# 目次

**1. まとめ** ..... 5
1.1 反復投与毒性試験の概括 ..... 7
1.2 遺伝毒性試験の概括 ..... 7
1.3 その他の毒性試験の概括 ..... 7
**2. 単回投与毒性試験** ..... 8
**3. 反復投与毒性試験** ..... 9
3.1 ラット 3 ヵ月間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性及び 2 ヵ月間回復性試験（GLP 適用） ..... 9
3.2 サル 6 週間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性試験（GLP 非適用） ..... 10
3.3 サル 3 ヵ月間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性及び 2 ヵ月間回復性試験（GLP 適用） ..... 10
**4. 遺伝毒性試験** ..... 12
4.1 DXd（一水和物）の細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用） ..... 12
4.2 DXd（一水和物）の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（GLP 適用） ..... 12
4.3 DXd（一水和物）静脈内投与後のラットの骨髄を用いた小核試験（GLP 適用） ..... 13
**5. がん原性試験** ..... 13
**6. 生殖発生毒性試験** ..... 13
**7. 局所刺激性試験** ..... 14
**8. その他の毒性試験** ..... 14
8.1 組織交差反応性試験 ..... 14
8.1.1 ヒト組織交差反応性試験（GLP 適用） ..... 14
8.1.2 サル組織交差反応性試験（GLP 適用） ..... 15
8.2 DXd の反復投与毒性試験 ..... 15
8.2.1 DXd（一水和物）のラット 4 週間間歇（1 回／1 週）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用） ..... 15
8.2.2 DXd（一水和物）のサル 4 週間間歇（1 回／1 週）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用） ..... 16
8.3 光毒性試験 ..... 17
8.3.1 DXd（一水和物）の in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（GLP 適用） ..... 17
8.3.2 DXd（一水和物）の単回静脈内投与による有色ラットの光毒性試験（GLP 適用） ..... 17
8.4 In Vitro Cytokine Release Assay ..... 18
8.4.1 Dato-DXd 及び Dato のヒト末梢血単核細胞を用いた in vitro サイトカイン放出試験（固相法）（GLP 非適用） ..... 18

8.4.2 Dato-DXd 及び Dato のヒト全血を用いた in vitro サイトカイン放出試験（液相法）（GLP 非適用）.....18
8.5 MAAP-9002b のサル 2 週間間歇（1 回／週）静脈内投与毒性試験（GLP 非適用）.....19
**9. 考察及び結論**.....20
9.1 標的臓器及び組織.....20
9.1.1 肺毒性.....20
9.1.2 角膜毒性.....21
9.1.3 皮膚毒性.....21
9.1.4 肝毒性.....21
9.1.5 口内炎、粘膜炎症.....22
9.1.6 消化管毒性.....22
9.1.7 リンパ造血器毒性.....22
9.1.8 腎毒性.....23
9.1.9 生殖器毒性.....23
9.1.10 心毒性.....23
9.1.11 切歯毒性.....24
9.2 遺伝毒性.....24
9.3 胚及び胎児発生毒性.....24
9.4 光毒性.....25
9.5 注入に伴う反応（IRR）.....25
9.6 安全域.....25
**10. 参考文献**.....29

## 表一覧

表 2.6.6.1-1 Dato-DXd の毒性試験概括.....6
表 2.6.6.9-1 ラット及びカニクイザルの 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験の 平均トキシコキネティクスパラメータ及び曝露マージン.....26
表 2.6.6.9-2 ラット及びカニクイザルの 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験での 毒性の標的臓器ごとの曝露マージン.....28

## 略語一覧

| 略語 | 略していない表現（英） | 略していない表現（日） |
|---|---|---|
| ADA | anti-drug antibody | 抗薬物抗体 |
| ADC | antibody-drug conjugate | 抗体薬物複合体 |
| ALT | alanine aminotransferase | アラニンアミノトランスフェラーゼ |
| AST | aspartate aminotransferase | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ |
| AUC | area under the plasma concentration-time curve | 血漿中濃度－時間曲線下面積 |
| AUC1d | area under the plasma concentration-time curve up to 1 day | 投与 1 日後までの血漿中濃度－時間曲線下面積 |
| AUC21d | area under the plasma concentration-time curve up to 21 days | 投与 21 日後までの血漿中濃度－時間曲線下面積 |
| AUCtau | area under the plasma concentration-time curve during a dosing interval | 投与間隔ごとの血漿中濃度－時間曲線下面積 |
| C0 | initial plasma concentration at time 0 | 初期血漿中濃度 |
| Cmax | maximum plasma concentration | 最高血漿中濃度 |
| CRA | cytokine release assay | サイトカイン放出試験 |
| CT | computed tomography | コンピュータ断層撮影法 |
| DAR | drug-to-antibody ratio | 1 抗体あたりの薬物抗体比 |
| DMSO | dimethyl sulfoxide | ジメチルスルホキシド |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay | 酵素免疫測定法 |
| EpCAM | epithelial cell adhesion molecule | 上皮細胞接着分子 |
| GDLD | gelatinous drop-like corneal dystrophy | 膠様滴状角膜変性症 |
| GLP | Good Laboratory Practice | — |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene | ヒト遅延整流カリウムイオンチャネル遺伝子 |
| HNSTD | highest non-severely toxic dose | 重篤な毒性が発現しない最大投与量 |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| ICH | International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| IL | interleukin | インターロイキン |
| IRR | infusion-related reaction | 注入に伴う反応 |
| NOAEL | no-observed-adverse-effect level | 無毒性量 |
| MIP | macrophage inflammatory protein | ― |
| MoE | margin of exposure | 曝露マージン |
| MPE | mean photo effect | 平均光作用 |
| NRU | neutral red uptake | ニュートラルレッド取り込み |
| NSCLC | non-small cell lung cancer | 非小細胞肺癌 |
| PBMC | peripheral blood mononuclear cell | ヒト末梢血単核細胞 |
| PK | pharmacokinetic(s) | 薬物動態 |
| SP-D | surfactant protein D | サーファクタントプロテイン D |
| $STD_{10}$ | severely toxic dose in 10% of the animals | 10%に重篤な毒性が発現する投与量 |
| TK | toxicokinetic(s) | トキシコキネティクス |
| TNF | tumor necrosis factor | 腫瘍壊死因子 |
| TP01 | TROPION-PanTumor01: DS1062-A-J101 | 進行性の固形癌患者を対象とした第 I 相 first in human 試験 |
| TROP2 | trophoblast cell surface antigen 2 | ― |

―: 該当する表記なし

## 用語一覧

| 用語 | 定義 |
|---|---|
| Dato | MAAP-9001a: Dato-DXd の抗体部分、TROP2 に対するヒト化 IgG1 モノクローナル抗体、datopotamab |
| Dato-DXd | DS-1062a: TROP2 に対するヒト化 IgG1 モノクローナル抗体 MAAP-9001a に薬物－リンカー結合体である MAAA-1162a を、チオエーテル結合を介して共有結合させた抗体薬物複合体、1 抗体あたりの薬物抗体比（目標値）は 4、国際一般名称は datopotamab deruxtecan、日本医薬品一般的名称はダトポタマブ　デルクステカン（遺伝子組換え） |
| DXd | MAAA-1181a: Dato-DXd の薬物部分、DNA トポイソメラーゼ I 阻害剤であるエキサテカンの誘導体 |
| MAAP-9002b | Dato-DXd と同じ抗体、リンカー、及び薬物部分からなる抗体薬物複合体、1 抗体あたりの薬物抗体比（平均値）は約 7 |
| 総抗 TROP2 抗体 | 薬物結合型及び非結合型抗 TROP2 抗体の和 |

## 1. まとめ

ダトポタマブ　デルクステカン（遺伝子組換え）（datopotamab deruxtecan、Dato-DXd、DS-1062a）の毒性試験を表 2.6.6.1-1 に示す。Dato-DXd 及び MAAP-9002b（Dato-DXd と同じ抗体、リンカー、及び薬物部分からなる抗体薬物複合体［antibody drug conjugate: ADC］、1 抗体あたりの薬物抗体比［drug-to-antibody ratio: DAR、平均値］は約 7）のカニクイザルを用いた探索的な間歇静脈内投与毒性試験及び Dato-DXd 及び datopotamab（Dato-DXd の抗体部分、Dato、MAAP-9001a）の in vitro サイトカイン放出試験（cytokine release assay: CRA）を除くすべての安全性薬理試験及び毒性試験は、厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（1997 年 3 月 26 日）及び厚生労働省令第 114 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令」（2008 年 6 月 13 日）を遵守して実施された。さらに、経済協力開発機構の定める薬食審査発 0323 第 1 号「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」（2012 年 3 月 23 日）を遵守して実施された。

Dato-DXd はカニクイザル及びヒト trophoblast cell surface antigen（TROP）2 に結合する一方で、マウス及びラット TROP2 には結合しないことが、酵素免疫測定法（enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA）によって確認された。したがって、Dato-DXd の交差種としてカニクイザルを使用し、標的非依存的な作用の評価を目的としてラットを使用した。

ラット及びカニクイザルを用いた間歇静脈内投与毒性試験の初回投与時に急性毒性情報を得られるため、医薬品規制調和国際会議（ICH）M3（R2）に準拠して、Dato-DXd の単回投与毒性試験は実施していない。

Dato-DXd の一般毒性プロファイルを評価するため、カニクイザルの 6 週間間歇静脈内投与毒性試験（1 回／3 週、計 3 回）、並びにラット及びカニクイザルの 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験（1 回／3 週、計 5 回）及び 2 ヵ月間回復性試験を実施した。

DXd（Dato-DXd の薬物部分、MAAA-1181a）の遺伝毒性を評価するため、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、及びラット骨髄を用いた小核試験を実施した。

ICH S9 に準拠して、Dato-DXd のがん原性試験は実施していない。

Dato-DXd による生殖器への影響は、ラット及びカニクイザルを用いた Dato-DXd の間歇静脈内投与毒性試験で病理組織学的に評価した。ラット及びカニクイザルを用いた Dato-DXd 及び DXd の毒性試験では、細胞分裂の速い細胞（リンパ造血器、消化管、及び精巣）に対して毒性作用が認められた。また、哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、ラット in vivo 小核試験では DXd の遺伝毒性も示唆された。以上の DXd の特性から、Dato-DXd が妊婦に投与された場合、胎児に悪影響を及ぼす可能性が示唆されており、ICH S9 に準拠して、Dato-DXd の生殖発生毒性試験は実施していない。

Dato-DXd の静脈内投与後の局所刺激性は、ラット及びカニクイザルの間歇静脈内投与毒性試験で評価した。

Dato-DXd の潜在的な交差反応性を評価するため、ヒト及びカニクイザル正常組織パネル

を用いた組織交差反応性試験を実施した。

DXd の一般毒性プロファイルを評価するため、ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間間歇静脈内投与毒性試験（1 回／週、計 5 回）及び 4 週間回復性試験を実施した。

DXd の光毒性リスクを評価するため、in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み（neutral red uptake: NRU）光毒性試験及びラットを用いた in vivo 光毒性試験を実施した。

Dato-DXd によるサイトカイン放出及び免疫細胞活性化を誘導する可能性を評価するため、ヒト末梢血単核細胞（peripheral blood mononuclear cell: PBMC）を用いた固相法及びヒト全血を用いた液相法による in vitro CRA（GLP 非適用）を実施した。

MAAP-9002b について、カニクイザルを用いた 2 週間間歇静脈内投与毒性試験（GLP 非適用、1 回／週、計 2 回）を実施した。

表 2.6.6.1-1　Dato-DXd の毒性試験概括

| 試験種及び期間 | 被験物質 | 投与経路 | 動物種／系統 | 添付資料番号 | GLP |
|---|---|---|---|---|---|
| 反復投与毒性試験 | | | | | |
| 3 ヵ月 | Dato-DXd | 静脈内投与 | ラット／Crl:CD(SD) | 4.2.3.2-1 | 適用 |
| 6 週間 | Dato-DXd | 静脈内投与 | カニクイザル | 4.2.3.2-2 | 非適用 |
| 3 ヵ月 | Dato-DXd | 静脈内投与 | カニクイザル | 4.2.3.2-3 | 適用 |
| 遺伝毒性試験 | | | | | |
| 細菌を用いる復帰突然変異 | DXd（一水和物）[a] | In vitro | *Salmonella typhimurium, Escherichia coli* | 4.2.3.3.1-1 | 適用 |
| 染色体異常 | DXd（一水和物） | In vitro | Chinese hamster lung cells | 4.2.3.3.1-2 | 適用 |
| 骨髄小核（単回） | DXd（一水和物） | 静脈内投与 | ラット／Crl:CD(SD) | 4.2.3.3.2-1 | 適用 |
| その他の毒性試験 | | | | | |
| 組織交差反応性 | Dato-DXd | In vitro | ヒト | 4.2.3.7.7-1 | 適用 |
| 組織交差反応性 | Dato-DXd | In vitro | カニクイザル | 4.2.3.7.7-2 | 適用 |
| 毒性試験（薬物部分）4 週間 | DXd（一水和物） | 静脈内投与 | ラット／Crl:CD(SD) | 4.2.3.7.7-3 | 適用 |
| 毒性試験（薬物部分）4 週間 | DXd（一水和物） | 静脈内投与 | カニクイザル | 4.2.3.7.7-4 | 適用 |
| 光毒性 | DXd（一水和物） | In vitro | Balb/c マウス 3T3 線維芽細胞 | 4.2.3.7.7-5 | 適用 |
| 光毒性単回 | DXd（一水和物） | 静脈内投与 | ラット／Iar:Long-Evans | 4.2.3.7.7-6 | 適用 |
| In vitro CRA | Dato-DXd, Dato[b] | In vitro | ヒト PBMC | 4.2.3.7.7-7 | 非適用 |
| In vitro CRA | Dato-DXd, Dato[b] | In vitro | ヒト全血 | 4.2.3.7.7-8 | 非適用 |
| 毒性試験（旧候補）2 週間 | MAAP-9002b[c] | 静脈内投与 | カニクイザル | 4.2.3.7.7-9 | 非適用 |

CRA: cytokine release assay, PBMC: peripheral blood mononuclear cell
[a] DXd（一水和物）は、報告書では MAAA-1181d として記載されている。
[b] Dato は、報告書では MAAP-9001a として記載されている。
[c] MAAP-9002b は Dato-DXd と同じ抗体、リンカー、及び薬物部分からなる ADC であり、DAR（平均値）は約 7 である。

## 1.1　反復投与毒性試験の概括

Dato-DXd のラットを用いた 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験（0、20、60、及び 200 mg/kg、1 回／3 週）では、投与可能な最大用量である 200 mg/kg まで死亡又は瀕死はなかった。毒性所見が 20 mg/kg 以上で胸腺、60 mg/kg 以上で腎臓、消化管、及び切歯、200 mg/kg で肺、皮膚、生殖器、及びリンパ造血器に認められた。これら変化はいずれも重篤ではなく、精巣の変化を除き、2 ヵ月間の回復期間終了時までに可逆性を示した。したがって、10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量（severely toxic dose in 10% of the animals: $STD_{10}$）は、200 mg/kg より大きいと判断した。

Dato-DXd のカニクイザルを用いた 6 週間間歇静脈内投与毒性試験（GLP 非適用、10 及び 30 mg/kg、1 回／3 週）では、30 mg/kg まで死亡又は瀕死はなかった。30 mg/kg では肺、胸腺、及び十二指腸に変化が認められたが、重篤ではなかった。したがって、重篤な毒性が発現しない最大投与量（highest non-severely toxic dose: HNSTD）は 30 mg/kg と判断した。

Dato-DXd のカニクイザルを用いた 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験（0、10、30、及び 80 mg/kg、1 回／3 週）では、投与可能な最大用量である 80 mg/kg まで、死亡又は瀕死はなかった。重篤な肺毒性が 30 及び 80 mg/kg で各 1 例に認められた。80 mg/kg の回復期間終了後、重篤ではない肺毒性が 1 例で認められた。その他の毒性所見が 10 mg/kg 以上で消化管、30 mg/kg 以上で角膜、皮膚、胸腺、及び肝臓、並びに 80 mg/kg で腎臓に認められた。80 mg/kg では歩行異常を伴う股関節軟骨の毒性も観察された。トキシコキネティクス（toxicokinetic: TK）解析では、10 mg/kg の反復投与後、抗薬物抗体（anti-drug antibody: ADA）、すなわち抗 Dato-DXd 抗体の産生に起因したと考えられる Dato-DXd 曝露量の低下が認められた。ADA 陽性を示した動物で、免疫介在性反応を示唆する所見はなかった。肺、角膜、及び皮膚の一部所見を除き、ほぼすべての所見で可逆性が示された。重篤な肺毒性が 30 mg/kg 以上で観察されたことから、HNSTD は 10 mg/kg と判断した。

## 1.2　遺伝毒性試験の概括

In vitro 遺伝毒性試験では、DXd は細菌に対して遺伝子突然変異誘発性を示さなかったが、哺乳類培養細胞に対して染色体構造異常を誘発した。ラット骨髄を用いた小核試験では、DXd による小核誘発能が示された。

## 1.3　その他の毒性試験の概括

カニクイザル及びヒト正常組織パネルを用いた Dato-DXd の組織交差反応性試験では、カニクイザルとヒトで共通して、膀胱、眼、卵管、食道、胃、肝臓、肺、膵臓、唾液腺、皮膚、甲状腺、扁桃腺、尿管、及び子宮の上皮系細胞で、細胞膜上の陽性像が認められた。さらに、ヒトの乳房、腎臓、胸腺、及び胎盤、並びにカニクイザルの小腸及び精巣でも、細胞膜上の陽性像が認められた。

DXd のラットを用いた 4 週間間歇静脈内投与毒性試験（0、3、10、及び 30 mg/kg）では、最高用量の 30 mg/kg まで死亡又は瀕死はなかった。DXd のカニクイザルを用いた 4 週

間間歇静脈内投与毒性試験（0、1、3、及び 12 mg/kg）では、最高用量の 12 mg/kg で雌 1 例の死亡、雄 1 例の瀕死が認められた。瀕死の雄では心毒性及び肝毒性が認められた。これら 2 例で認められた摂餌量の持続的減少、骨髄毒性、及び消化管毒性に関連した状態悪化が、瀕死及び最終的な死亡の原因と考えられた。Dato-DXd と DXd で共通した毒性の標的臓器は、リンパ造血器系、消化管、角膜、及び肝臓であった。Dato-DXd 投与によって、肺、皮膚、腎臓、生殖器、切歯、及び関節軟骨に投与に関連した毒性所見が認められた。

In vitro 3T3 NRU 光毒性試験では、Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞に対する DXd の光毒性が示された。一方、有色ラットを用いた DXd の in vivo 単回投与光毒性試験では、最高用量の 3 mg/kg まで光毒性反応はなかった。

