，臨床推奨用量の1/2/60/30 mg と相関する曝露量で認められた。これらの所見は薬理作用を介した影響と一致しており，モニタリング可能かつ管理可能であると考えられた。

2.6.6.10 引用文献

1) Lavie F, Miceli-Richard C, Ittah M, et al. Increase of B cell activating factor of the TNF family (BAFF) after rituximab treatment: insights into a new regulating system of BAFF production. Ann Rheum Dis 2007;66(5):700-3.
2) Finco D, Grimaldi C, Fort M. Cytokine release assays: current practices and future directions. Cytokine 2014;66(2):143-55.
3) リツキシマブ（遺伝子組換え），申請資料概要，2001 年 6 月 20 日.
4) オビヌツズマブ（遺伝子組換え），申請資料概要，2018 年 7 月 2 日.
5) Ocrelizumab (Ocrevus®) United States Package Insert. Available at: https://www.gene.com/download/pdf/ocrevus_prescribing.pdf
6) Brandl C, Haas C, d'Argouges S, et al. The effect of dexamethasone on polyclonal T cell activation and redirected target cell lysis as induced by a CD19/CD3-bispecific single-chain antibody construct. Cancer Immunol Immunother 2007;56(10):1551-63.
7) Goebeler ME, Knop S, Viardot A, et al. Bispecific T cell engager (BiTE) antibody construct blinatumomab for the treatment of patients with relapsed/refractory Non-Hodgkin lymphoma: final results from a Phase I study. J Clin Oncol 2016;34(10):1104-11.
8) Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. N Engl J Med 2017;377(26):2531-44.
9) Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, et al. Structure and function of the blood-brain barrier. Neurobiol Dis 2010;37(1):13-25.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表 8
2.6.7.5 単回投与毒性試験 9
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 31
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 37
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 67
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 67
2.6.7.10 がん原性試験 67
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 67
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 67
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 67
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 67
2.6.7.15 新生児を用いた試験 67
2.6.7.16 局所刺激性試験 67
2.6.7.17 その他の毒性試験 68

表一覧

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（被験物質：2H7v16/40G5c） 3
表 2.6.7.1-2 毒性試験一覧表（被験物質：モスネツズマブ） 5
表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表 8
表 2.6.7.5-1 単回投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表 9
表 2.6.7.5-2 単回投与毒性試験：重要な試験の一覧表 12
表 2.6.7.6-1 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表（被験物質：2H7v16/40G5c） 31
表 2.6.7.6-2 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表（被験物質：モスネツズマブ） 35
表 2.6.7.7-1 反復投与毒性試験：重要な試験の一覧表 37
表 2.6.7.17-1 その他の毒性試験の一覧表 68

略語一覧

略語	英名	和名
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
aPTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the serum concentration–time curve	血清中濃度-時間曲線下面積
BAFF	B cell activating factor	B 細胞活性化因子
C_{max}	maximum observed serum concentration	最高血清中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CFU	colony forming unit	コロニー形成単位
E. coli	*Escherichia coli*	大腸菌
GALT	gut associated lymphoid tissues	腸管関連リンパ組織
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HNSTD	the highest non severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大用量
IHC	immunohistochemistry	免疫組織化学
IFN	interferon	インターフェロン
IL	interleukin	インターロイキン
IV	intravenous	静脈内
LAL	limulus amebocyte lysate	–
MCP	monocyte chemotactic protein	単球走化性蛋白質
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像法
NOAEL	the no observed adverse effect level	無毒性量
PALS	periarteriolar lymphoid sheaths	細動脈周囲リンパ鞘
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PD	pharmacodynamic	薬力学
SC	subcutaneous	皮下
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
T_{max}	time of observed C_{max}	最高血清中濃度到達時間
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（被験物質：2H7v16/40G5c）

Test Article [b]**:** 2H7v16/40G5c

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg [a])	Testing Facility	GLP Compliance	CTD番号 Study No.
Single-Dose Toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	Single dose	1 [a, b]	[redacted]	No	4.2.3.1-1 [redacted]-1514
	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	Single dose	1 [a, b]	[redacted]	No	4.2.3.1-2 [redacted]-2135
Repeat-Dose Toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	4 weeks [c, d]	0, 0.01, 0.1, or 1 [a, b]	[redacted]	No	4.2.3.2-1 [redacted]-3160
	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus) or SC	4 weeks [c]	0 IV, 1 IV or 1 SC [a, b]	[redacted]	No	4.2.3.2-2 [redacted]-1689
	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	4 weeks [c]	1 [a, b]	[redacted]	No	4.2.3.2-3 [redacted]-2134

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous

[a] Unless otherwise specified, the highest maximum tolerated dose (MTD) is underlined.

[b] 2H7v16/40G5c (produced in E. coli) was used as the test article.

[c] Weekly × 4; terminal necropsy on Day 29.

[d] Recover necropsy (control and 1 mg/kg group) on Day 79.

表 2.6.7.1-2 毒性試験一覧表（被験物質：モスネツズマブ）

Test Article [b]**:** Mosunetuzumab

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg [a])	Testing Facility	GLP Compliance	CTD番号 Study No.
Single-Dose Toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (infusion) or SC	Single dose	0 IV/SC, 0.01, 0.1, or <u>1 IV</u> <u>1 SC</u> [a]	[redacted]	Yes	4.2.3.1-3 [redacted]-1246
Repeat-Dose Toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (infusion)	4 weeks [d]	0 0.2/0.8/0.3 [c] 0.2/0.8/1 [c] 0.2/0.8/3 [c]	[redacted]	No	4.2.3.2-4 [redacted]-2088
	Monkey / Cynomolgus	IV (infusion)	26 weeks [e]	0 0.2/0.8/0.1 [c] 0.2/0.8/0.5 [c]	[redacted]	Yes	4.2.3.2-5 [redacted]-1815
Other Toxicity Studies: Tissue Cross Reactivity	Human and select Cynomolgus tissues	*In vitro*	NA	10 and 50 µg/mL	[redacted]	Yes	4.2.3.7.7-1 [redacted]-2073
	Human PBMCs	*In vitro*	NA	1.6 ng/mL to 25 µg/mL	[redacted]	No	4.2.3.7.7-2 [redacted]-3526

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; SC = subcutaneous.

[a] Unless otherwise specified, the highest non severely toxic dose (HNSTD) is underlined.

[b] BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

[c] Dose levels indicate Day 1/Day 2/subsequent weekly doses.

[d] Day 1, Day 2, then weekly × 3 on Days 8, 15 and 22.

[e] Day 1, Day 2, then weekly × 25 from Day 8 to Day 183.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧表

					Test Article[a]**:** 2H7v16/40G5c
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Study No.
Single-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	1	No	■-1514
Single-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	1	No	■-2135
Repeat-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	0, 0.01, 0.1, or 1	No	■-3160
Repeat-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)/SC	0 IV, 1 IV, or 1 SC	No	■-1689
Repeat-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	1	No	■-2134
					Test Article[b]**:** Mosunetuzumab
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Study No.
Single-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (infusion)/SC	0 IV/SC 0.01, 0.1, 1 IV; 1 SC	Yes	■-1246
Repeat-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (infusion)	0; 0.2/0.8/0.3[c]; 0.2/0.8/1[c]; 0.2/0.8/3[c]	No	■-2088
Repeat-dose toxicity	Monkey / Cynomolgus	IV (Infusion)	0; 0.2/0.8/0.1[c]; 0.2/0.8/0.5[c]	Yes	■-1815

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

Note: IV bolus is approximately 30 seconds to 1 minute.

[a] 2H7v16/40G5c (produced in *E. coli*) was used as the test article.

[b] BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

[c] Dose levels indicate Day 1/Day 2/subsequent weekly doses.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表

トキシコキネティクスデータについては、2.6.5薬物動態試験概要表を参照のこと。

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表

表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表

				Test Article [a]**:** 2H7v16/40G5c
Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities	Study No.	Type of Study
011013-B	100%	NA	■-1514	Single-dose toxicity
011013-B	100%	NA	■-2135	Single-dose toxicity
011013-B	100%	NA	■-3160	Repeat-dose toxicity
PUR40696	100%	NA	■-1689	Repeat-dose toxicity
PUR40695	100%	NA	■-2134	Repeat-dose toxicity
				Test Article [b]**:** Mosunetuzumab
Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities	Study No.	Type of Study
042414	99%	Endotoxin (LAL) 5.0 EU/mL [c] Bioburden 0 CFU/10 mL [c]	■-1246	Single-dose toxicity
682771	98.8	Endotoxin (LAL) < 0.40 EU/mL	■-2088	Repeat-dose toxicity
PaCD3: 170-083016	98.8	Endotoxin (LAL) < 0.20 EU/mL [d] Bioburden 0 CFU/10 mL	■-1815	Repeat-dose toxicity
042414	99%	Endotoxin (LAL) 5.0 EU/mL [c] Bioburden 0 CFU/10 mL [c]	■-2073	Tissue Cross-Reactivity
Lot 17DEC20■YA (mosunetuzumab) [e]	98.4%	Endotoxin (LAL) 0.13 EU/mL	■-3526	*In vitro*
Lot 27JAN20■YA (CD3 homodimer) [e]	95.6%	Endotoxin (LAL) 2.1 EU/mL	■-3526	*In vitro*

CFU = colony forming unit; LAL = limulus amebocyte lysate; NA = not applicable.

[a] 2H7v16/40G5c (produced in *E. coli*) was used as the test article.

[b] BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

[c] Data are from drug product batch 638415 made from drug substance batch 042414.

[d] Data are from drug product batch 3143314 made from drug substance batch PaCD3: 170-083016.

[e] Lot 17DEC20■YA and Lot 27JAN20■YA were early development, R&D runs that were filled directly into vials, and bioburden testing was not required due to the stage of development.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

表 2.6.7.5-1 単回投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表

Test Article: 2H7v16/40G5c

Species/ Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	NOAEL or HNSTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	1	3/M	1 mg/kg IV	NA	• Clinical signs: post-dose clinical signs (emesis) • Hematology: transient reduction in circulating WBCs, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils and platelets, recovered by Day 7 • Serum chemistry and coagulation: increases in ALT, AST, CRP, fibrinogen and total bilirubin, decreases in cholesterol and albumin (with associated decreases in total protein, albumin-to-globulin (A:G) ratio, and calcium), and minimal prolongation of PT and moderate prolongation of aPTT • PD effects: complete B-cell depletion in peripheral blood and lymphoid tissues, transient cytokine release and T-cell activation and reduction • Microscopic evaluation [a]: Brain: minimal to moderate vascular/perivascular infiltrates of mononuclear cells and eosinophils and mildly reactive endothelial cells in affected vessels on Day 7.	[redacted]-1514

表 2.6.7.5-1 単回投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表（続）

Species/ Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	NOAEL or HNSTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	1	3/M	1 mg/kg IV	NA	• Clinical signs, clin path and PD effects were similar to Study 13-1514. Additional clinical signs included hypothermia (1 of 9 animals), watery feces (4 of 9 animals), decreased activity (1 of 9 animals) and reduced appetite (7 of 9 animals). • Microscopic findings: ➢ Lymphoid organs: moderate to marked decrease in size/number of follicular germinal centers in the spleen and lymph nodes consistent with B-cell depletion through Day 28; increased lymphoid cellularity/mitosis within the T cell zone, e.g., periarteriolar lymphoid sheaths (PALS) in the spleen and paracortex in the lymph nodes on Day 3 consistent with T cell activation, redistribution and/or expansion; ➢ Minimal to mild, mixed cell infiltrates and/or protein deposition in choroid plexus/brain and mild vascular/perivascular mixed cell infiltrates in the sciatic nerve with local microglial reaction on Day 14, with no astrocyte reaction or neuronal damage; Hepatocellular degeneration, single-cell hepatocyte necrosis and/or Kupffer cell hypertrophy/hyperplasia on Day 3.	■-2135

ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase; aPTT = activated partial thromboplastin time; CRP = C-reactive proteins; GLP = Good Laboratory Practice; HNSTD = the highest non severely toxic dose; IV = intravenous; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; NOAEL = the no observed adverse effect level; PD = pharmacodynamic; PT = prothrombin time; WBC = white blood cell.

Note: 2H7v16/40G5c was produced in *E. coli*. IV bolus is approximately 30 seconds to 1 minute.

[a] Histopathology was done only on brain, spinal cord, heart, liver, and kidney.

表 2.6.7.5-2 単回投与毒性試験：重要な試験の一覧表

Test Article [n]: Mosunetuzumab

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus Initial Age: 2.6 to 6.5 years **Date of First Dose:** 28 Jul 20[redacted]	**Duration of Dosing:** Once (1 dose) **Duration of Postdose**: 7 weeks **Method of Administration:** Intravenous (IV, 60-minute infusion), or subcutaneous (SC) injection **Vehicle/Formulation:** [redacted] mM histidine acetate, [redacted] mM sucrose,[redacted]% (w/v) polysorbate 20 pH [redacted]	**Study No.:** [redacted]-1246 ([redacted] **Study No.:** 20058694) **Study Title:** A Single Dose Toxicokinetic, Pharmacodynamic, and Toxicology Study of BTCT4465A via Intravenous Infusion or Subcutaneous Administration in Cynomolgus Monkeys with a 7-week Recovery Period **GLP Status:** Yes
Special Features: Cardiovascular parameters and body temperature via telemetry[a], anti-drug antibody (ADA), pharmacodynamic (PD) cytokine and B-cell activating factor (BAFF) evaluation, flow cytometry (immunophenotyping) analysis of peripheral blood lymphocyte counts and peripheral blood and tissue sample evaluation for mononuclear cell populations, tissue immunohistochemistry (IHC) for CNS evaluation, tissue immunohistochemistry of spleen and lymph node (mesenteric and mandibular), single cell suspension evaluation for spleen and lymph node		

Dose Level: mg/kg (Route):	**0 (IV and SC)**		**0.01 (IV)**		**0.1 (IV)**		**1 (IV)**		**1 (SC)**	
Number of Animals [a, b]:	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics BTCT4465A (Mean ± SD):										
C_{max} (µg/mL)	< LLOQ [d]		0.165 ± 0.0243		1.62 ± 0.189		17.8 ± 1.83		4.93 ± 0.771	
$AUC_{(0-7)}$ (µg●day/mL)	< LLOQ		0.385 ± 0.0342		2.52 ± 0.566		32.1 ± 3.92		24.1 ± 4.01	
$AUC_{(0-t)}$ (µg●day/mL)	< LLOQ		0.420 ± 0.0834		2.69 ± 0.734		40.4 ± 14.4		28.5 ± 5.29	
Anti-drug Antibody (ADA) [e]	0		7		5		7		5	
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1 [c]	0	0	0
Body weight	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Dose Level: mg/kg (Route):	**0 (IV and SC)**		**0.01 (IV)**		**0.1 (IV)**		**1 (IV)**		**1 (SC)**	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Clinical Observations [f], Day 1-57										
Emesis (Day 1 only)	—	—	—	—	—	—	4	1	—	—
Activity Decreased (Day 1/2 only)	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—
Feces with mucoid material (Day 1 only)	—	—	—	—	—	—	2	–	—	—
Hunched Posture (Day 1/2 only)	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Veterinary Physical Exam [f]										
Enlarged lymph nodes Day 2, 4, and/or Day 5	—	—	—	—	1	—	4	2	—	—
Day 18 and/or Day 53 (Recovery)	—	1	—	—	1	—	1	1	1	—
Ophthalmic Examinations	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Respiration Rates	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Neurologic Examinations	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiology (non-telemetry animals)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cardiovascular Parameters and Body Temperature (telemetry animals) [g]	BTCT4465A administration at 0.1 mg/kg IV and 1 mg/kg (IV or SC) was associated with transiently increased heart rate and body temperature, and decreased blood pressure was present at 1 mg/kg IV only. The 0.1 mg/kg IV and 1 mg/kg SC dose groups had similar trends toward decreased blood pressure compared to control animals, but were within prestudy ranges, and an effect of dosing could not be ruled out.									

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Hematology										
White Blood Cell Count ($10^3/\mu L$)										
Day 2	15.82	13.24	5.50*	5.03*	4.82*	4.88*	5.88*	7.93*	3.30*	5.73*
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)										
Day 2	5.55	4.20	0.50	0.32	0.16*	0.16*	0.13*	0.21*	0.09*	0.11*
Monocytes ($10^3/\mu L$)										
Day 2	0.35	0.36	0.27	0.20*	0.13*	0.11*	0.08*	0.14*	0.09*	0.10*
Day 8	0.36	0.54	—	—	—	—	0.98*	1.08	—	—
Eosinophils ($10^3/\mu L$)										
Day 2	0.21	0.09	—	—	—	—	0.08*	—	—	0.06
Day 8	—	0.13	—	—	—	—	—	0.53*	—	—
Basophils ($10^3/\mu L$)										
Day 2	0.05	0.04	0.01*	0.01*	0.01*	0.02*	0.02*	0.01*	0.01*	0.02*
Day 8	0.04	0.05	—	—	0.08	0.09	0.12*	0.15*	0.07	0.10
Large Unstained Cells ($10^3/\mu L$)										
Day 2	0.05	0.04	—	—	0.03	0.02	0.01*	0.02*	0.02*	0.02
Day 8	0.05	0.05	—	—	0.12*	0.18*	0.18*	0.22*	0.19*	0.14
Platelet Count ($10^3/\mu L$), Day 2	448.9	479.9	—	—	289.0*	329.8	269.6*	333.7*	284.6*	363.8
Hemoglobin (g/dL) [h], Day 8	13.20	11.83	—	—	—	—	11.85*	10.73	—	—