ヒト PBMC を用いた CRA 固相法では、溶媒と比べて Dato-DXd で、腫瘍壊死因子（tumor necrosis factor: TNF）-α 及び macrophage inflammatory protein（MIP）-1β の高値が認められた。また、溶媒と比べて Dato で、TNF-α、インターロイキン（interleukin: IL）-6、IL-10、及び MIP-1β の高値が認められた。Dato-DXd 及び Dato 曝露後のこれらサイトカイン濃度は、臨床における注入に伴う反応（infusion-related reaction: IRR）の発生率が 3%未満の bevacizumab と同等かそれ以下であった [1]。Dato-DXd 及び Dato による細胞増殖性は認められず、免疫細胞の活性化能がないことが示唆された。ヒト全血を用いた CRA 液相法では、Dato-DXd 又は Dato はいずれのサイトカインも放出させなかった。

MAAP-9002b のカニクイザルを用いた 2 週間間歇静脈内投与毒性試験（GLP 非適用、11、33、及び 89 mg/kg）では、89 mg/kg で雄 1 例の死亡及び雌 1 例の瀕死が認められた。毒性所見が 11 mg/kg 以上で皮膚、食道、膣、及び乳腺、33 mg/kg 以上で角膜及び前立腺、並びに 89 mg/kg の肝臓、消化管、骨髄、心臓、腎臓、及び卵巣に認められた。

## 2.　単回投与毒性試験

間歇静脈内投与毒性試験の初回投与時に急性毒性情報を得られるため、ICH M3（R2）に準拠して、Dato-DXd の単回投与毒性試験は実施していない。Dato-DXd のラット（1 回／3 週、0、20、60、及び 200 mg/kg）を用いた 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験では、初回投与後、200 mg/kg まで死亡又は瀕死はなかった。初回投与後 8 日目から 200 mg/kg で脱毛が認められた。200 mg/kg の初回投与後、体重増加の抑制及び摂餌量の減少も認められた。Dato-DXd のカニクイザル（1 回／3 週、0、10、30、及び 80 mg/kg）を用いた 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験では、初回投与後、80 mg/kg まで死亡又は瀕死はなかった。初回投与後、30 mg/kg では 20 日目から、80 mg/kg では 14 日目から皮膚色異常が認められた。また、初回投与後に 80 mg/kg で体重の減少がみられた。以上の結果から、単回投与による Dato-DXd の概略の致死量は、ラットでは 200 mg/kg、カニクイザルでは 80 mg/kg をそれぞれ上回ると判断された。

## 3.　反復投与毒性試験

### 3.1　ラット 3 ヵ月間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性及び 2 ヵ月間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.2-1

【方法】Crl:CD(SD)ラット（各群雌雄各 10 例）に 0（溶媒: 9%ショ糖及び 0.02%ポリソルベート 80 含有 10 mmol/L-ヒスチジン緩衝液［pH 6.0］）、20、60、又は 200 mg/kg の Dato-DXd を 3 週間に 1 回、3 ヵ月間間歇静脈内投与（投与 1、22、43、64、及び 85 日目、計 5 回）した。0 又は 200 mg/kg の Dato-DXd をラット（雌雄各 5 例）に同様に投与後、2 ヵ月間の回復期間における毒性変化の可逆性を評価した。サテライト群（雌雄各 4 例）を用いて Dato-DXd、総抗 TROP2 抗体（薬物結合型及び非結合型抗 TROP2 抗体の和）、及び DXd の TK を評価した。また、ADA の解析も実施した。TK 及び ADA の結果は 2.6.4.3.2.1.1 に要約した。

【結果】いずれの用量でも死亡や瀕死は認められず、眼科学的検査で被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。一般状態として、切歯の変化（切歯の破折、白色化、過成長）が 60 mg/kg 以上で認められた。脱毛及び眼窩周囲の汚れが 200 mg/kg で認められた。体重の低値が 60 及び 200 mg/kg の雌でみられ、60 mg/kg の雌及び 200 mg/kg の雌雄では摂餌量減少も認められた。尿検査では、尿蛋白の増加が 200 mg/kg の雌雄で認められた。

血液学的検査では、網状赤血球数の減少が 200 mg/kg の雌雄で認められた。また、雌で白血球数及びリンパ球数の減少、雄で好中球数の減少が 200 mg/kg で認められた。血液化学的検査では、アルブミン及びアルブミン／グロブリン比の減少が 200 mg/kg の雄、尿素窒素の増加が 200 mg/kg の雌雄で認められた。

剖検では、胸腺の小型化、肺の斑、脱毛、及び盲腸内の黒色内容物が 200 mg/kg で認められた。一般状態観察と同様に、切歯の破折、白色化、及び過成長も認められた。投与期間終了時の器官重量測定では、精巣上体重量の低値が 200 mg/kg で認められた。回復期間終了時には、精巣上体に加え、精巣重量の低値が認められた。

病理組織学的検査では、リンパ造血器系への影響として胸腺内で可染小体マクロファージの増加が 20 mg/kg 以上で、胸腺皮質及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘の萎縮が 200 mg/kg で、骨髄細胞の減少が 200 mg/kg で認められた。消化管では、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、及び直腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死が 60 mg/kg 以上で認められた。肺では出血、肺胞内好中球浸潤、肺胞上皮再生、及び泡沫状肺胞マクロファージの浸潤が 200 mg/kg で認められた。腎臓では、硝子円柱及び尿細管上皮再生が 60 mg/kg 以上で認められ、足細胞変性が 200 mg/kg で観察された。雄の生殖器系では、精巣の精上皮変性及び精細管萎縮が 200 mg/kg で認められ、精巣上体では細胞残渣及び精子数減少、並びに精巣上体管上皮の単細胞壊死が 200 mg/kg で認められた。また、雄では乳腺の腺上皮萎縮が 200 mg/kg で認められた。雌では、卵巣の閉鎖卵胞数増加及び膣粘膜上皮の単細胞壊死が 200 mg/kg で認められた。皮膚では、表皮の壊死及び毛包における単細胞壊死が 200 mg/kg で認められた。切歯では、エナメル芽細胞の壊死が 60 mg/kg 以上で認められ、象牙質形成異常、エナメル器の単

細胞壊死、歯根における出血及び壊死が 200 mg/kg で認められた。その他、歯肉炎が 60 mg/kg で認められた。以上の病理組織学的所見のグレードは、200 mg/kg 群の精巣で認められた重度の精細管萎縮を除き、軽度又は中等度であった。

回復期間終了時には、精巣の所見を除き、投与期間中に認められた血液学的検査及び血液化学的検査の変化を含むほぼすべての毒性所見が、回復又は回復傾向を示した。

以上の結果より、リンパ造血器、消化管、肺、腎臓、生殖器、皮膚、及び歯に対する毒性がみられた。いずれも動物の一般状態の悪化、瀕死又は死亡に及ぶ重篤な変化でないことから、ラットの $STD_{10}$ は 200 mg/kg より大きいと判断した。

## 3.2　サル 6 週間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性試験（GLP 非適用）

添付資料番号: 4.2.3.2-2

【方法】雌雄のカニクイザルを用いて Dato-DXd の間歇静脈内投与による毒性試験（GLP 非適用）を実施した。溶媒（5%ソルビトール含有 10 mmol/L 酢酸緩衝液［pH 5.5］）で希釈した Dato-DXd を 10 又は 30 mg/kg の用量で 3 週間に 1 回、6 週間静脈内投与（投与 1、22、及び 43 日目）した。10 mg/kg では雌雄各 1 例、30 mg/kg では雌雄各 2 例を設定した。総抗 TROP2 抗体及び DXd に対する TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.1.2 参照）。さらに、DXd の肝臓、骨髄、心臓、皮膚、食道、及び肺組織中濃度を評価した。

【結果】投与期間中、死亡又は瀕死は認められず、体重、摂餌量、胸部 computed tomography（CT）検査、血液ガス分析、血液学的検査、及び血漿中 surfactant protein D（SP-D）を含む血液化学的検査では、被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。吐物（白色泡沫及び飼料片）及び流涎が 30 mg/kg の雌 1 例で 2 及び 3 回目の投与日に認められ、投与後 1 時間以内に消失した。さらに、この雌では、軟便及び粘液便も散発的に認められた。病理組織学的検査では、肺での泡沫状肺胞マクロファージの集簇及び間質細胞浸潤、十二指腸で陰窩の単細胞壊死、胸腺での可染小体マクロファージの増加が 30 mg/kg で認められた。その他の検査では、顕著な変化はみられなかった。10 mg/kg では、いずれの検査でも毒性学的に意義のある変化はみられなかった。DXd の組織中濃度は、肝臓で他の器官より高値傾向を示した。

以上の結果より、本試験では、HNSTD は 30 mg/kg と判断され、十二指腸、胸腺、及び肺に対する毒性がみられた。

## 3.3　サル 3 ヵ月間間歇（1 回／3 週）静脈内投与毒性及び 2 ヵ月間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.2-3

【方法】カニクイザル（各群雌雄各 3 例）に 0（溶媒: 9%ショ糖及び 0.02%ポリソルベート 80 含有 10 mmol/L-ヒスチジン緩衝液［pH 6.0］）、10、30、又は 80 mg/kg の Dato-DXd を 3 週間に 1 回、3 ヵ月間静脈内投与（投与 1、22、43、64、及び 85 日目、計 5 回）した。30 又は 80 mg/kg の Dato-DXd をカニクイザル（雌雄各 2 例）に同様に投与後、2 ヵ月間の回復

期間での毒性変化の可逆性を評価した。Dato-DXd、総抗 TROP2 抗体、及び DXd の TK を評価したほか、ADA の解析も実施した。これらの結果は 2.6.4.3.2.1.3 に要約した。

【結果】いずれの用量でも死亡や瀕死は認められず、いずれの群でも、摂餌量及び心電図に被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。一般状態として、全身の皮膚色異常（黒色）が、初回投与以降に 30 mg/kg 以上で認められた。この所見は、投与期間終了時までに 30 mg/kg の 10 例中 6 例及び 80 mg/kg の全例で認められ、病理組織学的検査では表皮の褐色色素沈着が確認された。2 回目の投与後、80 mg/kg の雄 2 例で、頚部、腹部、及び大腿部で発疹が一過性に観察された。80 mg/kg の雌 1 例における病理組織学的検査では、腓腹部皮膚のびらん及び炎症細胞浸潤が認められた。さらに、80 mg/kg の雌 1 例では、4 回目投与から投与期間終了時まで歩行異常が認められた。同動物では、投与期間終了間際まで、膝の表皮剥離、鼠径部のびらん、痂疲も認められ、剖検では、右股関節の関節包肥厚が認められた。病理組織学的検査では、本動物の右股関節で、関節表面における線維軟骨形成、関節軟骨のびらん、滑膜細胞の過形成、及び関節包の線維性肥厚が認められた。80 mg/kg の雌 2 例で、半閉眼が 3 回目の投与後に認められ、投与期間終了時まで持続した。摂餌量減少を伴わない軽微な体重減少が、30 mg/kg 以上で認められた。

被験物質投与に起因すると考えられた最も重要な毒性変化が、30 及び 80 mg/kg の各 1 例の肺で投与期間終了時に認められた。胸部 CT 検査では、肺の浸潤影が 30 mg/kg の 1 例で投与 21 日目以降、80 mg/kg の 1 例で投与 42 日目以降に認められた。30 mg/kg の動物では、血清中 SP-D の増加、血液ガス分析で酸素分圧及びヘモグロビン酸素飽和度の低下が認められた。剖検では、肺の絶対重量及び相対重量の高値を伴う赤色巣及び褐色巣が観察された。病理組織学的検査では、これら 2 例の肺で、肺胞における水腫及び出血、泡沫状肺胞マクロファージの集簇、並びに肺胞及び間質における炎症細胞浸潤が観察された。

眼科学的検査では、投与期間中の肉眼観察及びスリットランプを用いた検査で、80 mg/kg の 10 例中 7 例で角膜の色素沈着が認められた。30 mg/kg のスリットランプを用いた検査でも 10 例中 2 例で同所見がみられた。投与期間終了時の病理組織学的検査では、角膜上皮の単細胞壊死及び褐色色素沈着が 30 mg/kg 以上で認められた。80 mg/kg では角膜上皮細胞の萎縮及び空胞化も認められた。

尿検査では、尿 pH の低値が 30 mg/kg 以上で認められ、この変化は尿ケトン体の高値を伴っていた。

血液学的検査では、80 mg/kg の雌 2 例で、投与期間終了時に赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値の減少、網状赤血球比率の増加が認められた。10 mg/kg の雌 1 例で投与 67 日目、雌雄各 1 例で投与 86 日目に血小板数の減少も認められた。

病理組織学的検査では、小腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死が、10 mg/kg 以上で十二指腸に、30 mg/kg 以上で回腸及び空腸に認められた。肝細胞の単細胞壊死が 30 mg/kg の雄 1 例に、腎臓の近位尿細管上皮細胞の核の大小不同が 80 mg/kg の雄 1 例に認められた。胸腺の萎縮が 30 mg/kg の雌雄各 1 例及び 80 mg/kg の雄 1 例で認められた。80 mg/kg の右股関節に変化がみられた 1 例では、右側腋窩リンパ節の髄質における形質細胞浸潤が認められた。

回復期間中、体重、摂餌量、心電図、血液学的検査、及び血液化学的検査に毒性変化はみられなかった。一般状態として、皮膚色異常（黒色）が 30 mg/kg 以上の全例で認められ、病変の程度に差はなかったが、回復期間終了時まで継続した。これら動物では、病理組織学的に表皮の褐色色素沈着が認められた。眼科学的検査では、休薬 51 日目に角膜の色素沈着が、肉眼観察では 80 mg/kg の 2 例、スリットランプを用いた検査では 30 mg/kg の 2 例及び 80 mg/kg の全例で認められた。回復期間終了時（休薬 57 日目）の病理組織学的検査では、80 mg/kg の 2 例で角膜上皮の褐色色素沈着が認められた。CT 検査では、80 mg/kg の雄 1 例で、投与 86 日目から肺に網状陰影が認められた。本所見と対応する部位では、病理組織学的に肺胞における出血、泡沫状肺胞マクロファージの集簇、並びに肺胞及び間質における炎症細胞浸潤が認められた。その変化は限局性かつ軽微であり、血液ガス分析で異常所見を伴わなかったことから、重篤ではないと判断した。したがって、投与期間に認められた変化は、皮膚及び角膜の色素沈着を除き、回復又は回復傾向を示した。肺毒性の可逆性は、低い発現頻度のため、判断出来なかった。

以上の結果より、30 mg/kg 以上で肺に重篤な変化が認められ、肺、消化管、腎臓、肝臓、皮膚、角膜、胸腺、及び股関節軟骨に対する毒性がみられた。したがって、HNSTD は 10 mg/kg と判断した。Dato-DXd 投与に起因した変化のうち、肺の所見、並びに皮膚及び角膜での色素沈着を除くほぼすべての変化が、2 ヵ月間の回復期間後に回復傾向を示した。

## 4.　遺伝毒性試験

### 4.1　DXd（一水和物）の細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.3.1-1

【方法】DXd の細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。試験にはネズミチフス菌の 4 菌株（TA100、TA1535、TA98、及び TA1537）と大腸菌の 1 菌株（WP2*uvrA*）を使用した。DXd（一水和物）は dimethyl sulfoxide（DMSO）に溶解して用いた。本試験の用量は、用量設定試験の結果を参考に、薬物代謝酵素系（S9 mix）の存在下あるいは非存在下において 313～5000 μg/plate の範囲内でそれぞれの菌株に対して合計 5 用量を設定した。また、陰性対照（DMSO）群と陽性対照（4-nitroquinoline 1-oxide、sodium azide、9-aminoacridine hydrochloride monohydrate、及び 2-aminoanthracene）群を設けた。

【結果】本試験では、S9 mix の有無にかかわらず、試験した全菌株について、DXd のいずれの処理条件でも復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。また、陰性対照及び陽性対照における復帰変異コロニー数は、背景データの範囲内（平均値 ± 3 × 標準偏差）にあったことから、試験は適切な条件下で実施されたと判断した。

以上の結果より、DXd に遺伝子突然変異誘発性はないと判断された。

### 4.2　DXd（一水和物）の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.3.1-2

【方法】DXd の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験を実施した。試験にはチャイニー

ズハムスター肺由来細胞を用いた。DXd（一水和物）は DMSO に溶解して用いた。用量設定試験の結果を参考に、本試験では薬物代謝酵素系（S9 mix）の存在下あるいは非存在下において 0.0125～3 μg/mL を含有する培地で細胞を処理した。また、陰性対照（DMSO）群と陽性対照（mitomycin C 及び cyclophosphamide monohydrate）群を設けた。短時間処理法では 6 時間の検体処理後に培地を交換してさらに 18 時間培養し、連続処理法では 24 時間細胞を検体で処理した。細胞増殖率の結果に基づき、短時間処理法の S9 mix の非存在下では 0.05、0.1、0.2、及び 0.4 μg/mL で、S9 mix の存在下では 0.05、0.1、0.2、0.4、及び 1 μg/mL で、また連続処理法では 0.0125、0.025、0.05、0.1、及び 0.2 μg/mL で処理した細胞について染色体異常を評価した。

【結果】本試験では、DXd による染色体の数的異常を示す細胞の増加は観察されなかったが、いずれの試験条件でも用量依存的に染色体の構造異常を示す細胞の増加が観察された。また、陰性及び陽性対照群における染色体異常の出現頻度は、背景データの範囲内にあり、陽性対照群では染色体異常誘発性が確認された。

以上の結果より、DXd は染色体の構造異常を誘発すると判断された。

### 4.3　DXd（一水和物）静脈内投与後のラットの骨髄を用いた小核試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.3.2-1

【方法】雄の Crl:CD(SD)ラットを用いて DXd の小核試験を実施した。予備試験の結果から、生理食塩液に溶解した DXd（一水和物）を 0.025、0.05、0.1、及び 0.2 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。投与 24 時間後に骨髄を採取し、小核を有する幼若赤血球の数、及び幼若赤血球の割合を評価した（各群雄 5 例）。また、陰性対照（生理食塩液）群と陽性対照（保存陽性対照検体）群を設けた。

【結果】いずれの用量でも臨床的に異常な徴候は認められなかった。DXd 投与群では、陰性対照群と比較して体重に統計学的に有意な変化は認められなかった。0.05 mg/kg 以上の群では陰性対照群と比較して、小核を有する幼若赤血球数に統計的に有意な増加が認められた。いずれの群でも陰性対照群と比較して、幼若赤血球の割合に統計学的に有意な変化は認められなかった。陰性対照群及び陽性対照群における小核を有する幼若赤血球の発生率及び総赤血球に対する幼若赤血球の割合は、背景データの範囲内（平均値±3 × 標準偏差）にあったことから、試験は適切な条件下で実施されたと判断した。