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Coagulation										
Fibrinogen (mg/dL)										
Day 2	340.43	361.14	—	—	503.20*	456.40	473.29*	452.86	502.20*	—
Day 8	—	262.43	—	—	—	—	—	344.43*	—	—
Prothrombin Time (seconds) Day 2	12.56	—	—	—	—	—	13.87*	—	—	—
Activated Partial Thromboplastin Time (seconds), Day 2	25.46	23.43	—	—	—	25.84	32.86*	28.23*	28.26	28.28*
Clinical Chemistry, Day 2										
C-Reactive Protein (mg/dL)	3.13	4.74	6.48	7.24	16.24*	15.98*	20.49*	18.60*	19.86*	15.54*
Albumin (g/dL)	4.11	3.91	—	—	3.66*	3.12*	3.50*	3.14*	3.30*	3.40*
Total Bilirubin (mg/dL)	0.24	0.21	—	—	0.41	0.44*	0.50*	0.40*	0.44*	0.33
Cholesterol (mg/dL)	117.7	121.1	—	—	88.6*	106.2	86.1*	78.6	94.2	—
Urea Nitrogen (mg/dL)	19.29	20.29	—	—	—	—	37.00*	43.71*	—	39.80
Creatinine (mg/dL)	0.67	0.69	—	—	—	—	1.11*	1.01*	—	1.04*
Sodium (mEq/L)	147.6	147.0	—	—	—	—	142.1*	142.7*	—	—
Chloride (mEqL)	109.7	108.4	—	—	—	—	104.4*	104.4*	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Flow Cytometry (Blood)										
Blood; Standard; Absolute Counts										
Absolute CD4-/CD8-/CD40 + (CD40 + B-lymphocytes), per mL [i]										
Day 1: 2 hours PD	951	470	39	27	13	6	3	3	27	14
Day 8	1097	666	41	15	16	17	34	35	24	22
Absolute Sum of CD8-/CD4 + and CD4-/CD16-/CD8 + (Total T-Lymphocytes), per mL										
Day 1: 2 hours PD	1884	1353	132	109	47	31	17	14	121	96
Absolute CD8-/CD4 + (T-Helper Lymphocytes), per mL										
Day 1: 2 hours PD	1223	856	99	82	33	20	9	8	80	75
Absolute CD4-/CD16-/CD8 + (Cytotoxic T-Lymphocytes), per mL										
Day 1: 2 hours PD	661	497	32	27	14	12	8	6	42	21
Absolute CD4-/CD16 + (Natural Killer Cells), per mL										
Day 1: 2 hours PD	431	256	81	37	21	15	8	5	6	7

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	M: 7	F: 7	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M [c]: 7/6	F: 7	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings (cont'd)										
Blood; Activation; Percent of Cells Gated:										
CD8-/CD4+/CD25+ (CD25 expression on Th lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	24.44	16.71	18.32	24.10	31.26	42.38*	46.26	61.44*	17.66	12.56
Day 1: 24 hours PD	11.89	12.20	24.70	30.18	46.04*	53.78*	71.97*	70.79*	72.48*	53.38*
CD8-/CD4+/CD69+ (CD69 expression on Th lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	0.47	0.54	24.48*	23.20*	52.44*	69.84*	86.73*	86.57*	31.50*	19.32*
Day 1: 24 hours PD	0.56	0.92	9.76	9.10	17.54	28.32*	36.16*	42.81*	31.36*	35.23*
CD8-/CD4+/CD69+/CD25+ (CD69+CD25+ expression on Th lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	0.44	2.50	7.08	8.48	20.68	36.88*	39.27	41.84*	6.50	5.92
Day 1: 24 hours PD	0.30	0.28	2.88	2.94	12.08	15.60*	28.16	28.06*	25.94	18.68*
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+ (CD69 expression on Tc lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	4.83	5.79	48.44*	44.56*	72.96*	79.48*	86.79*	80.04*	50.46*	41.34*
Day 1: 24 hours PD	4.70	9.23	59.20*	57.84*	68.70*	76.08*	73.04*	73.97*	73.36*	82.05*
CD4-/CD16-/CD8+/CD25+ (CD25 expression on Tc lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	10.17	30.51	25.00	45.60	54.64	60.90	50.43	55.49	56.70	63.50
Day 1: 24 hours PD	7.37	6.62	19.98	17.92	11.86	16.16	16.73	20.11	12.42	8.23

Dose Level: mg/kg (Route):	**0 (IV and SC)**		**0.01 (IV)**		**0.1 (IV)**		**1 (IV)**		**1 (SC)**	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+/CD25+ (CD69 +CD25 + expression on Tc lymphocytes), %										
Day 1: 2 hours PD	0.80	3.17	31.50	29.52	50.62*	56.22*	51.37*	54.94*	35.36	33.22
Day 1: 24 hours PD	0.81	1.63	7.52*	7.64	6.94	12.56	12.83*	19.61	12.00*	6.83
Flow Cytometry (Tissue) (No. Evaluated Day 8, 22, 57)	(3,2,2)	(3,2,2)	(3,2,0)	(3,2,0)	(3,2,0)	(3,2,0)	(3,1,2)	(3,2,2)	(3,2,0)	(3,2,0)
Tissue; Standard; Percent of Cells Gated:										
Spleen: CD4-/CD8-/CD40+ (CD40+B-lymphocytes), %										
Day 8	49.10	35.93	9.10*	11.77*	0.27*	0.17*	0.20*	0.23*	0.10*	0.20*
Day 22	36.30	43.20	18.20	7.05	16.35	0.85	0.90	0.15	0.45	0.30
Spleen: Sum of CD8-/CD4+ and CD4-/CD16-/CD8+ (Total T-Lymphocytes), %										
Day 8	39.00	44.63	74.00*	68.33*	75.93*	82.43*	73.43*	78.77*	79.87*	78.90*
Day 22	41.40	47.05	56.25	73.45	69.15	78.15	85.00	80.45	80.45	83.15
Spleen: CD4-/CD16-/CD8+ (Cytotoxic T-Lymphocytes), %										
Day 8	16.00	21.17	46.17*	45.47*	49.30*	52.43*	58.30*	61.10*	61.17*	56.73*
Day 22	22.05	29.20	30.40	44.90	45.75	52.75	45.90	51.70	53.30	58.95

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	M: 7	F: 7	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M [c]: 7/6	F: 7	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings (cont'd)										
Mandibular Lymph Node: CD4-/CD8-/CD40+ (CD40+B-lymphocytes), %										
Day 8	28.00	17.20	8.87	8.97	1.47*	0.70	0.17*	0.07	0.13*	0.00
Day 22	19.90	30.35	16.70	7.90	12.95	1.95	0.30	0.20	0.10	0.50
Day 57	35.30	36.85	NA	NA	NA	NA	8.15	25.25	NA	NA
Mandibular Lymph Node: Sum of CD8-/CD4+ and CD4-/CD16-/CD8+ (Total T-Lymphocytes), %										
Day 8	65.00	76.90	86.13	84.67	91.93	64.03	92.90	93.37	83.40	80.13
Mandibular Lymph Node: CD4-/CD16-/CD8+ (Cytotoxic T- Lymphocytes), %										
Day 8	19.00	22.90	30.80	33.13	42.67	27.60	59.07*	53.87*	33.40	26.57
Mesenteric Lymph Node: CD4-/CD8-/CD40+ (CD40+ B-lymphocytes), %										
Day 8	35.80	26.77	12.43*	12.10*	3.53*	0.83*	0.57*	0.03*	0.10*	3.63*
Day 22	30.90	32.35	35.00	8.60	19.95	2.55	0.30	0.10	0.10	0.40
Day 57	40.15	29.15	NA	NA	NA	NA	9.65	55.10	NA	NA

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Mesenteric Lymph Node: Sum of CD8-/CD4 + and CD4-/CD16-/CD8 + (Total T-Lymphocytes), %										
Day 8	56.87	66.83	79.17*	78.57	85.67*	90.83*	88.97*	91.67*	90.00*	81.57
Day 22	61.60	60.95	56.00	81.40	69.90	81.10	89.90	89.00	88.55	89.35
Day 57	54.85	57.65	NA	NA	NA	NA	79.30	25.85	NA	NA
Mesenteric Lymph Node: CD4-/CD16-/CD8 + (Cytotoxic T- Lymphocytes), %										
Day 8	12.37	15.57	26.90	31.00	44.10*	48.20*	54.97*	48.87*	39.90*	34.53
Day 22	16.90	14.10	10.90	21.40	27.90	29.05	22.70	23.20	35.60	26.35
Tissue; Activation; Percent of Cells Gated:										
Mandibular Lymph Node: CD4-/CD16-/CD8 +/CD69 + (CD69 expression on Tc lymphocytes), %										
Day 8	10.73	14.07	8.70	7.43	16.23	33.57*	26.97	17.93	28.43*	30.67*
B-Cell Activating Factor (BAFF), % of Baseline										
Day 1: 24 hours PD	315.2	120.5	258.0	202.2	511.3	644.8	712.0	679.6	902.4	897.1
Day 2: 72 hours PD	361.6	121.5	369.9	244.1	656.9	578.0	1099.9	1079.4	1764.6	1409.7
Day 8	389.5	106.9	271.1	209.5	606.7	604.4	931.0	1074.6	1651.4	1366.8

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Plasma Cytokines [j]										
IL-IRA (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	357.70	816.74	—	—	2181.12*	2687.80*	3179.31*	3956.07*	1197.73	1429.87
Day 1: 6 hours PD	654.85	450.99	—	—	1147.48	1986.87*	4169.77*	4638.43*	2798.06*	3075.67*
IL-2 (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	55.48	98.54	—	—	—	—	598.07*	613.67*	—	—
IL-5 (pg/mL)										
Day 1: 6 hours PD	52.45	44.94	—	—	229.12	183.43	550.36*	677.30*	654.45*	211.37
IL-6 (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	37.50	47.26	230.04	248.68	598.85*	896.58*	3253.45*	2927.07*	626.51*	490.53*
Day 1: 6 hours PD	37.50	45.60	—	—	891.03	1231.86	5502.06*	3555.65*	3207.83*	2812.92*
IL-13 (pg/mL)										
Day 1: 6 hours PD	145.64	81.13	—	—	—	—	155.07	141.34	232.30	—
IL-17A (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	37.50	—	—	—	—	—	190.22*	—	—	—
G-CSF (pg/mL)										
Day 1: 6 hours PD	305.47	274.71	—	—	—	—	1632.93*	856.94*	642.63	784.41*
IFN-γ (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	37.50	55.89	—	—	233.17*	347.68*	1294.77*	1388.04*	—	—
Day 1: 6 hours PD	82.17	37.50	—	—	—	279.58*	1112.45*	553.77*	313.22*	521.41*
TNF-α (pg/mL)										
Day 1: 2 hours PD	173.67	271.05	—	—	—	—	1002.24*	964.95	1327.84*	1721.34*

Dose Level: mg/kg (Route):	**0 (IV and SC)**		**0.01 (IV)**		**0.1 (IV)**		**1 (IV)**		**1 (SC)**	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Terminal Euthanasia (Day 8)										
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Gross Pathology										
Lymph Node, Mandibular Enlargement	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric Enlargement	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Thymus, Small	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Organ Weight (%) [k, l]										
Spleen	3.490 g	2.948 g	—	—	—	—	+ 88*	+ 41	+ 37	+ 31
Thymus	1.523 g	1.959 g	—	-32	—	-44	-24	-74*	-34	-73*
Histopathology										
Gut-associated Lymphoid Tissue (GALT)										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Liver										
Hypertrophy/hyperplasia, Kupffer cell										
Minimal	0	0	0	0	2	2	1	2	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	1	1	3
Lymph node, mandibular										
Number increased, lymphocyte, paracortex										
Minimal	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	1	2	1	0	3
Moderate	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	2	1	2	2	3	1
Moderate	0	0	0	0	1	2	1	1	0	2
Lymph node, mesenteric										
Number increased, lymphocyte, paracortex										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2
Mild	0	0	0	0	1	3	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	1	1	1	3	1	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	2	0	2	3	2	2
Spleen										
Increased cellularity, lymphocyte, periarteriolar sheath										
Minimal	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2
Mild	0	0	1	1	2	0	2	1	3	1
Moderate	0	0	0	0	1	3	1	2	0	0
Increased phagocytic cells, red pulp										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3
Mild	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Thymus										
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	2	1	2	2	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	3	2	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Recovery Euthanasia (Day 22)										
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2
Gross Pathology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights [m]										
Histopathology										
Gut-associated Lymphoid Tissue (GALT)										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Liver										
Hypertrophy/hyperplasia, Kupffer cell										
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Lymph node, mandibular										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2
Lymph node, mesenteric										
Number increased, lymphocyte, paracortex										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Spleen										
Increased cellularity, lymphocyte, periarteriolar sheath										
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	2	1	1	2	1
Recovery Euthanasia (Day 57)										
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0
Gross Pathology	—	—	NA	NA	NA	NA	—	—	NA	NA
Organ Weights [m]										
Histopathology										
Lymph node, mandibular										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	NA	NA
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	NA	NA
Lymph node, mesenteric										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	NA	NA
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	NA	NA
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	NA	NA

Dose Level: mg/kg (Route):	0 (IV and SC)		0.01 (IV)		0.1 (IV)		1 (IV)		1 (SC)	
Number of Animals: [a,b]	**M: 7**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M [c]: 7/6**	**F: 7**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings (cont'd)										
Spleen										
Decreased number/size, follicle, germinal center										
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	NA	NA
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	NA	NA
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	NA	NA
Immunohistochemistry (CNS Assessment), all euthanasias	Administration of BTCT4465A at a dose of 1 mg/kg, via either intravenous or subcutaneous administration, was associated with slight to minimal, perivascular (generally) infiltrates of eosinophils with associated microgliosis in the brain and/or spinal cord and/or spinal nerve roots in one of six terminal necropsy (Day 8; seven days after dosing) males and three of six terminal necropsy females (intravenous and subcutaneous dose animals combined). These changes were not considered to be adverse because they were present at a frequency and severity that would not be expected to result in any clinical signs and there was no associated astrocytosis or neuronal changes. The single, 1.0 mg/kg male affected received subcutaneous administration. Of the three females affected at the 1.0 mg/kg dose level, two of three received intravenous administration and one of three received subcutaneous administration.									
Immunohistochemistry spleen and lymph nodes (mesenteric and mandibular), all euthanasias	Administration of BTCT4465A by single intravenous (IV) infusion or subcutaneous (SC) injection resulted in decreased CD20 (B-cell) immunoreactivity and increased CD3 (T-cell) immunoreactivity in the lymph nodes (mandibular and mesenteric) and spleen by Day 8 in a dose-dependent fashion. Administration of BTCT4465A was also associated with decreased Ki-67 immunoreactivity in B-cell rich areas of the lymph nodes and spleen and increased Ki-67 immunoreactivity in T-cell rich areas of the lymph nodes and spleen. Recovery periods of 2 and 7 weeks showed partial recovery of CD20 and Ki-67 immunoreactivity in the lymph nodes and spleen by Day 57, and complete recovery of normal CD3 expression in the lymph nodes and spleen by Day 57.									

ADA = anti-drug antibody; $AUC_{(0-t)}$ = the area under the concentration versus time curve from predose on Day 1 to the time of the last quantifiable drug concentration post dose; $AUC_{(0-7)}$ = the area under the concentration versus time curve from time zero to 7 days (168 hours) post dose; C_{max} = the maximum observed concentration measured after the dose; CNS = central nervous system; F = females; LLOQ = lower limit of quantitation; M = males; NA = not applicable; PD = post dose; SD = standard deviation; TK = toxicokinetic.
—No noteworthy findings; * ANOVA with Dunnett's/Dunn's ($p \leq 0.05$).

a Recovery animals (2/sex/group) were instrumented with a telemetry device for collection of cardiovascular and body temperature data.

b Number of animals includes animals for terminal necropsy on Day 8 (3/sex/group) and animals for recovery necropsy on Day 22 (2/sex/group), instrumented with telemetry devices; (excludes one male in the 1 mg/kg infusion groups that was euthanized on Day 2) and Day 57 (2/sex for the control and 1 mg/kg IV groups).

c One 1 mg/kg IV male was euthanized on Study Day 2 for reasons unrelated to the administration BTCT4465A. Data included in table when applicable.

d All concentrations of BTCT4465A in the control group and all Study Day 1 predose samples were below the lower limit of quantitation (< LLOQ; LOQ = 3 ng/mL).

e Number of animals confirmed positive for ADAs on one or more occasions postdose across dose levels is shown. None of the animals in the control group had positive ADA samples postdose, and none of the treated animals were confirmed positive for ADA prior to dosing. There was a correlation with reduced systemic exposure in two animals in the 0.01 mg/kg/dose group (1 male, 1 female) and four animals in the 0.1 mg/kg/dose group (2 male, 2 female) on Days 15 and 22, and in one female in the 1.0 mg/kg/dose IV group during the recovery period.

f Number of animals with finding during the time period indicated is shown. Observations included once daily cage side, and detailed observations (conducted twice on Day 1 at 1-2 hours and 4-5 hours following dosing, and once prior to each necropsy), and unscheduled observations.