以上の結果より、DXd の小核誘発性が示された。

## 5.　がん原性試験

がん原性試験は実施していない。

## 6.　生殖発生毒性試験

ICH S9 に準拠し、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の

発生、並びに母体の機能に関する試験、並びに胚及び胎児発生に関する試験は実施していない。

ラット及びカニクイザルを用いた Dato-DXd の間歇静脈内投与毒性試験では、生殖器への影響を評価した。ラット 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験では、200 mg/kg で精巣の精上皮細胞の変性及び精細管の萎縮、精巣上体の細胞残渣及び精子数の減少、並びに精巣上体管上皮細胞の単細胞壊死が認められた。200 mg/kg で卵巣の閉鎖卵胞の増加、膣の粘膜上皮の単細胞壊死も認められた。

Dato-DXd 及び DXd のラット及びカニクイザル毒性試験では、細胞分裂の盛んな細胞（リンパ造血器、消化管、及び精巣）に対して毒性作用が認められた。また、哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、ラット in vivo 小核試験では、DXd の遺伝毒性も示唆された。以上の DXd の特性から、Dato-DXd が妊婦に投与された場合、胎児に悪影響を及ぼす可能性がある。

## 7.　局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施していない。

Dato-DXd の静脈内投与後の局所刺激性は、ラット及びカニクイザルの間歇静脈内投与毒性試験（3.1、3.2、及び 3.3 参照）で評価した。投与部位における肉眼観察及び組織学的検査から、高用量まで Dato-DXd 投与に関連した刺激性を示唆する所見は認められなかった。

## 8.　その他の毒性試験

### 8.1　組織交差反応性試験

#### 8.1.1　ヒト組織交差反応性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-1

【方法】ヒト組織の凍結切片を用いて Dato-DXd の組織交差反応性を評価した。ヒト正常組織パネル（36 組織、ドナー3 例／組織）に Dato-DXd 又はヒト IgG1κ（アイソタイプ対照抗体）を 2 及び 10 μg/mL の濃度で反応させ、結合を免疫組織化学染色（間接法）によって評価した。

【結果】Dato-DXd 特異的な染色が認められたのは、膀胱（粘膜）、乳房（乳腺／乳管）、眼（結膜／角膜）、卵管（粘膜）、食道（粘膜）、胃（粘膜）、腎臓（尿細管／ボーマン嚢）、肝臓（胆管）、肺（肺胞）、膵臓（膵管／腺房）、胎盤（羊膜）、唾液腺（導管）、皮膚（表皮／付属器）、胸腺（細網組織／胸腺小体）、甲状腺（濾胞）、扁桃（粘膜／陰窩）、尿管（粘膜）、子宮頸部（粘膜／腺）、子宮内膜（腺／筋層）、卵管の中皮、並びに胎盤脱落膜細胞の細胞膜であった。また、肺（細気管支）、卵巣（表層）、上皮小体（腺）、下垂体（内分泌腺／ラトケ嚢胞）、胎盤（栄養膜）、前立腺（腺／管）、唾液腺（腺房）、並びに末梢神経及び脊髄（シュワン細胞）の細胞質成分にも、特異的な染色が認められた。生体内では被験物質は細胞質に到達し難いと考えられることから、細胞質の染色性については生物学的意義は低いと考えられた。

### 8.1.2　サル組織交差反応性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-2

【方法】カニクイザル組織の凍結切片を用いて Dato-DXd の組織交差反応性を評価した。カニクイザルの正常組織パネル（36 組織、3 例／組織）に Dato-DXd 又はヒト IgG1κ（アイソタイプ対照抗体）を 2 及び 10 µg/mL の濃度で反応させ、結合を免疫組織化学染色（間接法）によって評価した。

【結果】Dato-DXd 特異的な染色が認められたのは、膀胱（粘膜）、眼（結膜）、卵管（粘膜）、食道（粘膜）、胃（粘膜）、小腸（粘膜）、肝臓（胆管）、肺（肺胞）、膵臓（膵管／腺房）、唾液腺（導管／腺房）、皮膚（表皮／付属器）、精巣（精管）、甲状腺（濾胞）、扁桃（粘膜／陰窩）、尿管（粘膜）、子宮頸部（粘膜／腺）、及び子宮内膜（粘膜／腺）の細胞膜であった。また、乳房（乳腺／乳管）、腎臓（尿細管／ボーマン嚢／腎盂上皮）、肺（細気管支）、卵巣（表層）、上皮小体（腺／胸腺咽頭管）、下垂体（内分泌腺）、胎盤（羊膜）、前立腺（腺／管／尿道）、及び胸腺（扁平上皮／胸腺小体／胸腺咽頭管）、並びに小脳及び脊髄（シュワン細胞）の細胞質成分にも、特異的な染色が認められた。生体内では被験物質は細胞質に到達し難いと考えられることから、細胞質の染色性については生物学的意義は低いと考えられた。

## 8.2　DXd の反復投与毒性試験

### 8.2.1　DXd（一水和物）のラット 4 週間間歇（1 回／1 週）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-3

【方法】雌雄の Crl:CD(SD)ラットを用いて DXd の 4 週間間歇静脈内投与による毒性試験を実施した。DXd（一水和物）は 0（溶媒対照）、3、10、又は 30 mg/kg の用量で、週 1 回（投与 1、8、15、22、及び 29 日目の計 5 回投与、各群雌雄各 10 例）、4 週間間歇静脈内投与した。さらに、0（溶媒対照）又は 30 mg/kg の用量に各群雌雄各 5 例を設け、上記と同様に投与した後に 4 週間休薬し、毒性変化の可逆性を評価した。また、サテライト群（各群雌雄各 4 例）を設定し、DXd の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.2 参照）。

【結果】投与期間及び回復期間を通じて、死亡や瀕死は認められず、いずれの用量でも、一般状態、眼科学的検査、尿検査、及び剖検で被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。

3 mg/kg 以上の雌雄では、間歇投与後の一過性の体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられ、赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、及び網状赤血球比率）及び白血球系パラメータ（白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、及び好塩基球数）の減少、並びに血清グルコースの高値が認められた。また、病理組織学的には骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、胸腺重量の低値を伴うリンパ球の単細胞壊死、パイエル板又は顎下リンパ節の濾胞の萎縮が認められた。さらに、小腸及び大腸の陰窩上皮細胞の

単細胞壊死及び角膜上皮の単細胞壊死、十二指腸の絨毛萎縮がみられた。

30 mg/kg の雌雄で胸腺の萎縮、30 mg/kg の雄 1 例で盲腸に陰窩の拡張を伴う陰窩上皮細胞における核の大小不同が認められた。

4 週間の回復期間終了時までに、投与期間中に認められた変化は回復した。

以上の結果より、本試験では、3 mg/kg 以上の雌雄で、消化管、リンパ造血器、角膜に対する毒性がみられた。いずれも動物の一般状態の悪化、瀕死又は死亡に及ぶ重篤な変化ではないことから、ラットの $STD_{10}$ は、30 mg/kg より大きいと判断した。

### 8.2.2　DXd（一水和物）のサル 4 週間間歇（1 回／1 週）静脈内投与毒性及び 4 週間回復性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-4

【方法】雌雄のカニクイザルを用いて DXd の 4 週間間歇静脈内投与による毒性試験を実施した。DXd（一水和物）を 0（溶媒対照）、1、3、又は 12 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 3 例のカニクイザルに週 1 回 4 週間静脈内投与（投与 1、8、15、22、及び 29 日目の計 5 回投与）した。さらに、回復性評価のため、DXd の 12 mg/kg 群に雌雄各 2 例を追加し、同様に週 1 回 4 週間静脈内投与した後に 4 週間休薬した。また、DXd の TK 解析を実施した（2.6.4.3.2.2 参照）。

【結果】12 mg/kg 群では、雄 1 例を投与 12 日目に瀕死のため安楽死処置し、雌 1 例が投与 23 日目に死亡した。一般状態では、これらの動物で嘔吐、下痢、横臥位、体温低下、口腔粘膜の蒼白化、及び接触に対する反応性低下がみられた。さらに、体重の減少、摂餌量の減少又は廃絶がみられた。臨床検査では、ヘマトクリット値及びリンパ球数の減少、並びにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate transaminase: AST）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine transaminase: ALT）の増加がみられた。

病理組織学的検査では、心室における心筋の変性及び壊死、骨髄の赤芽球及び骨髄球の減少、脾臓の濾胞及び動脈周囲リンパ組織鞘の萎縮、腸間膜リンパ節及びパイエル板の濾胞の萎縮、肝臓における肝細胞の単細胞壊死、限局性壊死、細胞分裂の増加、核の大小不同、毛細胆管の拡張及び胆汁栓子、並びにクッパー細胞の褐色色素沈着、並びに腸管の陰窩上皮細胞における核の大小不同、単細胞壊死、及び陰窩の拡張が観察された。瀕死の原因は、体重及び摂餌量の減少に起因した状態悪化、並びに骨髄毒性又は消化管毒性に関連すると考えられた。

生存例では、死亡や瀕死例と同様の変化がみられ、1 mg/kg 以上の群で、網状赤血球比率の減少、脾臓、腸間膜リンパ節、及びパイエル板の濾胞の萎縮、並びに胸腺におけるリンパ球の単細胞壊死がみられた。3 mg/kg 以上の群で嘔吐、体重の減少、及び AST の増加が認められた。12 mg/kg 群で異常便、ALT の増加、肝細胞の単細胞壊死、及び小腸の陰窩上皮細胞の単細胞壊死が認められた。さらに、赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値）及びリンパ球数の減少、血小板数の増加、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮又は延長、無機リン及びカリウムの増加、並びに角膜上皮細胞の単細

胞壊死が観察された。

尿検査ではいずれの群でも被験物質に起因した変化はみられなかった。

4 週間の回復期間終了時までに、投与期間中に認められた変化は回復した。

以上の結果より、本試験では、心臓、消化管、リンパ造血器系組織、肝臓、角膜に対する毒性がみられた。12 mg/kg で死亡又は瀕死が認められたことから、HNSTD は雌雄ともに 3 mg/kg と判断した。

## 8.3　光毒性試験

### 8.3.1　DXd（一水和物）の in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-5

【方法】Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて、DXd の光毒性を評価した。DXd（一水和物）の濃度は、培地中への溶解性をもとに 25 μg/mL を最高濃度とし、培地中 0.195～25 μg/mL の 8 段階の濃度を公比 2 で設定した。紫外線 A 照射量は太陽類似光を用いて 5 J/cm$^2$（1.70 mW/cm$^2$、50 分）に設定した。なお、塩酸クロルプロマジンを陽性対照として用いた。

【結果】DXd で処理した細胞において、照射条件下での 50%阻害濃度（50% inhibitory concentration: $IC_{50}$）値は 2.356 μg/mL であったが、非照射条件下では細胞生存率の $IC_{50}$ 値が得られなかったため、光毒性係数は算出できなかった。平均光作用（mean photo effect: MPE）は 0.432 であり、陽性基準である 0.15 よりも大であったため、DXd は光毒性ありと判定された。

本試験条件で、DXd は Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞に対して、光毒性を有すると判断した。

### 8.3.2　DXd（一水和物）の単回静脈内投与による有色ラットの光毒性試験（GLP 適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-6

【方法】雄性の Iar:Long-Evans 有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験を実施し、DXd の光毒性を評価した。本試験の高用量は、推定臨床用量での曝露量に対して十分なマージンが確保される用量として 3 mg/kg に設定した。各群 5 例のラットに DXd（一水和物）を 1 又は 3 mg/kg の用量で静脈内投与し、投与 0.5 時間後に紫外線 A（10 J/cm$^2$）を単回照射した。陽性対照群には、8-methoxypsoralen を 20 mg/kg の用量で強制経口投与した。陰性対照群には、被験物質と同様の方法で溶媒の生理食塩液を投与した。また、DXd の TK 評価を目的に 2 群（各群雄 4 例）を設け、投与 0.5 時間後（紫外線 A 照射開始時間を起点）に採血し、血漿中 DXd 濃度を測定した。一般状態を観察し、体重測定、皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察を実施した。

【結果】溶媒対照群では、いずれの検査でも光毒性反応は認められなかった。3 日間の観

察期間中、DXd に関連する一般状態の異常及び体重変化はみられなかった。皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察では、DXd 及び紫外線 A 照射に関連する異常はみられなかった。TK 評価では、ラットが紫外線 A 照射時に十分な DXd に曝露されていたことが示された。陽性対照群では、一般状態、皮膚反応の肉眼的観察、耳介厚の測定、及び眼の肉眼的観察で、明らかな光毒性が認められた。

本試験条件下で、DXd は有色ラットに光毒性を示さなかった。

## 8.4 In Vitro Cytokine Release Assay

### 8.4.1 Dato-DXd 及び Dato のヒト末梢血単核細胞を用いた in vitro サイトカイン放出試験（固相法）（GLP 非適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-7

【方法】ヒト PBMC を用いて Dato-DXd 及び Dato の in vitro CRA（固相法）を実施した。6 例のドナー由来のヒト PBMC を 0（溶媒: リン酸緩衝生理食塩液）、0.15、1.5、15、及び 150 µg/mL の Dato-DXd 又は Dato と 48 時間培養した。培養終了後、上清中 TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-6、IL-10、MIP-1β、及び IP-10 の濃度を測定した。ヒト PBMC の細胞生存率を水溶性テトラゾリウム塩アッセイで測定した。上市された抗体医薬品である bevacizumab（臨床での IRR 発現率: <3%）及び alemtuzumab（臨床での IRR 発現率: 89%）[1] を参照抗体として用いた。陽性対照には抗ヒト CD3 抗体を用いた。

【結果】Dato-DXd と培養したヒト PBMC から放出された TNF-α 及び MIP-1β は、溶媒と培養したヒト PBMC から放出された場合と比べて高値であった。Dato-DXd によって放出された TNF-α 及び MIP-1β の増加レベルは、bevacizumab 及び alemtuzumab より低かった。Dato と培養したヒト PBMC から放出された TNF-α、IL-6、IL-10、及び MIP-1β は、溶媒と培養した hPBMC から放出された場合と比べて高値であった。Dato による IL-6 及び IL-10 増加レベルは bevacizumab と同程度で、alemtuzumab より低かった。Dato による TNF-α 及び MIP-1β 増加レベルは bevacizumab 及び alemtuzumab と同程度であった。その他のサイトカイン及び細胞生存率について、溶媒と比べて Dato-DXd 又は Dato で差はみられなかった。抗ヒト CD3 抗体は、測定した全てのサイトカインの顕著な放出及び細胞増殖を誘導した。

以上、臨床での IRR 発現率が 3%未満である bevacizumab と比較して、Dato-DXd 及び Dato はヒト PBMC からの有意なサイトカイン放出を誘導しなかった。細胞生存率の結果から、Dato-DXd 及び Dato による免疫細胞の活性化能がないことが示唆された。

### 8.4.2 Dato-DXd 及び Dato のヒト全血を用いた in vitro サイトカイン放出試験（液相法）（GLP 非適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-8

【方法】ヒト全血を用いて Dato-DXd 及び Dato の in vitro CRA（液相法）を実施した。6 例のドナー由来のヒト全血を 0（溶媒: リン酸緩衝生理食塩液）、0.15、1.5、15、及び 150 µg/mL の Dato-DXd 又は Dato と 24 時間培養した。培養終了後、上清中 TNF-α、IFN-γ、

IL-2、IL-6、IL-10、MIP-1β、及び IP-10 の濃度を測定した。ヒト全血の細胞生存率を水溶性テトラゾリウム塩アッセイで測定した。上市された抗体医薬品である bevacizumab 及び alemtuzumab を参照抗体として用いた。また、alemtuzumab は陽性対照としても用いた。

【結果】Dato-DXd 又は Dato はいずれのサイトカインも放出させなかった。Alemtuzumab は IL-2 及び IL-10 を除くすべてのサイトカインを増加させた。溶媒対照群と Dato-DXd、溶媒対照群と Dato の間で細胞生存率に差はなかった。

以上、本試験系では、Dato-DXd 及び Dato はヒト全血からサイトカイン放出を誘導しないことが示唆された。

## 8.5　MAAP-9002b のサル 2 週間間歇（1 回／週）静脈内投与毒性試験（GLP 非適用）

添付資料番号: 4.2.3.7.7-9

MAAP-9002b は Dato-DXd と同じ抗体、リンカー、及び薬物部分からなる旧候補 ADC であるが、DAR（平均 DAR: 約 7）が Dato-DXd と異なる。

【方法】MAAP-9002b の毒性を評価するため、雌雄のカニクイザルを用いて 2 週間間歇静脈内投与による毒性試験（GLP 非適用）を実施した。各群雌雄各 1 例のカニクイザルに、MAAP-9002b を 11、33、又は 89 mg/kg の用量で週 1 回 2 週間静脈内投与（投与 1 及び 8 日目）した。15 日目にサルを屠殺し病理学的検査に供した。

【結果】89 mg/kg では、雄が死亡し、雌を投与 11 日目に瀕死のため安楽死処置した。この 2 例では、嘔吐、軟便、下痢、皮膚発赤、発疹、眼脂、並びに体重及び摂餌量の減少が認められた。瀕死例では、自発運動の低下、反応性消失、及び横臥位も認められた。血液学的検査では、網状赤血球比率、血小板数、白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数の減少、及びフィブリノゲンの増加が認められた。血液化学的検査では、AST、ALT、乳酸脱水素酵素、総ビリルビン及び直接ビリルビン、並びに C 反応性蛋白の増加がみられた。病理組織学的検査では、肝細胞の単細胞壊死、食道及び消化管での粘膜壊死及び萎縮、骨髄の造血細胞減少、並びに皮膚の複数部位で表皮及び毛包での扁平上皮細胞の壊死が認められた。

さらに、死亡例では、前立腺の腺腔内の細胞残渣が認められた。瀕死例では、心筋細胞の壊死、腎尿細管の再生、十二指腸腺細胞の単細胞壊死、角膜上皮の萎縮、乳腺の腺房及び腺管上皮の単細胞壊死を伴う腺房数減少及び乳腺拡張、膣の細胞浸潤を伴う粘膜の壊死及び萎縮、並びに卵巣の発育卵胞減少が認められた。食道、消化管、乳腺、膣、及び皮膚では核の大小不同も認められた。死亡例及び瀕死例では、肝臓、消化管、及び皮膚に壊死性変化が認められたことから、死亡及び瀕死の原因は、多臓器毒性、とくに肝臓及び消化管毒性に起因すると考えられ、皮膚の毒性が状態悪化に関連していると考えられた。

11 mg/kg 以上で、嘔吐、体重及び摂餌量の減少、並びに皮膚の肉眼所見（発赤又は発疹）が認められた。

33 mg/kg では、眼脂及び自発運動の低下が認められた。臨床検査では、網状赤血球比率、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の減少、活性化部分トロンボプラス