g Heart rate and body temperature increases (approximately 200 bpm for 0.1 mg/kg animals, and 220 bpm for 1 mg/kg [SC and IV] animals, compared to 115-140 bpm for these same animals prestudy) and body temperature increases (ranged from approximately 0.5°C [0.1 mg/kg IV and 1 mg/kg SC]) on Day 1 resulted in attenuated diurnal patterns compared to control and prestudy values. Blood pressures on Day 1 at 1 mg/kg IV were 11-18 mmHg lower than prestudy systolic and diastolic values and 22-25 mmHg lower as compared to control levels. Heart rate increases (RR interval decreases) at these dose levels had correlating decreases in PR and QT intervals (1 mg/kg IV and SC, only), but as there was no effect on QTca these changes were considered entirely rate-dependent and not indicative of an effect on ventricular repolarization. Transient body temperature increases were present throughout the lights out period at 0.1 mg/kg IV and 1 mg/kg IV and SC. All changes in electrocardiogram (ECG), hemodynamic parameters, and body temperature were completely reversible by Day 7, without evidence of residual effects through Day 22.

h Changes in red blood cell count and hematocrit were of similar magnitude to changes in hemoglobin.

i Several animals in the 1 mg/kg IV and SC groups presented with reduced B lymphocyte values at all remaining timepoints (did not recover their B lymphocyte values by Day 22 for the SC dosed group, the last time point assessed, or by Day 57 for 2 animals in the IV dosed group).

j There were no BTCT4465A-related alterations to IL-1β, IL-4, IL-12/23 (p40) or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF).

k 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).

l Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

m Statistical analysis of organ weights was not performed for recovery euthanasia animals due to inadequate numbers of animals per group.

n BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

表 2.6.7.6-1 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表（被験物質：2H7v16/40G5c）

Test Article [a]: 2H7v16/40G5c

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV (bolus)	4 week (4-week recovery)	0	4/M, 4/F	1 mg/kg IV	• High-titer ADA in 4/4, 3/4, and 2/8 animals resulting in loss of exposure and/or PD effects in 4/4, 3/4, and 1/8 animals in 0.01, 0.1 and 1 mg/kg groups, respectively, in Week 3. Exposure was maintained in 7 of 8 animals at 1 mg/kg through the dosing phase. • Clinical signs: post-dose clinical signs (emesis, and reduced appetite on Days 1-2 and skin flaking on Days 15 and 22) • Hematology: transient decreases after the 1st dose only in lymphocyte, monocytes and eosinophils (at ≥ 0.01 mg/kg); in reticulocytes and platelets (at ≥ 0.1 mg/kg) and neutrophils (at 1 mg/kg). • Serum chemistry and coagulation: CRP increase at ≥ 0.01 mg/kg, decreases in albumin with associated decreases in total protein, A:G ratio, and calcium at 1 mg/kg • PD effect: 1) B-cell depletion (with sustained and complete tissue B cell depletion At ≥ 0.1 mg/kg, corresponding with drug exposure); 2) transient T-cell activation and reduction (due to margination and redistribution), and cytokine release at all dose levels, primarily limited to the	[redacted]-3160
			0.01	2/M, 2/F			
			0.1	2/M, 2/F			
			1	4/M, 4/F			

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	Noteworthy Findings	Study No.
						first dose • Microscopic finding: 1) decreased cellularity or loss of lymphoid follicles in lymph nodes and reduced number/size or loss of germinal centers in the spleen, corresponding to complete to near complete B-cell depletion by IHC at ≥ 0.1 mg/kg; 2) scattered foci of mixed-cell vascular/perivascular infiltrates in all animals at 1 mg/kg and in 1 animal at 0.1 mg/kg, minimal microglial reaction in some animals with no evidence of astrocyte activation or neuronal damage. • Most findings reversible	

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV or SC	4 weeks	0 IV/SC 1 IV 1 SC 1 IV + Dex 1 IV + Rituximab	3/M 4/M 4/M 4/M 4/M	1 mg/kg IV	• Clinical signs, clinical pathology and microscopic findings, and PD effects similar to those at 1mg/kg IV in Study ■-3160. • Compared with IV, SC dosing reduced C_{max} by 80% and AUC by approximately 35%-45%, and delayed T_{max} to 24 hours. It reduced cytokines and chemokines, eliminated adverse clinical signs, and reduced the incidence of vascular/perivascular infiltrates in the brain (4/4 in the IV group and 1/4 in the SC group). • Dex pretreatment reduced a subset of circulating cytokines (e.g., IL-6) and clinical signs. The effect on the incidence or severity of CNS findings could not be clearly determined due to exposure differences (greater exposure in Dex-treated animals possibly due to reduced T-cell counts and decreased target-mediated clearance). • A sub-therapeutic dose of rituximab, 2 mg/kg, effectively depleted circulating B-cells and reduced mean peak values of several cytokines (e.g., IL-2) and improved tolerability. Rapid development of ADAs in rituximab-treated animals and loss of exposures during the second week of the study, any effect on CNS microscopic findings could not be determined.	■-1689

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV	4 week	1	3/group	1 mg/kg IV	• No consistent imaging changes were seen on the diffusion MRI scans.	[redacted]-2134

ADA = anti-drug antibodies; A:G = albumin:globulin; aPTT = activated partial thromboplastin time; AUC = area under the curve; CNS = central nervous system; CRP = C-reactive proteins; Dex = dexamethasone; IV = intravenous; MTD = maximum tolerated dose; NOAEL = the no observed adverse effect level; SC = subcutaneous.

[a] 2H7v16/40G5c (produced in *E. coli*) was used as the test article.

[b] Weekly × 4; terminal necropsy on Day 29; recover necropsy (control and 1 mg/kg group) on Day 79.

[C] Weekly × 4; terminal necropsy on Day 29.

表 2.6.7.6-2 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験の一覧表（被験物質：モスネツズマブ）

Test Article [a]: Mosunetuzumab

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	No./Sex Group	MTD	Noteworthy Findings	Study No.
Monkey / Cynomolgus	IV (infusion)	4 weeks [b]	0/0/0 0.2/0.8/0.3 0.2/0.8/1 0.2/0.8/3	2/M, 1/F	0.2/0.8/ 0.3 mg/kg IV	• Clinical signs, clinical pathology parameters, CNS histopathology findings, and PD effects similar to previous studies. • Post-dose clinical signs (emesis and hypoactivity) observed in 5/9 animals after the 1st dose on Day 1 (0.2 mg/kg) but reduced to 1/9 animals post 2nd dose on Day 2 (0.8 mg/kg). No post-dose clinical signs were present following subsequent doses. • Cardiovascular assessment using surgically implanted arterial blood pressure probe and Jacket Telemetry system revealed tachycardia in all animals on Day 1 and Day 2, most notable during the dark period, but no clear drug-related changes in systemic blood pressure. • The transient cytokine increase was primarily observed after the 1st dose. Only minimal to no changes were present after the 2nd or subsequent doses. • One animal had convulsion on Day 11 that was euthanized for cause; it had more extensive CNS histopathology findings than the remaining animals of the same or higher dose levels at scheduled terminal necropsy, and were considered causal for the convulsion. • This step-dosing approach mitigated acute toxicities of 1 mg/kg within two days, preventing ADA response and maintaining exposure and PD effects in all	[redacted]-2088

animals.

ADA = anti-drug antibodies; CNS = central nervous system; GLP = Good Laboratory Practice; MTD = maximum tolerated dose;.

[a] BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

[b] Day 1, Day 2, then Weekly × 3 on Days 8, 15, 22; terminal necropsy on Day 25.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

表 2.6.7.7-1 反復投与毒性試験：重要な試験の一覧表

Test Article [e]: Mosunetuzumab

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus **Initial Age:** 246 weeks to 396 weeks **Date of First Dose:** 24 January 20[redacted] **Special Features:** Step dosing, Anti-Drug Antibody Analyses, B-Cell Activating Factor (BAFF), Cytokines, Immunophenotyping **No Observed Adverse Effect Level:** Not established	**Duration of Dosing:** 26 weeks **Duration of Postdose:** None **Method of Administration:** Once daily on Study Days 1 and 2 followed by once weekly 60 minute intravenous infusion **Vehicle/Formulation:** Solution in BTCT4465A Vehicle ([redacted] mM histidine acetate, [redacted] mM sucrose, [redacted]% (w/v) polysorbate 20, [redacted]mM L-Methionine, pH [redacted])	**Study No.:** [redacted]-1815 **Study Title:** BTCT4465A: 26 Week Multiple Dose Intravenous (Infusion) Administration Toxicity and Toxicokinetic Study in the Cynomolgus Monkey **GLP Status:** Yes

Conclusion: The key BTCT4465A-related toxicity findings following intravenous infusion of BTCT4465A via daily step doses for 2 days (0.2 and 0.8 mg/kg), followed by weekly doses of 0.1 or 0.5 mg/kg to cynomolgus monkeys for 25 weeks included acute phase, cytokine release-related changes, sustained B cell depletion in the peripheral blood and lymphoid tissues, vascular/perivascular inflammatory infiltrates in systemic vasculature, and inflammation in the kidney and/or intestines that is consistent with increased susceptibility to ascending urinary and/or enteric infections as a result of BTCT4465A-induced immunosuppression due to B cell depletion. Two animals were euthanized early, one from each of the 0.1 and 0.5 mg/kg groups, with findings consistent with ascending urinary and/or enteric infections with evidence of systemic extension, considered secondary to BTCT4465A-induced immune suppression and not directly attributable to BTCT4465A.

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Toxicokinetics: AUC ± SD (day• mg/mL)						
Day 0-1	NA	NA	2.47 ± 0.459	1.75 ± 0.85	2.77 ± 0.453	2.69 ± 0.688
Day 0-3	NA	NA	32.9 ± 4.17	28.7 ± 4.76	32.9 ± 4.38	30.7 ± 5.84
Day 175-182	NA	NA	9.75 ± NA	11.0 ± 1.85	80.0 ± 6.59	90.8 ± 28.2
Day 182-185	NA	NA	5.0 ± NA	5.31 ± 0.147	39.9 ± 0.313	41.8 ± 12.8

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Toxicokinetics:						
C_{max} ± SD (mg/mL)						
Day 0-1	NA	NA	3.93 ± 0.954	2.63 ± 1.39	3.93 ± 0.470	3.73 ± 0.921
Day 0-3	NA	NA	23.6 ± 3.76	21.6 ± 4.31	23.0 ± 2.48	21.4 ± 2.99
Day 175-182	NA	NA	2.33 ± NA	2.65 ± 0.592	16.9 ± 0.499	17.4 ± 4.63
Day 182-185	NA	NA	2.14 ± NA	2.44 ± 0.0436	17.5 ± 0.100	18.8 ± 6.05
Anti-drug antibody analysis	In Group 1 (control group), 0 out of 8 animals had ADA detected. In Group 2 (low dose group), ADA were detected in 0 out of 8 animals during the pre-treatment phase (Week -2), in 5 out of 8 animals on TK Day 29 and TK Day 85, in 3 out of 7 animals on TK Day 134 and TK Day 183. ADA was not detected in the unscheduled sample collected from Animal P0104 on TK Day 96. In Group 3 (high dose group), ADA were detected in 1 out of 8 animals during the pre-treatment phase (Week -2), in 4 out of 8 animals on TK Day 29, in 1 out of 8 animals on TK Day 85 and TK Day 134, and in 1 out of 7 animals on TK Day 183.					
Noteworthy Findings						
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1 [b]	0	0	1 [b]
Body Weight Change (kg) [c]						
Study Days 1 to 29	-0.06	0	-0.27	-0.15	-0.13	-0.44
Study Days 1 to 183	0.70	0.27	0.50	0.11	0.49	-0.47
Food Consumption	Poor food consumption was noted on Study Days 2 and 3 for all animals.					

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Clinical Observations	BTCT4465A-related clinical observations for terminal euthanasia animals included liquid feces and skin tenting for animals administered 0.1 or 0.5 mg/kg and semi-closed eyes for one female administered 0.5 mg/kg. Post-dose observations generally occurred during the step dosing phase and included red/swollen face, swollen eyes/eyelids, warm to touch body, subdued/sluggish behavior, raised hair, nasal discharge, emesis, and salivation.					
Hematology						
Hemoglobin (g/dL)						
Day 32	13.5	11.9	12.6	11.9	12.5	11.9
Day 136	13.8	12.5	11.9	12	13.3	12
Day 186	13.8	12.7	12.7	12	12.6	12
Red Blood Cells (10^{12} /L)						
Day 32	5.48	5.14	5.35	5.04	5.28	4.93
Day 136	5.46	5.25	5.11	4.88	5.45	4.92
Day 186	5.46	5.34	5.55	4.86	5.4	4.97
Packed Cell Volume (%)						
Day 32	45.0	40	41.6	40.8	41.3	41.1
Day 136	44.6	39.9	39.3	39	42.1	39.6
Day 186	44.5	40.1	41.2	38.7	41.2	39.6

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Hematology						
Reticulocytes (%)						
Day 2	1.7	1.8	0.7	1.4	0.8	1.2
Day 32	1.7	1.9	1.3	1.6	1.4	1.5
Day 136	1.7	1.6	2.6	1.9	1.2	1.3
Day 186	1.8	1.9	1.1	3	1.8	1.1
Absolute Reticulocytes (10^9/L)						
Day 2	91.7	93.6	39.4	72.8	45.1	61
Day 32	90.7	96.4	70.7	78.5	71.4	73.2
Day 136	95.6	84.9	123.1	91.4	66.7	61.9
Day 186	99.5	98.7	61.0	139.4	97.6	53.6
Red Cell Distribution Width (%)						
Day 32	12.3	11.9	12.6	13.3	12.6	12.7
Day 136	12.7	12.2	14.4	13.1	12.7	12.7
Day 186	12.6	12.1	14.5	13.3	12.9	12.4
White Blood Cells (10^9/L)						
Day 2	14.4	9.5	6.3	6.3	8.6	9.2
Day 32	12.2	8.9	11.6	16.2	12.4	13.4
Day 136	11.5	10.8	13.2	14.2	10.3	11.5
Day 186	12.0	10.4	14.5	16.2	10.0	11.6

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Hematology						
Neutrophils (10^9/L)						
Day 2	9.3	5.59	5.89	5.84	8.21	8.63
Day 32	5.95	3.43	4.67	9.04	7.09	8.64
Day 136	5.71	4.6	4.93	7.67	5.63	7.14
Day 186	6.51	5.74	5.74	10.93	6.29	8.1
Lymphocytes (10^9/L)						
Day 2	4.54	3.36	0.23	0.17	0.17	0.23
Monocytes (10^9/L)						
Day 2	0.39	0.34	0.09	0.09	0.08	0.17
Eosinophils (10^9/L)						
Day 32	0.14	0.12	0.56	1.19	0.58	0.21
Day 136	0.12	0.11	0.73	0.46	0.45	0.24
Day 186	0.09	0.06	0.88	0.37	0.53	0.22
Basophils (10^9/L)						
Day 32	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.05
Day 136	0.03	0.03	0.06	0.04	0.03	0.03
Day 186	0.03	0.02	0.06	0.04	0.03	0.02

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Hematology						
Large Unstained Cells (10^9/L)						
Day 32	0.04	0.07	0.12	0.17	0.17	0.11
Day 136	0.03	0.07	0.1	0.11	0.12	0.07
Day 186	0.03	0.05	0.08	0.07	0.1	0.05
Prothrombin Time (seconds)						
Day 2	13.5	14.3	16.5	15.1	14.8	13
Activated Partial Thromboplastin (seconds)						
Day 2	23.3	23.4	26.9	28.2	26.9	27.4
Fibrinogen (mg/dL)						
Day 2	312	252	387	389	394	405
Day 32	277	213	242	236	228	262
Day 136	250	229	321	235	238	272
Day 186	264	203	224	224	393	287
Clinical Chemistry						
Aspartate Aminotransferase (IU/L)						
Day 2	191	94	239	106	145	142

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Clinical Chemistry						
Alanine Aminotransferase (IU/L)						
Day 2	74	62	108	72	83	81
Alkaline Phosphatase (IU/L)						
Day 136	134	131	325	163	165	219
Day 186	137	141	193	197	247	206
Albumin/Globulin Ratio						
Day 32	1.6	1.6	1.6	1.4	1.6	1.5
Day 136	1.6	1.6	1.1	1.5	1.7	1.6
Day 186	1.6	1.7	1.6	1.6	1.4	1.8
Total Bilirubin (mg/dL)						
Day 2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.2	<0.3
Triglycerides (mg/dL)						
Day 32	33	38	41	59	54	44
Day 136	39	54	108	61	65	59
Day 186	39	110	115	172	104	83
Total Protein (g/dL)						
Day 2	6.9	7	6.9	7	7.0	6.6
Day 186	7.4	7.5	7.1	7.2	7.2	6.9

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Clinical Chemistry						
Globulin (g/dL)						
Day 32	2.8	2.8	2.8	3.0	2.8	3.0
Day 136	2.8	2.8	3.3	2.9	2.8	2.8
Day 186	2.8	2.8	2.7	2.9	3.0	2.5
Albumin (g/dL)						
Day 2	4.4	4.5	4.3	4	4.3	3.8
Day 32	4.5	4.5	4.3	4.1	4.5	4.3
Day 136	4.5	4.5	3.6	4.2	4.6	4.2
Day 186	4.6	4.7	4.3	4.3	4.2	4.4
Total Cholesterol (mg/dL)						
Day 32	102	138	119	147	96	125
Day 136	105	133	130	138	97	120
Day 186	107	132	140	149	103	109
C-Reactive Protein (mg/L)						
Day 2	42.42	28	205.25	253.10	300.98	302.05
Day 186	4.59	3.45	2.42	2.70	61.94	<5.78
B-Cell Activating Factor (BAFF)	Serum concentrations of BAFF were elevated (> 5 times) in animals administered 0.2/0.8/0.1 and 0.2/0.8/0.5 mg/kg when compared with pre-treatment and control animal results. Highest concentrations were observed postdose on Study Days 8 and 29 and appeared less elevated as the study progressed.					