チン時間の延長、並びにフィブリノゲン、トリグリセリド、及び C 反応性蛋白の増加が認められた。

11 及び 33 mg/kg の生存例では、死亡瀕死例に類似の病理組織学的所見が皮膚、食道、膣、乳腺（雌雄）、及び前立腺に認められた。また、角膜びらんが 33 mg/kg で認められた。

以上の結果より、11 mg/kg 以上の群の皮膚、食道、膣、及び乳腺、33 mg/kg 以上の群の角膜及び前立腺、89 mg/kg の肝臓、消化管、骨髄、心臓、腎臓、及び卵巣で認められた病理組織学的所見は、投薬起因性の毒性変化と判断した。したがって、MAAP-9002b の HNSTD は 11 mg/kg 未満と判断した。

## 9.　考察及び結論

ラット（0、20、60、及び 200 mg/kg）及びカニクイザル（0、10、30、及び 80 mg/kg）に Dato-DXd を 3 ヵ月間間歇静脈内投与（1 回／3 週）し、2 ヵ月間の回復期間を設けた毒性試験では、いずれの用量でも死亡又は瀕死はなかった。ラットでは 200 mg/kg まで、カニクイザルでは 10 mg/kg まで Dato-DXd に対する良好な忍容性が示された。ラット及びカニクイザルで共通した Dato-DXd による毒性の標的臓器は、消化管、肺、胸腺、皮膚、及び腎臓であった。その他の Dato-DXd による毒性の標的臓器は、カニクイザルでは角膜、肝臓、及び股関節軟骨、ラットではリンパ造血器（脾臓及び骨髄）、生殖器、及び切歯であった。

ラット（0、3、10、及び 30 mg/kg）及びカニクイザル（0、1、3、及び 12 mg/kg）に DXd（一水和物）を 4 週間間歇静脈内投与（1 回／週）した結果、共通した DXd による毒性の標的臓器は、消化管、リンパ造血器、及び角膜であった。その他、カニクイザルでは致死量（12 mg/kg）で心臓及び肝臓に病理組織学的変化が観察された。

Dato-DXd の毒性試験の総括を、以下に記載する。

### 9.1　標的臓器及び組織

#### 9.1.1　肺毒性

Dato-DXd に関連した最も重要な変化は、30 mg/kg 以上を投与したカニクイザルでみられた重度肺障害であった。病理組織学的検査では、肺胞における水腫及び出血、泡沫状肺胞マクロファージの集簇、並びに肺胞及び間質における炎症が観察された。胸部 CT 検査では肺の浸潤影、血液化学的検査では血清 SP-D の増加、血液ガス分析では酸素分圧及びヘモグロビン酸素飽和度の減少が 30 mg/kg 以上で認められた。ラットでも 200 mg/kg の Dato-DXd 投与によって肺胞の出血、好中球浸潤、肺胞上皮の再生、及び泡沫状肺胞マクロファージの集簇といった非重篤な肺毒性所見が認められた。一方、DXd（一水和物）を投与したラットでは 30 mg/kg まで、カニクイザルでは 12 mg/kg まで肺毒性はなかった。ヒト肺における TROP2 発現が報告されている[2]が、Dato-DXd による肺毒性の詳細な機序は未だ不明である。

### 9.1.2　角膜毒性

Dato-DXd の 30 mg/kg 以上を投与したカニクイザルでは、眼科学的検査で角膜色素沈着、病理組織学的検査で角膜上皮の単細胞壊死及び褐色色素沈着が認められた。80 mg/kg では角膜上皮の萎縮が認められた。2 ヵ月間の回復期間後、角膜上皮の色素沈着を除き、角膜所見の可逆性が示された。このことから、投与期間中に角膜上皮のターンオーバーが一過性に障害された結果、カニクイザルで角膜病変が誘発されたと考えられ、角膜上皮幹細胞への明らかな影響は示唆されなかった。DXd（一水和物）を投与したラットでは 3 mg/kg 以上、カニクイザルでは 12 mg/kg で角膜上皮の単細胞壊死が認められた。したがって、Dato-DXd 及び DXd（一水和物）による角膜毒性は、DXd の細胞傷害機序によると考えられた。カニクイザルの角膜上皮は、TROP2 を発現することが報告されている [2]。一般的に、血液―房水関門が ADC を含む薬物の分布を阻害する [3] ため、Dato-DXd 投与カニクイザルの角膜毒性で、TROP2 を介した分布が関与したかは不明である。TROP2 の遺伝子変異によって、ヒトでは膠様滴状角膜ジストロフィー（gelatinous drop-like corneal dystrophy: GDLD）が起こる [4]。本疾患の特徴的所見は、角膜上皮の基底膜へのアミロイド沈着であり、タイトジャンクション形成不全によって、糖タンパク質が基底膜に浸透することで生じると考えられている [4,5]。Dato-DXd 投与カニクイザルでは GDLD の特徴的な所見がなかったため、カニクイザルの角膜病変とヒト GDLD との関連性は低いと考えられた。

### 9.1.3　皮膚毒性

ラットでは Dato-DXd の 200 mg/kg で脱毛、カニクイザルでは Dato-DXd の 30 mg/kg 以上で皮膚色異常、表皮剥離、びらん、及び痂皮といった非重篤な皮膚毒性が認められた。病理組織学的検査では、ラットでは表皮の壊死及び毛包の単細胞壊死、カニクイザルでは表皮の色素沈着、線維化、表皮及び真皮における細胞浸潤、痂疲、並びにびらんが認められた。回復期間後、30 mg/kg 以上のカニクイザルでみられた表皮の褐色色素沈着を除き、ラット、カニクイザルともに皮膚所見の可逆性が示された。ヒト表皮では TROP2 の発現が報告されている [2] が、Dato-DXd の非交差種であるラットでも類似の皮膚病変がみられたことから、皮膚毒性に対する TROP2 の関与は不明である。なお、DXd（一水和物）を投与したラットでは 30 mg/kg まで、カニクイザルでは 12 mg/kg まで明らかな皮膚毒性は認められなかった。

### 9.1.4　肝毒性

Dato-DXd の 30 mg/kg を投与したカニクイザルで、肝細胞の単細胞壊死が認められた。DXd（一水和物）の 12 mg/kg を投与したカニクイザルで、肝逸脱酵素パラメータの高値を伴う肝細胞の単細胞壊死、限局性壊死、細胞分裂の増加、毛細胆管の拡張及び胆汁栓子、並びにクッパー細胞の褐色色素沈着が認められた。一方、ラットでは Dato-DXd の 200 mg/kg、DXd（一水和物）の 30 mg/kg まで、明らかな肝毒性はなかった。免疫組織化学的には、肝細胞における TROP2 発現が報告されておらず [2]、Dato-DXd 投与カニクイザルで

みられた肝細胞所見に対する TROP2 の関与は低いと考えられた。

### 9.1.5　口内炎、粘膜炎症

MAAP-9002b のカニクイザルを用いた 2 週間間歇静脈内投与毒性試験（GLP 非適用、1 回／1 週、計 2 回、11、33、89 mg/kg）では、11 mg/kg 以上で食道の粘膜壊死及び細胞浸潤が認められた。Dato-DXd の 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験では、ラットで 200 mg/kg まで、サルで 80 mg/kg まで、DXd（一水和物）の 4 週間間歇静脈内投与毒性試験では、ラットで 30 mg/kg まで、サルで 12 mg/kg まで同様の所見はなかった。ヒト食道の重層扁平上皮は TROP2 を発現する[2]ため、MAAP-9002b を投与したカニクイザルの食道でみられた所見は、TROP2 を介した変化の可能性がある。Dato-DXd 投与カニクイザルで同様の粘膜障害がなかった要因として、Dato-DXd 及び MAAP-9002b の DAR 及び投与間隔の違いが考えられた。

### 9.1.6　消化管毒性

Dato-DXd のカニクイザルを用いた 6 週間間歇静脈内投与毒性試験（GLP 非適用、1 回／3 週、計 3 回、10 及び 30 mg/kg）では、30 mg/kg で嘔吐、流涎、軟便、及び粘液便が認められた。Dato-DXd の 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験では、ラットで 60 mg/kg 以上、カニクイザルで 10 mg/kg 以上で、腸管陰窩上皮の単細胞壊死が認められた。回復期間後、ラット、カニクイザルともに消化管所見の可逆性が示された。同様の消化管毒性は、ラット及びカニクイザルを用いた DXd（一水和物）の毒性試験でも認められた。消化管毒性はヒトでのトポイソメラーゼ I 阻害剤の典型的な用量制限毒性である。したがって、消化管毒性は DXd の細胞毒性作用に起因するものであり、血中の遊離 DXd がある程度関与すると考えられた。

### 9.1.7　リンパ造血器毒性

リンパ系組織の毒性として、ラットでは Dato-DXd の 20 mg/kg 以上で胸腺の可染小体マクロファージの増加、200 mg/kg で胸腺皮質及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘の萎縮が認められた。カニクイザルでは Dato-DXd の 30 mg/kg 以上で胸腺の萎縮が認められた。造血器毒性として、ラットでは Dato-DXd の 200 mg/kg で網状赤血球数、白血球数、好中球数、及びリンパ球数の減少が認められた。カニクイザルでは Dato-DXd の 10 mg/kg で投与 4 及び 5 回目以降、血小板数の減少が認められた。10 mg/kg で血小板数減少を示したカニクイザルは ADA 陽性で、反復投与後、初回投与時と比較して血漿 Dato-DXd 濃度の低値、血漿 DXd 濃度の高値が認められた。この血漿 DXd 濃度の高値が、用量相関性のない血小板数減少に関連した可能性がある。さらに、80 mg/kg では赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値の減少、網状赤血球比率の増加が認められた。回復期間後、ラット及びカニクイザルのリンパ造血器毒性は可逆性を示した。DXd（一水和物）を投与したラット及びカニクイザルでも、リンパ造血器毒性が認められた。したがって、リンパ造血器毒性は DXd の細胞

毒性作用に起因するものであり、血中の遊離 DXd がある程度関与すると考えられた。実際、トポイソメラーゼ I 阻害剤を含む細胞障害性抗がん剤による骨髄毒性は、ヒトにおける典型的な用量制限毒性である。

### 9.1.8　腎毒性

60 mg/kg 以上の Dato-DXd を投与したラットで、軽度の尿細管の変化が認められた。200 mg/kg では糸球体病変として足細胞の変性も認められた。Dato-DXd の 80 mg/kg を投与したカニクイザルでも、軽度の尿細管の変化（近位尿細管の核の大小不同）が認められた。尿検査において、ラットでは 200 mg/kg でタンパク尿、カニクイザルでは 30 mg/kg 以上で尿 pH の低下及びケトン体の増加が認められた。血液化学的検査において、ラットでは 200 mg/kg でアルブミン及びアルブミン／グロブリン比の減少、尿素窒素の増加が認められた。回復期間終了後、ラット及びカニクイザルの腎毒性の可逆性が示された。DXd（一水和物）を投与したラットでは 30 mg/kg まで、カニクイザルでは 12 mg/kg まで明らかな腎毒性はなかった。免疫組織化学的に、近位尿細管での TROP2 発現が報告されていない[2]ことから、カニクイザルの尿細管の変化は、Dato-DXd のオフターゲット作用によると考えられた。

### 9.1.9　生殖器毒性

200 mg/kg の Dato-DXd を投与したラットで、精巣の精上皮変性及び精細管萎縮、精巣上体の細胞残渣、精子数減少、並びに精巣上体の管腔上皮の単細胞壊死が認められた。回復期間終了後も 200 mg/kg で精細管萎縮が認められ、明らかな可逆性は示されなかった。また、200 mg/kg の Dato-DXd を投与したラットで、卵巣の閉鎖卵胞数増加、膣の粘膜上皮の単細胞壊死が認められた。これら変化では可逆性が示唆された。カニクイザルでは Dato-DXd の 80 mg/kg まで、生殖器に明らかな変化はなかった。DXd（一水和物）の 4 週間間歇静脈内投与毒性試験では、ラットでは 30 mg/kg まで、カニクイザルでは 12 mg/kg まで同様の所見はなかった。

### 9.1.10　心毒性

ラットでは 200 mg/kg まで、カニクイザルでは 80 mg/kg まで、Dato-DXd による心毒性はなかった。一方、DXd の 12 mg/kg が投与され、瀕死剖検されたカニクイザルの 1 例では、心筋の変性及び壊死が認められた。DXd（一水和物）の 4 週間間歇静脈内投与毒性試験では、ラットで 30 mg/kg まで同所見はなかった。Dato-DXd の 80 mg/kg を投与したカニクイザルでの DXd の平均最高血漿中濃度（maximum plasma concentration: Cmax）は 1.51～1.61 ng/mL、投与 21 日後までの平均血漿中濃度時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to 21 days : AUC21d）は 10.9～11.3 ng·d/mL（初回及び 4 回目投与）であった。DXd の 12 mg/kg で心毒性を示したカニクイザルの初期血漿中濃度（C0）は 40,500 ng/mL、投与 1 日後までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma

concentration-time curve up to 1 day: AUC1d）は 346 ng·d/mL（DXd として計算）であった。したがって、DXd の 12 mg/kg で心毒性を示したカニクイザルでは、最高用量（80 mg/kg）の Dato-DXd が投与されたカニクイザルと比べて、Cmax 換算で約 25,000 倍、AUC 換算で約 31 倍もの高い DXd に曝露されたことになる。安全性薬理試験では、Dato-DXd を単回静脈内投与したテレメトリ―システムを装着したカニクイザルで、80 mg/kg まで心血管パラメータ（心電図、心拍数、及び血圧）に影響はなかった。さらに、DXd は 10 μmol/L（約 5000 ng/mL）まで human ether-à-go-go-related gene（hERG）チャネル電流に対して阻害作用を示さなかった。以上のことから、Dato-DXd がヒトで心毒性を誘発する可能性は低いと考えられた。

### 9.1.11 切歯毒性

Dato-DXd の 60 mg/kg 以上を投与したラットでは、切歯の変化（破折、白色化、及び過成長）が認められた。病理組織学的検査では、60 mg/kg 以上でエナメル芽細胞の壊死、200 mg/kg で象牙質形成異常、エナメル器の単細胞壊死、及び歯根における出血及び壊死が認められた。ラット切歯は生涯伸び続ける常生歯のため、本変化はげっ歯類特有と考えられ、ヒトへの外挿性は低いと考えられた。

## 9.2 遺伝毒性

DXd の in vitro 遺伝毒性試験では、細菌では遺伝子突然変異誘発性が示されなかったが、哺乳類培養細胞では染色体の構造異常が誘発された。雄ラットを用いた in vivo 骨髄小核試験では、DXd（一水和物）の 0.05 mg/kg（DXd として計算）以上の単回静脈内投与によって小核誘発性も示された。DXd（一水和物）の 3 mg/kg を雄性ラットに単回静脈内投与した際の AUC1d は、27.8 ng·d/mL であった。DXd（一水和物）を単回静脈内投与したラットの薬物動態が線形と仮定した場合、0.05 mg/kg の AUC1d は約 0.5 ng·d/mL となる。臨床試験（TROPION-PanTumor01: TP01）では、6 mg/kg の Dato-DXd が投与された非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer: NSCLC）被験者での DXd の投与間隔ごとの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUCtau）は 19.2 ng·d/mL であった。したがって、6 mg/kg の Dato-DXd が投与されたヒトでの血漿 DXd 濃度は、ラット骨髄で小核が誘発された曝露レベルよりも高く、Dato-DXd の遺伝毒性による二次発がんの可能性は否定できない。

## 9.3 胚及び胎児発生毒性

Dato-DXd の生殖発生毒性試験は実施されていない。

胚発生及び妊娠における TROP2 の役割を評価するため、文献調査を行った。角膜毒性（9.1.2 項）で触れたとおり、TROP2 遺伝子は GDLD の原因遺伝子として同定されている[4]。TROP2 遺伝子の機能喪失は、角膜におけるタイトジャンクション関連タンパク質の発現低下及び細胞内局在の変化をもたらす[6]。ヒトでは、他の先天性異常は特定されていない。TROP2 ノックアウトマウスは生存可能かつ生殖能力を有し、明らかな発育障害もないこと

から、TROP2 はマウスの胚発生及び生殖能力に必須ではないと考えられる[7]。TROP2 の相同タンパク質である上皮細胞接着分子（epithelial cell adhesion molecule: EpCAM）を発現しない角膜上皮を除き、TROP2 の機能喪失は EpCAM によって代償される可能性があり[8,9]、ヒトにおける胚発生及び妊娠における TROP2 の役割は低いと考えられた。

ICH S9 では、遺伝毒性があり、細胞分裂の盛んな細胞を標的とする抗がん剤、又は生殖発生毒性を誘発することが十分に示されている薬剤群に属する医薬品について、胚及び胎児発生に関する試験は必須ではないとされている。Dato-DXd 又は DXd のラット及びサルを用いた毒性試験では、細胞分裂の盛んな細胞（リンパ造血器、消化管、及び精巣）に対する毒性作用が示された。さらに、DXd は哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験及びラット in vivo 小核試験で遺伝毒性を示した。以上の DXd の特性から、Dato-DXd が妊婦に投与された場合、胎児に悪影響を及ぼす可能性がある。

## 9.4　光毒性

DXd の in vitro 3T3 NRU 試験では、光毒性に対する潜在的なリスクが示唆された。しかし、有色ラットを用いた DXd の単回投与光毒性試験では、最高用量である 3 mg/kg まで光毒性はなかった。3 mg/kg を投与したラットでの血漿中 DXd 濃度は 90.5 ng/mL であり、臨床試験（TP01）で 6 mg/kg の Dato-DXd が投与された NSCLC 被験者での Cmax（3.13 ng/mL、初回投与）と比較して 29 倍高かった。以上のことから、Dato-DXd 投与に伴うヒト光毒性リスクは限定的と考えられる。

## 9.5　注入に伴う反応（IRR）

Dato-DXd の IRR リスクは、ヒト PBMC を用いた in vitro CRA（固相法）及びヒト全血を用いた in vitro CRA（液相法）の結果からは低いと考えられた。

## 9.6　安全域

ラット及びカニクイザルを用いた Dato-DXd の 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験での TK パラメータ、さらに臨床試験（TP01）の 6 mg/kg（1 回／3 週）の NSCLC 被験者 50 名における薬物動態パラメータに対する各用量の曝露マージン（margin of exposure: MoE）を表 2.6.6.9-1 に示す。

6 mg/kg 投与時の被験者と比べて、20 mg/kg 以上の Dato-DXd を投与したラットの血漿中 Dato-DXd 濃度（C0 及び AUC）は高値であった。一方、200 mg/kg の Dato-DXd を投与したラットの血漿中 DXd 濃度（Cmax 及び AUC）は低値であった。カニクイザルでは、重篤な毒性用量である 30 mg/kg 以上の Dato-DXd を投与した際の血漿中 Dato-DXd 濃度（C0 及び AUC）は、6 mg/kg 投与時の被験者と比べて 3 倍以上高値であった。一方、10 mg/kg の Dato-DXd を投与したカニクイザルの血漿中 Dato-DXd 濃度（C0 及び AUC）は、初回投与後は 6 mg/kg の被験者とほぼ同等であり、反復投与後は ADA 産生によって被験者より低くなった。カニクイザルの血漿中 DXd 濃度（Cmax 及び AUC）は、全評価用量で 6 mg/kg の被

験者と同等か低値であった。

表 2.6.6.9-1　ラット及びカニクイザルの 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験の平均トキシコキネティクスパラメータ及び曝露マージン

| | ラット | | | カニクイザル | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 用量 (mg/kg) | 20 | 60 | 200 | 10 | 30 | 80 |
| 動物数 | 雄 4, 雌 4 | 雄 4, 雌 4 | 雄 4, 雌 4 | 雄 3, 雌 3 | 雄 5, 雌 5 | 雄 5, 雌 5 |
| Dato-DXd, C0 (μg/mL) | | | | | | |
| 初回投与 | 452 | 1600 | 4720 | 216 | 610 | 1550 |
| **MoE** * | **3.1** | **11** | **32** | **1.5** | **4.1** | **10** |
| 4 回目投与 | 658 | 2270 | 6170 [a] | 125 | 645 | 1710 |
| **MoE** ** | **4.1** | **14** | **39** | **0.78** | **4.0** | **11** |
| Dato-DXd, AUC21d (μg･d/mL) | | | | | | |
| 初回投与 | 1890 | 6130 | 18700 | 665 | 2540 | 7450 |
| **MoE** * | **2.8** | **9.1** | **28** | **0.98** | **3.8** | **11** |
| 4 回目投与 | 2580 | 8740 | 25100 [a] | 217 | 2520 | 8610 |
| **MoE** ** | **3.0** | **10** | **29** | **0.25** | **2.9** | **10** |
| DXd, Cmax (ng/mL) | | | | | | |
| 初回投与 | 0.146 | 0.434 | 1.96 | 0.192 | 0.511 | 1.51 |
| **MoE** * | **0.047** | **0.14** | **0.63** | **0.061** | **0.16** | **0.48** |
| 4 回目投与 | 0.302 | 0.992 | 3.71 [a] | 5.43 | 0.68 | 1.6 |
| **MoE** ** | **0.11** | **0.38** | **1.4** | **2.1** | **0.26** | **0.61** |
| DXd, AUC21d (ng･d/mL) | | | | | | |
| 初回投与 | 0.577 | 3.22 | 9.83 | 0.922 | 4.25 | 11.3 |
| **MoE** * | **0.030** | **0.17** | **0.51** | **0.046** | **0.22** | **0.59** |
| 4 回目投与 | 1.61 | 5.12 | 16.9 [a] | 16.4 | 4.53 | 10.8 |
| **MoE** ** | **0.084** | **0.27** | **0.88** | **0.85** | **0.24** | **0.56** |

AUC21d = area under the plasma concentration-time curve up to 21 days; AUCtau = area under the plasma concentration-time curve during dosing interval; C0 = initial plasma concentration; Cmax = maximum plasma concentration; MoE = margin of exposure; NSCLC = non-small cell lung cancer

[a] 雌 3 例の平均値（投与 64 日目に TK 群の雌 1 例が死亡したため）

* ラット及びカニクイザルの各用量と NSCLC 被験者の 6 mg/kg（初回投与、TP01 試験）での MoE
- Dato-DXd: Cmax 148 μg/mL, AUCtau 677 μg･d/mL
- DXd: Cmax 3.13 ng/mL, AUCtau 19.2 ng･d/mL

**ラット及びカニクイザルの各用量と NSCLC 被験者の 6 mg/kg（反復投与［3 回目投与］、TP01 試験）での MoE
- Dato-DXd: Cmax 160 μg/mL, AUCtau 861 μg･d/mL
- DXd: Cmax 2.63 ng/mL, AUCtau 19.2 ng･d/mL

ラット及びカニクイザルにおける毒性の標的臓器ごとの無毒性量（no-observed-adverse-effect level: NOAEL）と NSCLC 被験者（TP01 試験）における 6 mg/kg（反復投与［3 回目投与］）の MoE（AUC 比）を表 2.6.6.9-2 に示す。ラットの肺、角膜、皮膚、肝、造血器、腎、及び生殖器毒性に対する血漿中 Dato-DXd 濃度の MoE は、総じて 1 より大であった。ラットでは、20 mg/kg 以上で軽度なリンパ系（胸腺）毒性が認められ、血漿中 Dato-DXd 濃度の MoE は 1 未満であった。血漿中 DXd 濃度は、ラットの 200 mg/kg よりもヒトの 6 mg/kg で高値傾向であった。なお、ラットでみられた所見は精巣毒性を除いて、いずれも軽度かつ可逆的であった。

カニクイザルでは、10 mg/kg 以上で軽度の消化管毒性が認められ、血漿中 Dato-DXd 濃度の MoE は 1 未満であった。カニクイザルにおける肺、角膜、皮膚、肝、及びリンパ系（胸腺）毒性に対する NOAEL は 10 mg/kg と判断された。3 ヵ月間の間歇投与期間終了時、10 mg/kg では 6 例中 5 例のカニクイザルが ADA 陽性を示し、初回投与時と比較して、4 回

目投与時に血漿中 Dato-DXd 濃度の低下が認められた。そのため、10 mg/kg でみられた毒性に関する血漿中 Dato-DXd 濃度に基づいた MoE は、正確には算出できなかった。Dato-DXd の臨床試験では、間質性肺疾患及び眼表面毒性について注意深く評価されている。なお、腎毒性に対する MoE は、カニクイザルでも 1 より大であった。カニクイザルでは、反復投与後の血漿中 DXd 濃度は、30 mg/kg 以上よりも 10 mg/kg で高く、ADA の関与が示唆された。カニクイザルの血漿 DXd 濃度に対する MoE は、消化管毒性を除き、1 程度であった。

以上より、毒性の標的臓器ごとの MoE、並びに各所見の重篤度及び可逆性から、Dato-DXd の非臨床安全性成績は、進行がんに対する Dato-DXd の臨床での応用を支持するものと考えられた。

表 2.6.6.9-2　ラット及びカニクイザルの 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験での毒性の標的臓器ごとの曝露マージン

| 毒性の標的臓器 | ラット<br>用量: 20、60、200 mg/kg | カニクイザル<br>用量: 10、30、80 mg/kg |
|---|---|---|
| 肺 | 200 mg/kg: 肺胞上皮再生、肺胞における好中球浸潤（NOAEL: 60 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 10<br>・MoE of DXd: 0.27 | ≥30 mg/kg: 間質性肺炎（NOAEL: 10 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 0.25<br>・MoE of DXd: 0.85 |
| 角膜 | 著変なし（NOAEL: 200 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 29<br>・MoE of DXd: 0.88 | ≥30 mg/kg: 角膜上皮の単細胞壊死及び色素沈着（NOAEL: 10 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 0.25<br>・MoE of DXd: 0.85 |
| 皮膚 | 200 mg/kg: 表皮壊死及び脱毛等（NOAEL: 60 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 10<br>・MoE of DXd: 0.27 | ≥30 mg/kg: 色素沈着、びらん、炎症等（NOAEL: 10 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 0.25<br>・MoE of DXd: 0.85 |
| 肝臓 | 著変なし（NOAEL: 200 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 29<br>・MoE of DXd: 0.88 | ≥30 mg/kg: 肝細胞の単細胞壊死（NOAEL: 10 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 0.25<br>・MoE of DXd: 0.85 |
| 消化管 | ≥60 mg/kg: 腸陰窩上皮の単細胞壊死（NOAEL: 20 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 3.0<br>・MoE of DXd: 0.084 | ≥10 mg/kg: 腸陰窩上皮の単細胞壊死<br>・MoE of Dato-DXd: ND (<0.25)<br>・MoE of DXd: ND (<0.85) |
| リンパ系組織 | ≥20 mg/kg: 胸腺の可染小体マクロファージ増加<br>・MoE of Dato-DXd: ND (<3.0)<br>・MoE of DXd: ND (<0.084) | ≥30 mg/kg: 胸腺の萎縮（NOAEL: 10 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 0.25<br>・MoE of DXd: 0.85 |
| 造血器 | 200 mg/kg: 網状赤血球及び白血球数減少（NOAEL: 60 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 10<br>・MoE of DXd: 0.27 | 80 mg/kg: 赤血球系パラメータ及び血小板数減少（NOAEL: 30 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 2.9<br>・MoE of DXd: 0.24 |
| 腎臓 | ≥60 mg/kg: 尿円柱及び尿細管再生（NOAEL: 20 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 3.0<br>・MoE of DXd: 0.084 | 80 mg/kg: 近位尿細管の核の大小不同（NOAEL: 30 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 2.9<br>・MoE of DXd: 0.24 |
| 雄性生殖器 | 200 mg/kg: 精細管委縮（NOAEL: 60 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 12*<br>・MoE of DXd: 0.31* | 著変なし（NOAEL: 80 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 10*<br>・MoE of DXd: 0.56* |
| 雌性生殖器 | 200 mg/kg: 卵巣の閉鎖卵胞数増加、膣の粘膜上皮の単細胞壊死（NOAEL: 60 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 8.5*<br>・MoE of DXd: 0.22* | 著変なし（NOAEL: 80 mg/kg）<br>・MoE of Dato-DXd: 10*<br>・MoE of DXd: 0.57* |

AUC = area under the plasma concentration-time curve; MoE = margin of exposure; ND = not determined; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; NSCLC = non-small cell lung cancer

MoE は、ラット及びカニクイザルの毒性の標的臓器ごとの NOAEL（4 回目投与）と NSCLC 被験者の 6 mg/kg（3 回目投与、TP01 試験）での AUC 比である。

* 雄性又は雌性動物での MoE

## 10. 参考文献

1. Chung CH. Managing premedications and the risk for reactions to infusional monoclonal antibody therapy. Oncologist. 2008;13(6):725-32.
2. Stepan LP, Trueblood ES, Hale K, et al. Expression of Trop2 Cell Surface Glycoprotein in Normal and Tumor Tissues: Potential Implications as a Cancer Therapeutic Target. J Histochem Cytochem. 2011;59(7):701-10.
3. Varela-Fernández R, Díaz-Tomé V, Luaces-Rodríguez A, et al. Drug Delivery to the Posterior Segment of the Eye: Biopharmaceutic and Pharmacokinetic Considerations. Pharmaceutics. 2020;12(3):269.
4. Lenárt S, Lenárt P, Šmarda J, et al. Trop2: Jack of All Trades, Master of None. Cancers (Basel). 2020;12(11):3328.
5. Takaoka M, Nakamura T, Ban Y, et al. Phenotypic Investigation of Cell Junction-Related Proteins in Gelatinous Drop-Like Corneal Dystrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007;48(3):1095-101.
6. Nakatsukasa M, Kawasaki S, Yamasaki K, et al. Tumor-associated calcium signal transducer 2 is required for the proper subcellular localization of claudin 1 and 7: implications in the pathogenesis of gelatinous drop-like corneal dystrophy. Am J Pathol. 2010;177(3):1344-55.
7. Wang J, Zhang K, Grabowska D, et al. Loss of Trop2 promotes carcinogenesis and features of epithelial to mesenchymal transition in squamous cell carcinoma. Mol Cancer Res. 2011;9(12):1686-95.
8. Xu P, Kai C, Kawasaki S, et al. A New in Vitro Model of GDLD by Knocking Out TACSTD2 and Its Paralogous Gene EpCAM in Human Corneal Epithelial Cells. Transl Vis Sci Technol. 2018;7(6):30.
9. Szabo R, Ward JM, Artunc F, et al. EPCAM and TROP2 share role in claudin stabilization and development of intestinal and extraintestinal epithelia in mice. Biol Open. 2022;11(7):bio.059403.

# 目次

1. 毒性試験：一覧表 ....2
2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 ....6
3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 ....7
4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 ....10
5. 単回投与毒性試験 ....14
6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 ....15
7. 反復投与毒性試験：重要な試験 ....16
7.1 Dato-DXd のラット 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験 ....16
7.2 Dato-DXd のカニクイザル 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験 ....34
8. In Vitro 遺伝毒性試験 ....63
8.1 DXd（一水和物）の細菌を用いた復帰突然変異試験 ....63
8.2 DXd（一水和物）の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験 ....66
9. In Vivo 遺伝毒性試験 ....68
9.1 DXd（一水和物）静脈内投与後のラットの骨髄を用いた小核試験 ....68
10. がん原性試験 ....69
11. 生殖発生毒性試験 ....69
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 ....69
13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 ....69
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 ....69
15. 局所刺激性試験 ....69
16. その他の毒性試験 ....70
16.1 組織交差反応性試験 ....70
16.2 DXd（一水和物）のラット 4 週間間歇静脈内投与毒性試験 ....72
16.3 DXd（一水和物）のカニクイザル 4 週間間歇静脈内投与毒性試験 ....79
16.4 DXd（一水和物）の光毒性試験 ....86
16.5 In Vitro サイトカイン放出試験 ....87
16.6 MAAP-9002b のサル 2 週間間歇静脈内投与毒性試験 ....88

## 1.　毒性試験：一覧表（1/4）

| Type of Study | Species and Strain | Test Article | Method of Administration | Duration of Dosing | Dose (mg/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Attachment Number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Repeat-Dose Toxicity | Rats/ Crl:CD(SD) | Dato-DXd[a] | Intravenous | Q3W, 3 months | 0, 20, 60, 200 [b] | Yes | [redacted], Daiichi Sankyo Co., Ltd. Japan | 4.2.3.2-1 | 4.2.3.2 |
| | Cynomolgus monkeys | Dato-DXd[a] | Intravenous | Q3W, 6 weeks | 10, 30 | No | [redacted], Daiichi Sankyo Co., Ltd. Japan | 4.2.3.2-2 | 4.2.3.2 |
| | Cynomolgus monkeys | Dato-DXd[a] | Intravenous | Q3W, 3 months | 0, 10, 30, 80 | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.2-3 | 4.2.3.2 |

Q3W, every 3 weeks.
The underlined doses in the repeated dose toxicity studies are the highest non-severely toxic dose.
[a] Dato-DXd was referred to DS-1062a in the reports.
[b] The highest dose was less than the severely toxic dose in 10% of the animals.

## 1.　毒性試験：一覧表（2/4）

| Type of Study | Species and Strain | Test Article | Method of Administration | Duration of Dosing | Dose (mg/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Attachment Number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity: Bacterial Reverse Mutation of DXd Monohydrate[a] | *S. typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537); *E. coli* (WP2*uvrA*) | DXd | In vitro | - | Initial: 1.5 to 5000 µg/plate Confirmatory: 313 to 5000 µg/plate | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.3.1-1 | 4.2.3.3.1 |
| Genotoxicity: Chromosome Aberration of DXd Monohydrate[a] | CHL/IU cells | DXd | In vitro | - | 0.0125 to 3 µg/mL | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.3.1-2 | 4.2.3.3.1 |
| Genotoxicity: Bone Marrow Micronucleus of DXd Monohydrate[a] | Rats/ Crl:CD(SD) | DXd | Intravenous | Single | 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.3.2-1 | 4.2.3.3.2 |

[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.

## 1.　毒性試験：一覧表（3/4）

| Type of Study | Species and Strain | Test Article | Method of Administration | Duration of Dosing | Dose (mg/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Attachment Number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Other Toxicity Studies: Tissue Cross Reactivity Study | Human tissues | Dato-DXd[a] | In vitro | - | - | Yes | [redacted] USA | 4.2.3.7.7-1 | 4.2.3.7.7 |
| | Cynomolgus monkey tissues | Dato-DXd[a] | In vitro | - | - | Yes | [redacted] USA | 4.2.3.7.7-2 | 4.2.3.7.7 |
| Other Toxicity Studies: Toxicity of DXd Monohydrate[b] | Rats/ Crl:CD(SD) | DXd | Intravenous | QW, 4 weeks | 3, 10, 30[c] | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.7.7-3 | 4.2.3.7.7 |
| | Cynomolgus monkeys | DXd | Intravenous | QW, 4 weeks | 1, 3, 12 | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.7.7-4 | 4.2.3.7.7 |

QW, every week.
The underlined dose in the repeated dose toxicity study is the highest non-severely toxic dose.
[a] Dato-DXd was referred to DS-1062a in the reports.
[b] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[c] The highest dose was less than the severely toxic dose in 10% of the animals.

## 1.　毒性試験：一覧表（4/4）

| Type of Study | Species and Strain | Test Article | Method of Administration | Duration of Dosing | Dose (mg/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Attachment Number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Other Toxicity Studies: Phototoxicity of DXd Monohydrate[a] | Balb/c 3T3 cells | DXd | In vitro | - | 0.195 to 25 µg/mL | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.7.7-5 | 4.2.3.7.7 |
| | Rats/ Iar:Long-Evans | DXd | Intravenous | Single | 1, 3 | Yes | [redacted] Japan | 4.2.3.7.7-6 | 4.2.3.7.7 |
| Other Toxicity Studies: Cytokine Release Assays | Human PBMCs | Dato-DXd, Dato[b] | In vitro (plate-bound format) | - | 0.15 to 150 µg/mL | No | [redacted] Daiichi Sankyo Co., Ltd. Japan | 4.2.3.7.7-7 | 4.2.3.7.7 |
| | Human whole blood | Dato-DXd, Dato[b] | In vitro (soluble format) | - | 0.15 to 150 µg/mL | No | [redacted] Daiichi Sankyo Co., Ltd. Japan | 4.2.3.7.7-8 | 4.2.3.7.7 |
| Other toxicity studies: toxicity of MAAP-9002b[c] | Cynomolgus monkey | MAAP-9002b | Intravenous | QW, 2 weeks | 11, 33, 89 | No | [redacted] Japan | 4.2.3.7.7-9 | 4.2.3.7.7 |

QW, every week.
[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] Dato was referred to MAAP 9001a (antibody component of Dato-DXd, datopotamab) in the reports.
[c] The ADC that comprised the same antibody, linker, and drug as those of Dato-DXd.　The average drug antibody ratio (DAR) of MAAP-9002b was approximately 7 and different from that of Dato-DXd.