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Cytokines						
IFN-γ (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 24.42	< 24.42	< 131.21	147.83	584.76	224.40
Day 1 – 6 hours	< 24.42	< 24.42	< 123.95	194.72	242.03	268.47
IL-2 (pg/mL)						
Day 1 – 24 hours	< 24.42	< 24.42	< 33.83	< 36.32	< 46.63	< 44.41
IL-5 (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 2.69	< 2.44	17.46	25.41	36.36	49.99
Day 1 – 6 hours	< 2.44	< 2.44	165.84	157.54	103.57	160.75
Day 1 – 24 hours	< 2.96	< 2.44	16.66	23.77	60.13	102.87
Day 2 – 2 hours	< 2.44	< 2.44	22.40	24.80	79.13	134.50
Day 2 – 6 hours	< 2.44	< 2.44	18.24	41.68	85.77	141.61
Day 2 – 24 hours	< 3.38	< 2.44	7.28	28.30	70.08	< 62.83
IL-6 (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 7.67	< 4.51	552.04	409.68	1212.57	1521.39
Day 1 – 6 hours	< 7.04	< 5.44	860.26	718.88	> 1119.47	> 1627.88
Day 1 – 24 hours	< 7.80	< 2.78	26.68	24.16	17.99	82.45
Day 2 – 2 hours	< 52.88	< 3.86	141.64	135.20	115.85	149.67
Day 2 – 6 hours	< 25.86	< 3.54	324.10	456.95	263.71	401.71

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Cytokines						
IL-10 (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 48.83	< 48.83	2097.01	2716.79	3256.63	2248.38
Day 1 – 6 hours	< 48.83	< 48.83	3386.75	5733.76	5057.80	6244.78
Day 1 – 24 hours	< 48.83	< 48.83	367.32	262.16	272.80	< 434.68
Day 2 – 2 hours	< 48.83	< 48.83	1016.27	977.18	969.93	768.12
Day 2 – 6 hours	< 48.83	< 48.83	907.13	1342.58	968.49	835.72
TNF-α (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 24.42	< 24.42	< 39.53	< 63.69	< 1370.56	68.38
MIP-1α (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 9.77	< 9.77	< 12.14	< 9.77	< 24.48	< 15.61
IL-8 (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	971	764	2097	> 3615	> 4456	> 4708
Day 85 – 2 hours	1202	1301	2278	1327	2018	979
Day 183 – 2 hours	824	996	1527	2432	2232	3040
IL-17a (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 2.44	< 2.44	< 4.90	6.37	< 11.36	6.79
Day 1 – 6 hours	< 2.44	< 2.44	< 2.95	< 3.34	< 4.82	< 2.44

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Cytokines						
MCP-1 (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	723	272	> 1563	> 1511	> 1563	> 1473
Day 1 – 6 hours	842	419	> 1563	> 1563	> 1563	> 1442
Day 1 – 24 hours	463	225	> 1221	813	> 1213	1172
Day 2 – 2 hours	674	225	> 1480	> 1550	> 1563	> 1459
Day 2 – 6 hours	> 849	353	> 1563	> 1563	> 1563	> 1490
Day 2 – 24 hours	439	192	> 1182	876	1120	721
MIP-1β (pg/mL)						
Day 1 – 2 hours	< 24.42	< 24.42	373.24	190.15	796.61	402.00
Day 1 – 6 hours	< 24.42	< 24.42	96.11	< 43.58	126.99	72.06
Immunophenotyping						
Blood						
CD8-/CD4+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	837	582	21	13	7	6
Day 1 – 24 hours	1389	1392	11	16	18	14
Day 85 – 2 hours	1385	1464	995	770	918	920
Day 85 – 24 hours	2058	2356	1514	1324	1065	1024

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD8-/CD4+ (Cells/µL)						
Day 134 – 2 hours	1033	1016	1220	527	812	635
Day 134 – 24 hours	1636	1945	1744	1135	1116	737
Day 183 – 2 hours	1258	937	1750	580	951	618
Day 183 – 24 hours	1786	1999	2250	1227	1135	786
CD4-/CD16-/CD8+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	489	371	10	8	5	7
Day 1 – 24 hours	970	1079	5	5	4	8
Day 29 – 2 hours	512	563	565	320	335	436
Day 29 – 24 hours	985	1139	1041	606	965	608
Day 85 – 2 hours	912	1027	404	356	448	370
Day 85 – 24 hours	1348	1515	712	669	851	708
Day 134 – 2 hours	866	727	554	501	793	450
Day 134 – 24 hours	947	1153	742	719	1153	461
Day 183 – 2 hours	731	510	584	368	561	274
Day 183 – 24 hours	1185	1322	1125	768	786	442

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD8-/CD4+/CD25+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	106	82	4	2	1	1
Day 1 – 24 hours	152	155	3	5	7	6
Day 134 – 2 hours	252	251	207	94	89	119
Day 134 – 24 hours	230	271	209	161	102	129
Day 183 – 2 hours	125	116	164	64	84	60
Day 183 – 24 hours	184	198	202	93	69	92
CD8-/CD4+/CD69+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	9	3	5	5	5	2
Day 1 – 24 hours	19	7	5	6	9	4
Day 29 – 2 hours	4	2	12	29	22	5
Day 29 – 24 hours	16	17	74	86	123	42
Day 85 – 2 hours	12	12	6	7	23	10
Day 85 – 24 hours	27	40	17	30	92	11
Day 134 – 2 hours	11	9	6	13	37	7
Day 134 – 24 hours	25	9	3	16	63	6

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD8-/CD4+/CD69+/CD25+(Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	1	0	3	2	1	1
Day 1 – 24 hours	0	0	3	2	2	2
Day 8 – 2 hours	1	0	4	3	4	2
Day 8 – 24 hours	1	0	3	9	12	2
CD4-/CD16+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	367	219	39	28	8	12
Day 1 – 24 hours	578	338	42	38	17	21
Day 8 – 2 hours	406	274	925	503	1088	774
Day 8 – 24 hours	538	458	1143	470	796	641
CD4-/CD8-/CD40+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	851	285	14	16	9	6
Day 1 – 24 hours	778	388	5	4	1	2
Day 8 – 2 hours	560	262	4	5	7	7
Day 8 – 24 hours	866	313	2	3	5	5
Day 29 – 2 hours	679	337	10	10	6	7
Day 29 – 24 hours	532	234	9	2	1	2

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD4-/CD8-/CD40+ (Cells/µL)						
Day 85 – 2 hours	473	314	190	340	9	7
Day 85 – 24 hours	1082	709	779	395	9	7
Day 134 – 2 hours	656	332	1247	292	2	0
Day 134 – 24 hours	873	518	1261	338	245	1
Day 183 – 2 hours	747	297	2033	251	9	4
Day 183 – 24 hours	981	544	2267	383	2	0
CD4-/CD16-/CD8+/CD25+ (Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	14	10	0	1	0	1
Day 1 – 24 hours	21	22	0	1	1	1
Day 8 – 2 hours	23	19	25	19	98	57
Day 8 – 24 hours	37	36	41	26	74	71
Day 29 – 2 hours	13	15	12	6	2	8
Day 29 – 24 hours	28	29	30	14	9	10
Day 85 – 2 hours	25	29	11	8	9	11
Day 85 – 24 hours	32	40	19	18	10	13

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	**0 (Control)**		**0.1**		**0.5**	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD4-/CD16-/CD8+/CD25+(Cells/µL)						
Day 134 – 2 hours	37	46	18	15	14	32
Day 134 – 24 hours	39	39	13	17	8	10
Day 183 – 2 hours	29	16	11	6	5	5
Day 183 – 24 hours	31	30	19	8	13	8
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+(Cells/µL)						
Day 1 – 2 hours	11	5	3	4	3	3
Day 1 – 24 hours	21	10	2	2	2	9
Day 8 – 2 hours	18	12	171	113	424	132
Day 8 – 24 hours	38	24	438	347	824	541
Day 29 – 2 hours	8	5	38	43	49	73
Day 29 – 24 hours	16	19	140	75	513	89
Day 85 – 2 hours	26	18	22	8	58	27
Day 85 – 24 hours	53	92	95	58	133	135