## 2.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | **Test Article: Dato-DXd, DXd** |
| **Type of Study** | **Test System** | **Method of Administration** | **Duration (Recovery Period)** | **Dose (mg/kg)** | **GLP Compliance** | **Attachment Number** | **Location in CTD** |
| Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose | Rats/ Crl:CD(SD) | Intravenous | Q3W, 3 months (2 months) | 20, 60, 200 | Yes | 4.2.3.2-1 | 4.2.3.2 |
| Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose | Cynomolgus monkeys | Intravenous | Q3W, 6 weeks (6 Weeks) | 10, 30 | No | 4.2.3.2-2 | 4.2.3.2 |
| Repeat-Dose Toxicity: Intermittent Dose | Cynomolgus monkeys | Intravenous | Q3W, 3 months (2 months) | 10, 30, 80 | Yes | 4.2.3.2-3 | 4.2.3.2 |
| Other Toxicity Studies: Toxicity of DXd Monohydrate[a] | Rats/ Crl:CD(SD) | Intravenous | QW, 4 weeks | 3, 10, 30 | Yes | 4.2.3.7.7-3 | 4.2.3.7.7 |
| Other Toxicity Studies: Toxicity of DXd Monohydrate[a] | Cynomolgus monkeys | Intravenous | QW, 4 Weeks– | 1, 3, 12 | Yes | 4.2.3.7.7-4 | 4.2.3.7.7 |
| Other Toxicity Studies: Phototoxicity of DXd Monohydrate[a, b] | Rats/ Iar:Long-Evans | Intravenous | Single | 1, 3 | Yes | 4.2.3.7.7-6 | 4.2.3.7.7 |

QW, every week; Q3W, every 3 weeks.
[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.
[b] To confirm systemic exposures to DXd, sampling and TK measurement was done only at 0.5 hours after administration.

## 3.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（1/3）

| Test Article: Dato-DXd | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AUC21d (μg·d/mL) | | | | | | | | |
| **Species** | | **Rats in the 4th dose[a]** | | **Monkeys in the 2nd dose[b]** | | **Monkeys in the 4th dose[c]** | | **Humans[d] (Cycle 3)** |
| **Dose (mg/kg)** | | **Male** | **Female** | **Male** | **Female** | **Male** | **Female** | |
| **Dato-DXd** | 6.0 | | | | | | | 861 |
| | 10 | | | | | 396 | 38.4 | |
| | 20 | 2720 | 2430 | | | | | |
| | 30 | | | | | 2490 | 2550 | |
| | 60 | 10,200 | 7290 | | | | | |
| | 80 | | | | | 8850 | 8370 | |
| | 200 | 28,400 | 20,600 | | | | | |
| **Total Anti-TROP2 Antibody** | 6.0 | | | | | | | 928 |
| | 10 | | | 58.4 | 338 | 425 | 42.6 | |
| | 20 | 3230 | 2920 | | | | | |
| | 30 | | | 3130 | 2010 | 2700 | 2890 | |
| | 60 | 12,000 | 8690 | | | | | |
| | 80 | | | | | 10,500 | 10,200 | |
| | 200 | 33,400 | 24,600 | | | | | |
| **DXd** | 6.0 | | | | | | | 19.2 |
| | 10 | | | 4.77 | 0.891 | 8.27 | 24.5 | |
| | 20 | 2.40 | 0.826 | | | | | |
| | 30 | | | 3.02 | 5.59 | 5.03 | 4.04 | |
| | 60 | 5.97 | 4.28 | | | | | |
| | 80 | | | | | 10.8 | 10.9 | |
| | 200 | 19.9 | 13.0 | | | | | |

[a] 3-month intermittent dose toxicity study (GLP study)
[b] 6-week intermittent dose toxicity study (non GLP study)
[c] 3- month intermittent dose toxicity study (GLP study)
[d] TROPION-PanTumor01: DS1062-A-J101

## 3.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（2/3）

| Test Article: Dato-DXd | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **C0 (μg/mL)** | | | | | | | | |
| **Species** | | **Rats in the 4th dose[a]** | | **Monkeys in the 2nd dose[b]** | | **Monkeys in the 4th dose[c]** | | **Humans[d] (Cycle 3)** |
| **Dose (mg/kg)** | | **Male** | **Female** | **Male** | **Female** | **Male** | **Female** | |
| **Dato-DXd** | 6.0 | | | | | | | 160 |
| | 10 | | | | | 179 | 71.5 | |
| | 20 | 681 | 635 | | | | | |
| | 30 | | | | | 680 | 610 | |
| | 60 | 2400 | 2130 | | | | | |
| | 80 | | | | | 1820 | 1600 | |
| | 200 | 6660 | 5510 | | | | | |
| **Total Anti-TROP2 Antibody** | 6.0 | | | | | | | 165 |
| | 10 | | | 216 | 188 | 173 | 76.0 | |
| | 20 | 657 | 617 | | | | | |
| | 30 | | | 655 | 686 | 673 | 614 | |
| | 60 | 2550 | 2110 | | | | | |
| | 80 | | | | | 1820 | 1610 | |
| | 200 | 6840 | 5090 | | | | | |
| **Cmax (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **DXd** | 6.0 | | | | | | | 2.63 |
| | 10 | | | 3.27 | 0.516 | 3.38 | 7.48 | |
| | 20 | 0.327 | 0.278 | | | | | |
| | 30 | | | 0.553 | 2.62 | 0.777 | 0.582 | |
| | 60 | 1.08 | 0.901 | | | | | |
| | 80 | | | | | 1.71 | 1.50 | |
| | 200 | 4.06 | 3.25 | | | | | |

[a] 3-month intermittent dose toxicity study (GLP study)
[b] 6-week intermittent dose toxicity study (non GLP study)
[c] 3- month intermittent dose toxicity study (GLP study)
[d] TROPION-PanTumor01: DS1062-A-J101

## 3.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（3/3）

| Test Article: DXd | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | AUC1d (ng·d/mL) | | | | C0 (ng/mL) | | | |
| Species | | Rats in the 5th dose[a] | | Monkeys in the 4th dose[b] | | Rats in the 5th dose[a] | | Monkeys in the 4th dose[b] | |
| Dose (mg/kg) | | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| DXd | 1 | | | 20.2 | 15.7 | | | 1860 | 1480 |
| | 3 | 42.2 | 28.9 | 68.2 | 95.2 | 4420 | 2610 | 6730 | 10,600 |
| | 10 | 134 | 108 | | | 13,600 | 12,100 | | |
| | 12 | | | 473 | 384 | | | 52,100 | 46,900 |
| | 30 | 520 | 596 | | | 59,600 | 70,200 | | |

[a] 4-week intermittent dose toxicity study (GLP study)
[b] 4- week intermittent dose toxicity study (GLP study)

## 4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（1/4）

| Test Article: Dato-DXd | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | | | **Mean Drug/Ab Ratio** | **Protein concentration (mg/mL)** | **Attachment Number** | **Type of Study** |
| | **Monomers** | **Polymers** | **Fragments** | | | | |
| [redacted] | NE | NE | NE | 4.0 | 20.26 | 4.2.3.2-2 | 6-Week Intermittent Dose Toxicity in Monkeys (Exploratory Study) |
| [redacted] | 99.03 | 0.15 | 0.82 | 4.0 | 20.4 | 4.2.3.2-1 | 3-Month Intermittent Dose Toxicity Study in Rats |
| | | | | | | 4.2.3.2-3 | 3-Month Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys |
| | | | | | | 4.2.3.7.7-1 | Tissue Cross-Reactivity Study with Human Tissues |
| | | | | | | 4.2.3.7.7-2 | Tissue Cross-Reactivity Study with Cynomolgus Monkey Tissues |
| [redacted] | NE | NE | NE | 3.9 | 20.7 | 4.2.3.7.7-7 | In Vitro Cytokine Release Assay in Human PBMCs |
| | | | | | | 4.2.3.7.7-8 | In Vitro Cytokine Release Assay in Human Whole Blood |

NE, not examined; PBMCs, peripheral blood mononuclear cells.

## 4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（2/4）

| Test Article: DXd | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | **Related Substance (%)** | **Water Content (%)** | **Attachment Number** | **Type of Study** |
| [redacted] | 98.4 | 1.56 | 2.40 | 4.2.3.3.1-1 | Bacterial Reverse Mutation Study of DXd Monohydrate[a] |
| | | | | 4.2.3.3.1-2 | Chromosome Aberration Study of DXd Monohydrate[a] with Mammalian Cultured Cells |
| | | | | 4.2.3.3.2-1 | Micronucleus Study in Bone Marrow of Rats Treated Intravenously with DXd Monohydrate[a] |
| | | | | 4.2.3.7.7-3 | 4-week Intermittent Dose Toxicity in Rats Treated with DXd Monohydrate[a] |
| | | | | 4.2.3.7.7-4 | 4-week Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated with DXd Monohydrate[a] |
| | | | | 4.2.3.7.7-5 | In vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test with DXd Monohydrate[a] |
| | | | | 4.2.3.7.7-6 | Single Dose Phototoxicity Study in Pigmented Rats Treated with DXd Monohydrate[a] |

[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the reports.

## 4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（3/4）

| | | | | | Test Article: Dato[a] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | | | **Protein concentration (mg/mL)** | **Attachment Number** | **Type of Study** |
| | **Monomers** | **Polymers** | **Fragments** | | | |
| [redacted] | NE | NE | NE | 40.7 | 4.2.3.7.7-7 | In Vitro Cytokine Release Assay in Human PBMCs |
| | | | | | 4.2.3.7.7-8 | In Vitro Cytokine Release Assay in Human Whole Blood |

NE: not examined.
[a] Dato was referred to MAAP-9001a (antibody component of Dato-DXd, datopotamab) in the reports.

## 4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（4/4）

| | | | | | | Test Article: MAAP-9002b[a] | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | | | **Mean Drug/Ab Ratio** | **Protein concentration (mg/mL)** | **Attachment Number** | **Type of Study** |
| | **Monomers** | **Polymers** | **Fragments** | | | | |
| [redacted] | NE | NE | NE | 6.9 | 22.3 | 4.2.3.7.7-9 | 2-Week Intermittent Dose Toxicity in Monkeys |

NE: not examined.
[a] former candidate ADC that comprised the same antibody, linker, and drug as those of Dato-DXd.

## 5. 単回投与毒性試験

Dato-DXd の単回投与毒性試験は実施していない。ラット及びカニクイザルにおける 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験の初回投与時における所見を以下に記載する。

| Species/ Strain | Method of Administration, Vehicle/ Formulation | Doses (mg/kg) | Number per Group and Gender | Approximate Lethal Dose (mg/kg) | Noteworthy Findings (mg/kg) | Attachment Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Rats/ Crl:CD(SD) | Intravenous, 10 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 9% sucrose, 0.02% polysorbate 80 | 20, 60, 200 | Toxicity evaluation group: 10M, 10F<br><br>Recovery evaluation group: 5M, 5F<br><br>Toxicokinetics group: 4M, 4F | >200 | No mortality<br>200: loss of fur, lower body weight gain and lower food consumption than the vehicle control group | 4.2.3.2-1 |
| Cynomolgus monkeys | Intravenous, 10 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 9% sucrose, 0.02% polysorbate 80 | 10, 30, 80 | Toxicity evaluation group: 3M, 3F<br><br>Recovery evaluation group: 2M, 2F | >80 | No mortality<br>≥30: abnormal skin color<br>80: slight decrease in body weight | 4.2.3.2-3 |

F, female; M, male.

## 6.　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

| Test Article: Dato-DXd | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Duration of Dosing** | **Doses (mg/kg)** | **Gender and No. Per Group** | **HNSTD (mg/kg)** | **Noteworthy Findings (mg/kg)** | **Attachment Number** |
| Cynomolgus monkeys | Intravenous (10 mmol/L acetic acid 5% sorbitol buffer [pH 5.5]) | 6 weeks (Q3W, 3 times in total) | 10, 30 | 10: M1, F1<br>30: M2, F2 | 30 | 30: vomitus (whitish froth and/or food particles), salivation, loose stool, and mucous feces, aggregation of foamy alveolar macrophage and cell infiltration in the interstitium in the lung, single cell necrosis in the crypt in the duodenum, and increased number of tingible body macrophage in the thymus | 4.2.3.2-2 |

F, female; M, male; Q3W, every 3 weeks.

## 7.　反復投与毒性試験：重要な試験

### 7.1　Dato-DXd のラット 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験

| **Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Rats Treated Intravenously with Dato-DXd Once per 3 Weeks for 3 Months Followed by a 2-Month Recovery Period** | | **Test Article: Dato-DXd** |
|---|---|---|
| **Species/Strain: Rats/Crl:CD(SD)** | **Duration of Dosing: 3-month** | **Attachment No. 4.2.3.2-1** |
| **Initial Age: 7 weeks age** | **Duration of Postdose: 2-month** | **Location in CTD: 4.2.3.2** |
| **Date of First Dose: Males: [redacted], 20[redacted]**<br>**Females: [redacted], 20[redacted]** | **Method of Administration: Intravenous** | **GLP Compliance: Yes** |
| | **Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine buffer (pH6.0), 9% sucrose, 0.02% Polysorbate 80 solution** | |

**Special Features:**

**Dato-DXd was intravenously administered intermittently once per 3 weeks for 3 months (5 times in total, Days 1, 22, 43, 64, and 85 of dosing).**

**Toxicokinetics study was done on Day 1, Day 22, Day 64 and Day 85 of the dosing period, Day 22 and Day 57 of the recovery period.**

**Day 1 and Day 64 of the dosing period: Blood collection was done prior to dosing (Day 64 only), 0.25, 7, 24, 72 and 168 h after dosing.**

**Day 22 and Day 85 of the dosing period, and Day 22 and Day 57 of the recovery period: Blood collection was done prior to dosing, or equivalent time prior to dosing.**

**Post dose recovery period (2 months) was set for control and 200 mg/kg treated groups (5 animals/each sex/group).**

**Severely Toxic dose in 10% of the animals ($STD_{10}$): more than 200 mg/kg in males and females**

| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1[a] |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd (mean ±standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (μg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 445 ± 21.2 | 459 ± 32.7 | 1580 ± 43.2 | 1610 ± 88.6 | 4830 ± 230 | 4600 ± 336 |
| **Day 64** | NE | NE | 681 ± 44.8 | 635 ± 55.5 | 2400 ± 92.7 | 2130 ± 303 | 6660 ± 376 | 5510 ± 375[b] |

F, female; M, male; NE: not examined.
[a] Dead on Day 64 (technical error)
[b] N=3

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd** (**mean** ± standard deviation) | | | | | | | | |
| **AUC21d (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 1830 ± 126 | 1950 ± 145 | 6000 ± 332 | 6260 ± 434 | 18,800 ± 897 | 18,600 ± 423 |
| **Day 64** | NE | NE | 2720 ± 968 | 2430 ± 844 | 10,200 ± 2470 | 7290 ± 965 | 28,400 ± 5470 | 20,600 ± 5460[a] |
| **AUCinf (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2140 ± 323 | 2450 ± 190 | 6720 ± 546 | 7110 ± 865 | 22,700 ± 1290 | 21,500 ± 1050 |
| **Day 64** | NE | NE | 3780 ± 1770 | 3190 ± 1590 | 14,700 ± 5650 | 9430 ± 1550 | 38,100 ± 10,700 | 29,100 ± 12,400[a] |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 7.45 ± 2.99 | 9.71 ± 0.252 | 6.91 ± 0.807 | 6.87 ± 2.66 | 8.86 ± 0.204 | 7.69 ± 0.877 |
| **Day 64** | NE | NE | 10.1 ± 6.09 | 9.55 ± 4.17 | 12.9 ± 4.31 | 10.7 ± 1.14 | 11.3 ± 1.90 | 11.8 ± 4.13[a] |

F, female; M, male; NE: not examined.
[a] N=3

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Total anti-TROP2 antibody (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (µg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 412 ± 29.8 | 422 ± 30.6 | 1600 ± 50.2 | 1720 ± 97.0 | 4870 ± 74.6 | 4800 ± 262 |
| **Day 64** | NE | NE | 657 ± 75.0 | 617 ± 65.4 | 2550 ± 107 | 2110 ± 185 | 6840 ± 583 | 5090 ± 683[a] |
| **AUC21d (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2100 ± 147 | 2140 ± 117 | 6990 ± 444 | 7380 ± 472 | 22,800 ± 1250 | 22,800 ± 816 |
| **Day 64** | NE | NE | 3230 ± 1170 | 2920 ± 1070 | 12,000 ± 3010 | 8690 ± 1060 | 33,400 ± 6070 | 24,600 ± 7230[a] |
| **AUCinf (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2580 ± 407 | 2930 ± 220 | 8200 ± 686 | 8770 ± 998 | 28,200 ± 2020 | 27,400 ± 1480 |
| **Day 64** | NE | NE | 5070 ± 2520 | 4200 ± 2340 | 19,600 ± 8600 | 12,300 ± 2210 | 50,400 ± 17,200 | 39,600 ± 19800[a] |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 8.67 ± 2.68 | 11.6 ± 0.295 | 8.09 ± 0.818 | 8.18 ± 2.60 | 9.30 ± 0.391 | 8.63 ± 1.45 |
| **Day 64** | NE | NE | 12.9 ± 7.02 | 11.1 ± 5.48 | 15.8 ± 5.93 | 12.7 ± 1.65 | 13.8 ± 3.83 | 14.7 ± 5.67[a] |

F, female; M, male; NE: not examined
[a] N=3

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **Cmax (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.163 ± 0.0219 | 0.128 ± 0.0150 | 0.466 ± 0.0318 | 0.403 ± 0.0947 | 2.44 ± 0.221 | 1.49 ± 0.198 |
| **Day 64** | NE | NE | 0.327 ± 0.102 | 0.278 ± 0.0771 | 1.08 ± 0.422 | 0.901 ± 0.106 | 4.06 ± 0.809 | 3.25 ± 1.25[a] |
| **AUC21d (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.631 ± 0.0575 | 0.523 ± 0.112 | 3.41 ± 0.392 | 3.03 ± 0.726 | 10.8 ± 0.411 | 8.86 ± 0.729 |
| **Day 64** | NE | NE | 2.40 ± 0.395 | 0.826 ± 0.0494 | 5.97 ± 1.49 | 4.28 ± 0.783 | 19.9 ± 3.37 | 13.0 ± 0.269[a] |
| **AUCinf (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | NC | NC | 3.81 ± NC | NC | 9.70 ± 0.343 | 8.59 ± 1.21 |
| **Day 64** | NE | NE | 4.14 ± 3.40 | NC | 5.97 ± 0.823 | 3.55 ± 0.279 | 21.4 ± 3.87 | 13.6 ± 1.69[a] |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | NC | NC | 5.84 ± NC | NC | 3.22 ± 0.217 | 4.08 ± 1.63 |
| **Day 64** | NE | NE | 14.4 ± 16.8 | NC | 3.43 ± 0.608 | 3.35 ± 0.508 | 5.84 ± 0.879 | 5.41 ± 2.59[a] |
| **Tmax (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.646 ± 0.409 | 0.469 ± 0.354 | 0.646 ± 0.409 | 0.823 ± 0.354 | 0.292 ± 0 | 0.292 ± 0 |
| **Day 64** | NE | NE | 0.292 ± 0 | 0.469 ± 0.354 | 0.469 ± 0.354 | 0.469 ± 0.354 | 0.469 ± 0.354 | 0.292 ± 0[a] |

F, female; M, male; NC: not calculated; NE: not examined.
[a] N=3

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:15 | F:15 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Loss of fur (right forelimb)** | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Loss of fur (left forelimb)** | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Loss of fur (neck)** | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Loss of fur (back)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Loss of fur (left shoulder)** | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| **Loss of fur (gluteal region)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 3 |
| **Crust formation (neck)** | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Crust formation (left shoulder)** | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Smudge of periorbital area** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Whitening of teeth (maxillary incisor)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 15 | 14 |
| **Whitening of teeth (mandibula incisor)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 15 | 15 |
| **Overgrown teeth (maxillary incisor)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 13 | 13 |
| **Crushing of teeth (right maxillary incisor)** | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Crushing of teeth (left maxillary incisor)** | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Crushing of teeth (left mandibula incisor)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

F, female; M, male.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:15 | F:15 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Body Weight (Δ%[a]) Day 1** | 256.5 g | 194.0 g | -2 | -5 | -2 | -3 | -1 | -5 |
| **Body Weight (Δ%) Day 8** | 314.0 g | 216.3 g | -2 | -6 | -2 | -5 | -4 | -9** |
| **Body Weight (Δ%) Day 15** | 364.3 g | 234.1 g | -2 | -7 | -2 | -7 | -5 | -9* |
| **Body Weight (Δ%) Day 22** | 403.6 g | 251.9 g | -2 | -6 | -1 | -8 | -4 | -10** |
| **Body Weight (Δ%) Day 29** | 434.8 g | 265.9 g | -3 | -7 | -3 | -9* | -8 | -13** |
| **Body Weight (Δ%) Day 36** | 466.1 g | 279.7 g | -2 | -7 | -3 | -10* | -7 | -13** |
| **Body Weight (Δ%) Day 43** | 490.4 g | 294.3 g | -2 | -7 | -3 | -9 | -6 | -13** |
| **Body Weight (Δ%) Day 50** | 507.1 g | 298.5 g | -3 | -6 | -4 | -9 | -9 | -15** |
| **Body Weight (Δ%) Day 57** | 528.9 g | 308.9 g | -2 | -7 | -4 | -7 | -9 | -15** |
| **Body Weight (Δ%) Day 64** | 547.7 g | 319.1 g | -2 | -7 | -4 | -8 | -8 | -14** |
| **Body Weight (Δ%) Day 71** | 558.3 g | 321.8 g | -2 | -7 | -4 | -8 | -9 | -16** |
| **Body Weight (Δ%) Day 78** | 573.5 g | 328.7 g | -2 | -7 | -4 | -8 | -9 | -16** |
| **Body Weight (Δ%) Day 85** | 585.3 g | 334.6 g | -1 | -8 | -5 | -8 | -9 | -16** |
| **Body Weight (Δ%) Day 86[b]** | 585.1 g | 334.5 g | -2 | -8 | -5 | -8 | -9 | -17** |

F, female; M, male.
Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[b] At the end of dosing period

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:15 | F:15 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Food Consumption (Δ%[a]) Day 8** | 26.1 g | 19.3 g | −2 | −7 | +1 | −7 | −3 | −10* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 15** | 26.9 g | 20.1 g | 0 | −7 | +3 | −8 | −3 | −10* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 22** | 27.7 g | 19.7 g | −1 | −5 | +3 | −9 | −2 | −10* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 29** | 27.5 g | 19.5 g | −2 | −8 | 0 | −12* | −8 | −16** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 36** | 27.3 g | 20.3 g | −1 | −5 | −2 | −10 | −4 | −13** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 43** | 26.9 g | 19.2 g | −1 | −6 | −1 | −5 | −1 | −11* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 50** | 26.6 g | 18.7 g | −3 | −6 | −5 | −5 | −11* | −16** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 57** | 26.4 g | 19.5 g | −2 | −7 | −3 | −4 | −7 | −13** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 64** | 26.5 g | 19.1 g | −1 | −7 | −1 | −4 | −2 | −10 |
| **Food Consumption (Δ%) Day 71** | 25.5 g | 17.5 g | 0 | −6 | −2 | −1 | −6 | −13** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 78** | 26.1 g | 18.2 g | −1 | −7 | −5 | −3 | −8 | −12* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 85** | 26.3 g | 18.7 g | −1 | −8 | −5 | −6 | −6 | −13** |
| **Food Consumption (Δ%) Day 86[b]** | 23.1 g | 16.3 g | −2 | −9 | −8 | −6 | 0 | −12 |

F, female; M, male.
Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[b] At the end of dosing period

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:15 | F:15 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Urinalysis (Day 81)** | | | | | | | | |
| **Protein** | | | | | | | | |
| **-** | 0 | 2 | 0 | 7 | 0 | 6 | 0 | 1 |
| **+/-** | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| **1+** | 8 | 9 | 4 | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| **2+** | 7 | 2 | 5 | 0 | 7 | 0 | 4 | 6 |
| **3+** | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 11 | 5 |
| **Ophthalmology (Day 81)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology[a] (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) |
| **ARET (g/L)** | 175.57 | 154.53 | 172.08 | 162.05 | 154.01 | 147.64 | 100.39** | 110.02** |
| **WBC ($10^3$/μL)** | 4.769 | 4.842 | 6.599 | 3.981 | 4.639 | 3.712 | 3.188 | 3.104** |
| **ANE ($10^3$/μL)** | 0.887 | 0.942 | 1.106 | 0.812 | 0.880 | 0.589 | 0.530# | 0.822 |
| **ALY ($10^3$/μL)** | 3.651 | 3.645 | 5.193 | 2.951 | 3.527 | 2.922 | 2.461 | 2.053** |
| **Blood Chemistry[a] (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) |
| **ALB (g/dL)** | 4.03 | 4.66 | 4.03 | 4.64 | 4.05 | 4.69 | 3.76* | 4.64 |
| **A/G** | 1.837 | 2.445 | 1.878 | 2.513 | 1.908 | 2.404 | 1.595* | 2.378 |
| **UN (mg/dL)** | 16.76 | 15.85 | 16.30 | 16.21 | 15.92 | 16.66 | 20.51** | 18.08* |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.
Statistics (vs vehicle control): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnett's test), #$P < 0.05$ (Non-parametric Dunnett's test; Joint ranking method)
[a] Examined on Day 86 of dosing period

| 7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity | | | | | Attachment No. 4.2.3.2-1 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Organ Weight** | | | | | | | | |
| **Epididymis** | | | | | | | | |
| **Absolute Weight (Δ%[a])** | 1.311 g | | −4 | | −6 | | −23** | |
| **Relative Weight (Δ%[a])** | 0.222 g% | | 0 | | +1 | | −14* | |
| **Gross Pathology** | | | | | | | | |
| **Incisor: Crushing of teeth** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| **Whitening** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 10 | 9 |
| **Overgrowth** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 8 | 5 |
| **Lung: Colored focus** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1[b] | 0 | 2 | 0 |
| **Skin: Alopecia** | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Thymus: Small size** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Cecum: Black contents** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Kidney: Degeneration of podocyte** | 0 | 0 | 0 | NE | 0 | 0 | 6 | 1 |
| **Hyaline cast** | 0 | 0 | 0 | NE | 1 | 0 | 6 | 1 |
| **Regeneration of tubular epithelium** | 0 | 0 | 0 | NE | 1 | 0 | 7 | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined
Statistics (vs vehicle control): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnett's test). Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)
[a] Δ%: For the controls, group means are shown. For the treated groups, percent differences from controls are shown.
[b] The findings were considered not to be treatment-related because of the results of histopathology.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Lung: Hemorrhage** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Infiltration of neutrophil in alveolus** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Regeneration of alveolar epithelium** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Infiltration of foamy alveolar macrophage** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Bone marrow: Decreased erythropoiesis** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 6 | 6 |
| **Decreased granulopoiesis** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Thymus: Increased number of tingible body macrophage** | 0 | 0 | 1 | 0 | 6 | 2 | 4 | 4 |
| **Atrophy of cortex** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| **Spleen: Atrophy of PALS** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 0 | 2 |
| **Duodenum: Single cell necrosis in crypt** | 0 | 0 | 0 | NE | 1 | 0 | 9 | 10 |
| **Jejunum: Single cell necrosis in crypt** | 0 | 0 | NE | 0 | 0 | 1 | 10 | 10 |
| **Ileum: Single cell necrosis in crypt** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 9 | 7 |
| **Cecum: Single cell necrosis in crypt** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | 0 | 10 | 7 |
| **Rectum: Single cell necrosis in crypt** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 8 | 8 |
| **Skin: Necrosis of epidermis** | 0 | 0 | 0[a] | NE | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Single cell necrosis in hair follicle** | 0 | 0 | 0[a] | NE | 0 | 0 | 1 | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.
[a] One animal was examined because of the abnormality in gross pathology, but the findings were considered not to be treatment-related because of the results of histopathology.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Testis: Degeneration of germinal epithelium** | 0 | | NE | | 0 | | 7 | |
| **Atrophy of seminiferous tubule** | 0 | | NE | | 0 | | 8 | |
| **Epididymis: Cell debris in duct** | 0 | | NE | | 0 | | 9 | |
| **Decreased number of spermatozoa in duct** | 0 | | NE | | 0 | | 5 | |
| **Single cell necrosis of ductal epithelium** | 0 | | NE | | 0 | | 2 | |
| **Mammary gland: Atrophy of gland epithelium** | 0 | 0 | NE | NE | 0 | NE | 10 | 0 |
| **Ovary: Increased number of atretic follicle** | | 0 | | NE | | 0 | | 3 |
| **Vagina: Single cell necrosis of mucosal epithelium** | | 0 | | NE | | 0 | | 2 |
| **Incisor: Abnormal dentin formation** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 |
| **Gingivitis** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Necrosis of ameloblast** | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 10 | 9 |
| **Single cell necrosis in enamel organ** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 8 |
| **Hemorrhage in root** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Necrosis in root** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:15 | F:15 |
| **Anti-Drug Antibody Analysis (No. examined, Toxicity/TK satellite group)[a]** | (10/4) | (10/4) | (10/4) | (10/4) | (10/4) | (10/4) | (10/4) | (10/3) |
| **Positive** | 0/0 | 1/0 | 0/1 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 |

F, female; M, male.
[a] Examined on Day 86 (toxicity evaluation group) or Day 85 (TK satellite group) of dosing period.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:3[a] |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Concentration (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd (μg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | 50.6 ± 36.5 | 38.6 ± 32.1 | 217 ± 112 | 126 ± 31.0 | 620 ± 244 | 417 ± 303 |
| **Day 57** | NE | NE | 7.91 ± 6.73 | 6.32 ± 6.95 | 55.0 ± 45.2 | 11.8 ± 4.85 | 124 ± 76.0 | 75.1 ± 98.1 |
| **Total anti-TROP2 antibody (μg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | 71.8 ± 50.7 | 59.1 ± 50.2 | 288 ± 142 | 174 ± 42.5 | 869 ± 301 | 564 ± 402 |
| **Day 57** | NE | NE | 11.5 ± 9.62 | 8.80 ± 9.59 | 76.0 ± 64.7 | 17.4 ± 6.85 | 176 ± 103 | 100 ± 125 |
| **DXd (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | 0.0543 ± 0.109 | 0 | 0.0653 ± 0.0777 | 0 | 0.200 ± 0.0728 | 0.101 ± 0.0879 |
| **Day 57** | NE | NE | 0.0263 ± 0.0525 | 0.0308 ± 0.0615 | 0 | 0 | 0 | 0.0387 ± 0.0670 |

F, female; M, male; NE: not examined.
[a] One animal was dead on Day 64 of the dosing period due to technical error.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Loss of fur (right forelimb)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Loss of fur (left shoulder)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Loss of fur (back)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 | 1 |
| **Whitening of teeth (maxillary incisor)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 5 | 5 |
| **Whitening of teeth (mandibula incisor)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 5 | 5 |
| **Overgrown teeth (maxillary incisor)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 5 | 4 |
| **Crushing of teeth (right maxillary incisor)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 | 2 |
| **Crushing of teeth (left maxillary incisor)** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Body Weight (Δ%[a]) Day 8** | 587.4 g | 341.8 g | NE | NE | NE | NE | −11 | −19* |
| **Body Weight (Δ%) Day 15** | 596.8 g | 348.6 g | NE | NE | NE | NE | −11 | −19* |
| **Body Weight (Δ%) Day 22** | 609.4 g | 353.6 g | NE | NE | NE | NE | −10 | −20* |
| **Body Weight (Δ%) Day 29** | 621.4 g | 356.4 g | NE | NE | NE | NE | −9 | −18* |
| **Body Weight (Δ%) Day 36** | 634.0 g | 365.4 g | NE | NE | NE | NE | −8 | −19* |
| **Body Weight (Δ%) Day 43** | 641.6 g | 372.2 g | NE | NE | NE | NE | −9 | −19* |
| **Body Weight (Δ%) Day 50** | 650.0 g | 378.2 g | NE | NE | NE | NE | −8 | −19* |
| **Body Weight (Δ%) Day 57[b]** | 656.4 g | 381.6 g | NE | NE | NE | NE | −8 | −19* |
| **Food Consumption (Δ%) Day 57[b]** | 25.6 g | 19.6 g | NE | NE | NE | NE | −2 | −12 |

F, female; M, male; NE: not examined.
Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$ (t test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[b] At end of recovery period

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Urinalysis (Day 52)** | | | | | | | | |
| **Protein** | | | | | | | | |
| **-** | 0 | 2 | NE | NE | NE | NE | 0 | 1 |
| **+/-** | 0 | 1 | NE | NE | NE | NE | 0 | 1 |
| **1+** | 2 | 2 | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 |
| **2+** | 3 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 3 |
| **3+** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 4 | 0 |
| **Ophthalmology (Day 52)** | - | - | NE | NE | NE | NE | - | - |

F, female; M, male; NE, not examined; -, no noteworthy findings.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Hematology**[a] | | | | | | | | |
| **ARET (g/L)** | 195.42 | 138.40 | NE | NE | NE | NE | 174.16 | 142.34 |
| **WBC ($10^3$/μL)** | 5.720 | 4.014 | NE | NE | NE | NE | 6.896 | 3.974 |
| **ANE ($10^3$/μL)** | 0.888 | 0.616 | NE | NE | NE | NE | 1.300 | 0.884 |
| **ALY ($10^3$/μL)** | 4.532 | 3.100 | NE | NE | NE | NE | 5.202 | 2.844 |
| **Blood Chemistry**[a] | | | | | | | | |
| **ALB (g/dL)** | 3.92 | 5.12 | NE | NE | NE | NE | 3.94 | 5.08 |
| **A/G** | 1.754 | 2.594 | NE | NE | NE | NE | 1.652 | 2.910 |
| **UN (mg/dL)** | 16.88 | 16.78 | NE | NE | NE | NE | 15.32 | 16.44 |
| **Organ Weight**[a] | | | | | | | | |
| **Testis** | | | | | | | | |
| **Absolute Weight (Δ%**[b]**)** | 3.390 g | | NE | | NE | | −51** | |
| **Relative Weight (Δ%)** | 0.520 g% | | NE | | NE | | −47** | |
| **Epididymis** | | | | | | | | |
| **Absolute Weight (Δ%**[b]**)** | 1.338 g | | NE | | NE | | −41** | |
| **Relative Weight (Δ%)** | 0.202 g% | | NE | | NE | | −36** | |

F, female; M, male; NE, not examined
Statistics (vs vehicle control): $^{**}P < 0.01$ (t test), Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)
[a] Examined on Day 57 of recovery period
[b] Δ%: For the controls, group means are shown. For the treated groups, percent differences from controls are shown.

| **7.1. Rat 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-1** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 20 | | 60 | | 200 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Gross Pathology**[a] | | | | | | | | |
| **Incisor: Crushing of teeth** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 1 |
| **Whitening** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 5 | 5 |
| **Overgrowth** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 2 | 3 |
| **Testis: Small size** | 0 | | NE | | NE | | 5 | |
| **Histopathology**[a] | | | | | | | | |
| **Kidney: Hyaline cast** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 4 | 0 |
| **Regeneration of tubular epithelium** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 4 | 0 |
| **Lung: Hemorrhage** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Regeneration of alveolar epithelium** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Testis: Degeneration of germinal epithelium** | 0 | | NE | | NE | | 3 | |
| **Atrophy of seminiferous tubule** | 0 | | NE | | NE | | 5 | |
| **Epididymis: Cell debris in duct** | 0 | | NE | | NE | | 5 | |
| **Decreased number of spermatozoa in duct** | 0 | | NE | | NE | | 5 | |
| **Mammary gland: Increased lipid droplet in glandular epithelium** | 0 | 2[b] | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Incisor: Necrosis of ameloblast** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 | 2 |
| **Gingivitis** | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 1 | 1 |

F, female; M, male; NE, not examined
[a] Examined on Day 57 of recovery period
[b] The findings were considered not to be treatment-related because of the results of histopathology.