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Blood						
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+(Cells/µL)						
Day 134 – 2 hours	23	11	10	47	74	63
Day 134 – 24 hours	20	11	4	37	106	46
Day 183 – 2 hours	37	11	42	29	102	30
Day 183 – 24 hours	52	22	32	73	162	48
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+/CD25+(Cells/µL)						
Day 8 – 2 hours	3	2	5	4	13	11
Day 8 – 24 hours	4	3	7	11	56	55
Mandibular Lymph Node						
Day 186						
CD8-/CD4+ (Cells/mg)	11552	11752	16081	6658	1973	17962
CD4-/CD16-/CD8+ (Cells/mg)	5361	5948	4507	3289	414	5600
CD8-/CD4+/CD25+ (Cells/mg)	2773	3976	3302	1816	531	5728

Weekly Dose (mg/kg)[a] :	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Mandibular Lymph Node						
Day 186						
CD8-/CD4+/CD69+ (Cells/mg)	2755	3814	3155	2211	584	5425
CD8-/CD4+/CD69+/CD25+ (Cells/mg)	438	289	149	270	57	595
CD4-/CD8-/CD40+ (Cells/mg)	4111	5891	4163	644	25	45
CD4-/CD16-/CD8+/CD25+ (Cells/mg)	225	117	39	57	17	177
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+ (Cells/mg)	252	200	107	100	21	362
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+/CD25+ (Cells/mg)	116	105	36	47	9	141
Mesenteric Lymph Node						
Day 186						
CD4+/CD8- (Cells/mg)	16178	37014	76945	17868	34491	26402
CD4-/CD16-/CD8+ (Cells/mg)	5286	8864	22045	4557	5513	4145
CD8-/CD4+/CD25+ (Cells/mg)	5841	15197	24666	8536	9839	11374

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Immunophenotyping						
Mesenteric Lymph Node						
Day 186						
CD8-/CD4+/CD69+ (Cells/mg)	6824	17486	31323	8924	11961	9077
CD8-/CD4+/CD69+/CD25+ (Cells/mg)	1888	2734	3113	2064	1679	1636
CD4-/CD8-/CD40+ (Cells/mg)	5449	17511	57212	2612	425	27
Spleen						
Day 186						
CD4+/CD8- (Cells/mg)	27266	39634	59343	25296	13157	24402
CD4-/CD16-/CD8+ (Cells/mg)	25089	42344	32839	27100	13785	45992
CD8-/CD4+/CD25+ (Cells/mg)	7368	10159	20409	8631	2611	6513
CD8-/CD4+/CD69+ (Cells/mg)	8131	8301	23776	7055	2395	3687
CD8-/CD4+/CD69+/CD25+ (Cells/mg)	1523	178	1194	243	30	52
CD4-/CD16+ (Cells/mg)	15526	10892	19818	15175	11800	23251
CD4-/CD8-/CD40+ (Cells/mg)	40196	46732	129125	19571	432	770
CD4-/CD16-/CD8+/CD69+/CD25+ (Cells/mg)	971	282	430	279	41	289

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Organ Weights (%) [d]						
Adrenal						
Unadjusted	0.866 g	0.508 g	-29	10	-25	21
Organ to body weight ratio	0.0105%	0.0131%	-10	12	-13	24
Organ to brain weight ratio	1.1836%	0.7553%	-22	22	-20	21
Spleen						
Unadjusted	6.081 g	3.589 g	44	40	1	-12
Organ to body weight ratio	0.0752%	0.0936%	81	38	17	-9
Organ to brain weight ratio	8.7344%	5.4164%	49	51	2	-14
Gross Pathology						
Caecum						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Red Incidence	0	0	0	0	1	0
Spleen						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Small Incidence	0	1	0	0	1	1
Adrenal						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Small Incidence	0	0	1	0	1	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Gross Pathology						
Pancreas						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Dark Incidence	0	0	0	0	1	1
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Brain						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	1	3	3
Liver						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	1	1	0
Kidney						
Inflammatory cell infiltration						
Minimal	1	2	2	3	2	1
Slight	0	0	1	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	1	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Kidney						
Basophilia, tubular						
Minimal	0	1	1	1	1	0
Slight	0	0	0	0	1	0
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0
Stomach						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0
Duodenum						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0
Jejunum						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Rectum						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration	0	0	0	0	1	0
Minimal						
Cecum						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0
Heart						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0
Gall bladder						
Vascular/perivascular inflammatory cell infiltration						
Minimal	0	0	0	0	1	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Spleen						
Germinal centers, decreased						
Marked	0	0	1	1	1	1
Severe	0	0	0	2	3	2
Follicles, decreased						
Marked	0	0	1	3	1	1
Severe	0	0	0	0	3	2
Germinal centers, increased						
Slight	0	0	2	0	0	0
Follicles, increased						
Slight	0	0	1	0	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	0
Mesenteric Lymph Node						
Germinal centers, cortex, decreased						
Moderate	0	0	1	0	1	1
Marked	0	0	0	1	1	1
Severe	0	0	0	2	2	1

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Mesenteric Lymph Node						
Follicles, cortex, decreased						
Minimal	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	1	0	1	0
Marked	0	0	0	3	1	1
Severe	0	0	0	0	2	1
Germinal centers, cortex, increased						
Slight	0	0	1	0	0	0
Follicles, cortex, increased						
Slight	0	0	1	0	0	0
Mandibular Lymph Node						
Follicles, cortex, decreased						
Minimal	0	0	0	0	0	1
Slight	0	0	0	2	0	1
Moderate	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	3	1
Severe	0	0	0	0	1	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Mandibular Lymph Node						
Germinal centers, cortex, decreased						
Slight	0	0	0	2	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	1
Marked	0	0	0	0	1	0
Severe	0	0	0	0	3	2
Germinal centers, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0
Follicles, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Axillary Lymph Node						
Germinal centers, cortex, decreased						
Slight	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0
Marked	0	0	1	2	4	1
Severe	0	0	0	0	0	1
Follicles, cortex, decreased						
Moderate	0	0	0	1	0	0
Marked	0	0	1	2	4	1
Severe	0	0	0	0	0	1
Germinal centers, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Follicles, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Popliteal Lymph Node						
Germinal centers, cortex, decreased						
Slight	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	2	4	1
Severe	0	0	0	1	0	1
Follicles, cortex, decreased						
Marked	0	0	0	3	4	1
Severe	0	0	0	0	0	1
Germinal centers, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0
Follicles, cortex, increased						
Minimal	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Sciatic Nerve						
Eosinophilic infiltration						
Minimal	0	0	0	1	0	0
Adrenal						
Vacuolation, cortex, decreased						
Minimal	0	0	2	1	2	1
Pancreas						
Exocrine cell granulation, decreased						
Minimal	0	0	1	1	2	2
Ileum						
Gut associated lymphoid tissue (GALT), decreased						
Slight	0	0	1	0	0	0
Moderate	0	0	0	3	4	2

Weekly Dose (mg/kg)[a]:	0 (Control)		0.1		0.5	
Number of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings (cont'd)						
Histopathology						
Number examined	4	4	3	4	4	3
Femur + marrow						
Cellularity, marrow, increased						
Minimal	0	0	0	1	0	1
Slight	0	0	0	2	1	0
Moderate	0	0	0	0	2	0
Sternum + marrow						
Cellularity, marrow, increased						
Minimal	0	0	0	3	1	1

[a] Control animals dosed on Day 1 and Day 2 at 0 mg/kg and all treated animals dosed on Day1 at 0.2 mg/kg and on Day 2 at 0.8 mg/kg. All animals then dosed once weekly from Day 8 to Day 183.

[b] One male euthanized on Study Day 96 and one female euthanized on Study Day 158 due to findings suggestive of opportunistic ascending urinary and/or enteric infections. Findings were considered secondary to BTCT4465A-induced immune suppression.

[c] Group means are shown.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

[e]BTCT4465A (mosunetuzumab, produced in Chinese hamster ovary cells) was used as the test article.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験
該当なし

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験
該当なし

2.6.7.10 がん原性試験
該当なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験
該当なし

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
該当なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験
該当なし

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
該当なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験
該当なし

2.6.7.16 局所刺激性試験
該当なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

表 2.6.7.17-1 その他の毒性試験の一覧表

Test Article: Mosunetuzumab

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (µg/mL)	Sex/No./ Group	Noteworthy Findings	Study No.
Human and select cynomolgus monkey tissues	*In vitro*	NA	10 and 50	NA	Assay could not be developed due to poor analytical sensitivity and specificity of mosunetuzumab as an IHC reagent	14-2073
Biological Characterization of anti-CD3 homodimer in human PBMCs (non-GLP)	*In vitro*	24 hr	1.6 ng/mL to 25 µg/mL mosunetuzumab + 0%, 2.5%, 5% anti-CD3 homodimer	6 donors	Anti-CD3 homodimer up to 5% had minimal biological activity in the absence of B cells, and did not impact mosunetuzumab-mediated B-cell killing, T-cell activation, or cytokine release.	14-3526

IHC = immunohistochemistry; NA = not applicable.