## 7.2　Dato-DXd のカニクイザル 3 ヵ月間間歇静脈内投与毒性試験

| **Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with Dato-DXd Once per 3 Weeks for 3 Months Followed by a 2-Month Recovery Period** | | | | | **Test Article: Dato-DXd** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain: Cynomolgus monkeys** | **Duration of Dosing: 3-month** | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | |
| **Initial Age: 3 to 4 years age** | **Duration of Postdose: 2-month** | | | | **Location in CTD: 4.2.3.2** | | | |
| **Dates of First Dose: Males: [redacted], 20[redacted]<br>Females: [redacted], 20[redacted]** | **Method of Administration: Intravenous (once per 3 weeks)** | | | | **GLP Compliance: Yes** | | | |
| | **Vehicle/Formulation: 10 mmol/L histidine buffer (pH 6.0), 9% sucrose, 0.02% Polysorbate 80 solution** | | | | | | | |
| **Special Features:**<br>**Toxicokinetics study was done on Days 1 and 64 and recovery Days 22 and 57.**<br>**Blood collection was done 0.083, 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h (before the dosing on Day 22) after the end of dosing on Day 1, before dosing, 0.083, 1, 7, 24, 72, 168, and 504 h (before the dosing on Day 85) after the end of dosing on Day 64, and at a time corresponding to before dosing on recovery Days 22 and 57.**<br>**Post dose recovery period (2 months) was set for 30 and 80 mg/kg treated groups (2 animals/sex/group).** | | | | | | | | |
| **Highest Non-severely Toxic Dose: 10 mg/kg in males and females** | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (µg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 224 ± 46.5 | 208 ± 7.13 | 645 ± 49.0 | 575 ± 24.6 | 1600 ± 255 | 1490 ±172 |
| **Day 64** | NE | NE | 179 ± 155 | 71.5 ± 72.7 | 680 ± 117 | 610 ± 35.4 | 1820 ± 236 | 1600 ± 148 |
| **AUC21d (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 642 ± 115 | 689 ± 77.1 | 2730 ± 335 | 2360 ± 302 | 7760 ± 1000 | 7140 ± 801 |
| **Day 64** | NE | NE | 396 ± 428 | 38.4 ± 59.8 | 2490 ± 774 | 2550 ± 402 | 8850 ± 1510 | 8370 ± 1180 |

F, female; M, male; NE, not examined

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **AUCinf (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 623 ± 143 | 616 ± 70.1 | 2690 ± 382 | 2410 ± 357 | 9060 ± 1410 | 7890 ± 1040 |
| **Day 64** | NE | NE | 396 ± 430 | 37.1 ± 58.0 | 2530 ± 886 | 2610 ± 431 | 9940 ±2090 | 9080 ± 1430 |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2.42 ± 0.578 | 2.90 ± 0.235 | 2.35 ± 0.973 | 3.55 ± 1.21 | 7.90 ± 1.34 | 6.48 ± 0.658 |
| **Day 64** | NE | NE | 1.72[a] ± NC | 0.232 ± 0.317 | 3.73 ± 1.15 | 3.96 ± 0.571 | 6.72 ± 1.24 | 5.93 ± 0.888 |
| **Total anti-TROP2 antibody (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (µg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 222 ± 45.1 | 199 ± 17.2 | 646 ± 62.0 | 565 ± 26.7 | 1630 ± 182 | 1490 ± 145 |
| **Day 64** | NE | NE | 173 ± 150 | 76.0 ± 70.9 | 673 ± 127 | 614 ± 44.3 | 1820 ± 238 | 1610 ± 170 |
| **AUC21d (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 737 ± 135 | 790 ± 94.2 | 3080 ± 381 | 2670 ± 288 | 9190 ± 1130 | 8540 ± 1080 |
| **Day 64** | NE | NE | 425 ± 463 | 42.6 ± 64.3 | 2700 ± 837 | 2890 ± 492 | 10,500 ± 1740 | 10,200 ± 1330 |

F, female; M, male; NC, not calculated, NE, not examined
[a] N=2

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Total anti-TROP2 antibody (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **AUCinf (µg·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 719 ± 164 | 743 ± 109 | 3100 ± 371 | 2760 ± 368 | 11,200 ± 1780 | 9690 ±1450 |
| **Day 64** | NE | NE | 423 ± 467 | 40.7 ± 62.0 | 2820 ± 938 | 2990 ± 541 | 12,300 ± 2720 | 11,300 ± 1730 |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2.70 ± 0.589 | 2.70 ± 1.04 | 2.53 ± 0.844 | 4.00 ± 1.30 | 8.74 ± 1.81 | 7.08 ± 0.801 |
| **Day 64** | NE | NE | 1.97[a] ± NC | 0.270 ± 0.357 | 3.99 ± 1.73 | 4.31 ± 0.708 | 7.63 ± 1.65 | 6.37 ± 1.11 |
| **DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **Cmax (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.230 ± 0.0546 | 0.154 ± 0.0149 | 0.585 ± 0.0820 | 0.438 ± 0.0394 | 1.65 ± 0.372 | 1.36 ± 0.257 |
| **Day 64** | NE | NE | 3.38 ± 5.12 | 7.48 ± 5.45 | 0.777 ± 0.224 | 0.582 ± 0.0416 | 1.71 ± 1.34 | 1.50 ± 0.248 |
| **AUC21d (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 1.14 ± 0.768 | 0.642 ± 0.0861 | 4.56 ± 0.976 | 3.94 ± 1.11 | 11.7 ± 2.02 | 10.9 ± 1.54 |
| **Day 64** | NE | NE | 8.27 ± 11.6 | 24.5 ± 20.7 | 5.03 ± 0.761 | 4.04 ± 0.290 | 10.8 ± 3.12 | 10.9 ± 2.20 |

F, female; M, male; NC, not calculated, NE, not examined
[a] N=2

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **AUCinf (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | NC | NC | NC | NC | 12.8 ± 1.65 | 12.0[a] ± 1.49 |
| **Day 64** | NE | NE | 13.1[b] ± NC | 25.2 ± 21.6 | 5.73[b] ± NC | NC | 13.5[c] ± 2.74 | 13.0[c] ± 2.20 |
| **t1/2 (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | NC | NC | NC | NC | 6.14 ± 1.23 | 6.40[a] ± 1.21 |
| **Day 64** | NE | NE | 7.88[b] ± NC | 4.38 ± 0.754 | 5.77[b] ± NC | NC | 6.31[c] ± 0.972 | 5.71[c] ± 0.612 |
| **Tmax (day)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 1.67 ± 1.15 | 1.67 ± 1.15 | 1.00 ± 0.00 | 3.00 ± 2.45 | 0.858 ± 0.317 | 1.40 ± 0.894 |
| **Day 64** | NE | NE | 1.11 ± 1.64 | 0.445 ± 0.497 | 0.717 ± 0.388 | 1.00 ± 0.00 | 1.12 ± 1.11 | 1.00 ± 0.00 |
| **Anti-Drug Antibody** | | | | | | | | |
| **Day –16[d]** | ND | ND | ND | ND | 1 | ND | ND | ND |
| **Day 85[d]** | ND | ND | 2 | 3 | ND | ND | ND | ND |

F, female; M, male; NC, not calculated; ND, not detected; NE, not examined.
[a] N=4
[b] N=2
[c] N=3
[d] Number of animals showed reactive positive for anti-drug antibody.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Abnormal skin color (black)** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 5 | 5 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 113 | 218 | 315 | 208 |
| **Eruption** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 0 |
| **Excoriation (knee)** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| **Erosion (inguina)** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| **Crust (inguina)** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

F, female; M, male.
[a] Number of days the abnormal clinical sign was shown at least once per day throughout the dosing period.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Incomplete eyelid opening** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 54 |
| **Abnormal gait (right hindleg)** | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Total No. of frequency[a]** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 |
| **Body Weight (kg)　　Day 7** | 3.433 | 3.100 | 3.530 | 3.150 | 3.684 | 3.068 | 3.608 | 2.840 |
| | *3.05* | *3.48* | *2.69* [−] | *2.79* | *4.79* | *3.33* | *4.55* | *2.92* |
| | *3.33* | *2.86* | *3.86* | *2.92* | *3.02* | *2.90* | *3.51* [−] | *2.82* |
| | *3.92* | *2.96* | *4.04* | *3.74* | *3.08* | *2.81* | *4.36* | *3.06* |
| | | | | | *3.13* | *2.90* | *2.82* | *2.84* [−] |
| | | | | | *4.40* | *3.40* | *2.80* [−] | *2.56* |
| **Day 14** | 3.463 | 3.113 | 3.553 | 3.097 | 3.736 | 3.110 | 3.648 | 2.882 |
| | *3.08* | *3.52* | *2.67* [−] | *2.76* | *4.80* | *3.38* | *4.57* | *2.94* |
| | *3.38* | *2.85* | *3.88* | *2.88* | *3.07* | *2.88* | *3.64* | *2.86* |
| | *3.93* | *2.97* | *4.11* | *3.65* | *3.22* | *2.84* | *4.48* | *3.13* |
| | | | | | *3.13* | *3.01* | *2.79* | *2.88* |
| | | | | | *4.46* | *3.44* | *2.76* [−] | *2.60* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decreased (defined as a greater than 5% decrease from the value on Day −1).
[a] Number of days the abnormal clinical sign was shown at least once per day throughout the dosing period.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Body Weight (kg)** **Day 28** | 3.537 | 3.157 | 3.673 | 3.217 | 3.756 | 3.120 | 3.554 | 2.850 |
| | *3.13* | *3.58* | *2.90* | *2.95* | *4.99* | *3.42* | *4.48* | *2.94* |
| | *3.44* | *2.87* | *3.94* | *2.96* | *3.03* | *2.91* | *3.50* [−] | *2.91* |
| | *4.04* | *3.02* | *4.18* | *3.74* | *3.21* | *2.87* | *4.34* | *3.03* |
| | | | | | *3.12* | *2.97* | *2.73* | *2.83* [−] |
| | | | | | *4.43* | *3.43* | *2.72* [−] | *2.54* [−] |
| **Day 35** | 3.577 | 3.163 | 3.687 | 3.260 | 3.770 | 3.162 | 3.604 | 2.928 |
| | *3.15* | *3.60* | *2.77* | *2.97* | *5.06* | *3.47* | *4.55* | *3.04* |
| | *3.51* | *2.87* | *3.96* | *3.08* | *2.97* | *2.90* | *3.57* | *2.93* |
| | *4.07* | *3.02* | *4.33* | *3.73* | *3.19* | *2.89* | *4.40* | *3.20* |
| | | | | | *3.09* [−] | *3.04* | *2.71* [−] | *2.89* |
| | | | | | *4.54* | *3.51* | *2.79* [−] | *2.58* |
| **Day 42** | 3.560 | 3.133 | 3.770 | 3.233 | 3.830 | 3.136 | 3.600 | 2.948 |
| | *3.20* | *3.59* | *2.85* | *2.97* | *5.10* | *3.38* | *4.50* | *2.96* |
| | *3.50* | *2.85* | *4.02* | *3.01* | *3.07* | *2.85* | *3.67* | *2.97* |
| | *3.98* | *2.96* | *4.44* | *3.72* | *3.32* | *2.85* | *4.42* | *3.19* |
| | | | | | *3.08* [−] | *3.11* | *2.57* [−] | *2.96* |
| | | | | | *4.58* | *3.49* | *2.84* [−] | *2.66* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decreased (defined as a greater than 5% decrease from the value on Day −1).

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Body Weight (kg)** **Day 49** | 3.573 | 3.150 | 3.720 | 3.243 | 3.766 | 3.132 | 3.540 | 2.866 |
| | *3.16* | *3.56* | *2.85* | *2.98* | *5.06* | *3.41* | *4.41* | *2.97* |
| | *3.54* | *2.88* | *3.98* | *2.99* | *3.03* | *2.86* | *3.49* [−] | *2.93* |
| | *4.02* | *3.01* | *4.33* | *3.76* | *3.24* | *2.91* | *4.34* | *3.12* |
| | | | | | *3.01* [−] | *3.04* | *2.73* | *2.74* [−] |
| | | | | | *4.49* | *3.44* | *2.73* [−] | *2.57* |
| **Day 56** | 3.607 | 3.237 | 3.830 | 3.347 | 3.840 | 3.218 | 3.614 | 2.980 |
| | *3.23* | *3.67* | *3.01* | *3.07* | *5.08* | *3.57* | *4.36* [−] | *3.03* |
| | *3.58* | *2.95* | *4.07* | *3.11* | *3.18* | *2.90* | *3.62* | *2.98* |
| | *4.01* | *3.09* | *4.41* | *3.86* | *3.37* | *2.95* | *4.42* | *3.26* |
| | | | | | *3.01* [−] | *3.11* | *2.87* | *2.92* |
| | | | | | *4.56* | *3.56* | *2.80* [−] | *2.71* |
| **Day 63** | 3.630 | 3.250 | 3.833 | 3.330 | 3.832 | 3.228 | 3.614 | 3.052 |
| | *3.31* | *3.72* | *2.87* | *3.05* | *5.04* | *3.61* | *4.30* [−] | *3.04* |
| | *3.58* | *2.94* | *4.05* | *3.09* | *3.12* | *2.92* | *3.70* | *3.05* |
| | *4.00* | *3.09* | *4.58* | *3.85* | *3.41* | *2.95* | *4.42* | *3.34* |
| | | | | | *2.98* [−] | *3.10* | *2.83* | *3.08* |
| | | | | | *4.61* | *3.56* | *2.82* [−] | *2.75* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decreased (defined as a greater than 5% decrease from the value on Day −1).

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Body Weight (kg)** **Day 70** | 3.673 | 3.260 | 3.877 | 3.320 | 3.830 | 3.198 | 3.522 | 2.854 |
| | *3.34* | *3.73* | *3.02* | *3.04* | *5.11* | *3.49* | *4.29* [−] | *3.08* |
| | *3.60* | *3.01* | *4.11* | *3.01* | *3.15* | *2.96* | *3.41* [−] | *2.78* [−] |
| | *4.08* | *3.04* | *4.50* | *3.91* | *3.31* | *2.95* | *4.38* | *3.16* |
| | | | | | *3.10* [−] | *3.18* | *2.82* | *2.74* [−] |
| | | | | | *4.48* | *3.41* | *2.71* [−] | *2.51* [−] |
| **Day 77** | 3.673 | 3.227 | 3.857 | 3.303 | 3.902 | 3.112 | 3.610 | 2.916 |
| | *3.44* | *3.70* | *2.99* | *3.07* | *5.19* | *3.44* | *4.25* [−] | *3.01* |
| | *3.53* | *2.90* | *4.17* | *3.02* | *3.23* | *2.79* [−] | *3.57* | *2.93* |
| | *4.05* | *3.08* | *4.41* | *3.82* | *3.49* | *2.84* | *4.47* | *3.23* |
| | | | | | *3.01* [−] | *3.02* | *2.92* | *2.79* [−] |
| | | | | | *4.59* | *3.47* | *2.84* [−] | *2.62* |
| **Day 84** | 3.630 | 3.293 | 3.827 | 3.397 | 3.854 | 3.240 | 3.576 | 3.020 |
| | *3.46* | *3.78* | *2.90* | *3.13* | *5.14* | *3.60* | *4.18* [−] | *3.05* |
| | *3.46* | *2.98* | *4.13* | *3.10* | *3.14* | *2.87* | *3.61* | *3.01* |
| | *3.97* | *3.12* | *4.45* | *3.96* | *3.45* | *2.98* | *4.38* | *3.37* |
| | | | | | *2.95* [−] | *3.16* | *2.88* | *2.96* |
| | | | | | *4.59* | *3.59* | *2.83* [−] | *2.71* |
| **Body Weight (Δ%[a])** **Day 84** | 3.630 kg | 3.293 kg | +5 | +3 | +6 | -2 | -1 | -8 |
| **Food Consumption (Δ%[a])** **Day 85** | 108.0 g | 108.0 g | 0 | -26 | 0 | 0 | -11 | -3 |

F, female; M, male.  Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decreased (defined as a greater than 5% decrease from the value on Day −1).
[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Ophthalmology Day 69** | | | | | | | | |
| **Gross ophthalmological examination** | | | | | | | | |
| **Corneal pigmentation, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 2 |
| **Corneal pigmentation, unilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Slit-lamp examination** | | | | | | | | |
| **Corneal pigmentation, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 5 |
| **Electrocardiography** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **CT Examination** | | | | | | | | |
| **Day 21** | | | | | | | | |
| **Consolidation shadows, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Consolidation shadows, unilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| **Day 42** | | | | | | | | |
| **Consolidation shadows, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Day 63** | | | | | | | | |
| **Consolidation shadows, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Day 86** | | | | | | | | |
| **Consolidation shadows, bilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Reticular shadows, unilateral** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | |
| **Blood Gas Analysis** | | | | | | | | | |
| **Oxygen partial pressure (mmHg)** | **Day 42** | 92.3 | 88.0 | 88.7 | 89.3 | 84.0 | 88.6 | 84.4 | *91.2* |
| | | *92* | *87* | *85* | *88* | *77* [−] | *85* | *90* | *96* |
| | | *96* | *90* | *88* | *90* | *89* | *91* | *83* | *91* |
| | | *89* | *87* | *93* | *90* | *85* | *84* | *88* | *99* |
| | | | | | | *87* | *92* | *79* [−] | *84* |
| | | | | | | *82* | *91* | *82* | *86* |
| **Oxygen partial pressure (mmHg)** | **Day 63** | 89.3 | 93.0 | 87.3 | 92.0 | 83.6 | 95.0 | 85.6 | 94.6 |
| | | *92* | *96* | *88* | *94* | *66* [−] | *94* | *89* | *104* |
| | | *90* | *93* | *86* | *85* | *90* | *94* | *82* | *96* |
| | | *86* | *90* | *88* | *97* | *84* | *97* | *87* | *89* |
| | | | | | | *86* | *96* | *84* | *93* |
| | | | | | | *92* | *94* | *86* | *91* |
| **Oxygen partial pressure (mmHg)** | **Day 86** | 93.0 | 91.0 | 88.7 | 87.0 | 80.6* | 91.6 | 83.6 | 93.4 |
| | | *90* | *93* | *90* | *89* | *69* [−] | *92* | *86* | *101* |
| | | *90* | *88* | *90* | *77* [−] | *92* | *86* | *84* | *87* |
| | | *99* | *92* | *86* | *95* | *84* | *85* | *90* | *99* |
| | | | | | | *80* | *106* | *75* [−] | *94* |
| | | | | | | *78* [−] | *89* | *83* | *86* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the individual values at pre-dosing and the range of the control group.
*$P$ <0.05: Significantly different from control (Dunnett's test)

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Blood Gas Analysis** | | | | | | | | |
| **Hemoglobin oxygen saturation (%) Day 63** | 98.0 | 98.0 | 98.0 | 98.0 | 97.0 | 97.8 | 97.4 | 98.0 |
| | *98* | *98* | *98* | *98* | *95* [−] | *98* | *98* | *98* |
| | *98* | *98* | *98* | *98* | *98* | *98* | *97* | *98* |
| | *98* | *98* | *98* | *98* | *96* | *98* | *97* | *98* |
| | | | | | *98* | *98* | *97* | *98* |
| | | | | | *98* | *97* | *98* | *98* |
| **Hemoglobin oxygen saturation (%) Day 86** | 97.3 | 98.0 | 97.7 | 97.7 | 96.0 | 97.8 | 97.0 | 97.8 |
| | *97* | *98* | *98* | *98* | *95* [−] | *98* | *98* | *98* |
| | *97* | *98* | *98* | *97* | *98* | *98* | *97* | *97* |
| | *98* | *98* | *97* | *98* | *93* [−] | *97* | *97* | *98* |
| | | | | | *97* | *98* | *96* | *98* |
| | | | | | *97* | *98* | *97* | *98* |
| **Urinalysis** | | | | | | | | |
| **pH Day 65** | | | | | | | | |
| | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* |
| | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *7* [−] | *8.5* | *5.5* [−] | *8.5* |
| | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* |
| | | | | | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *7* [−] |
| | | | | | *8.5* | *8.5* | *8.5* | *8.5* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the individual values at pre-dosing and the range of the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Urinalysis** | | | | | | | | |
| **Ketone bodies Day 65** | | | | | | | | |
| | *0* | *0* | *0* | *0* | *0* | *0* | *0* | *0* |
| | *0* | *0* | *0* | *0* | *2* [+] | *0* | *4* [+] | *2* [+] |
| | *0* | *0* | *0* | *0* | *1* | *0* | *0* | *0* |
| | | | | | *0* | *0* | *0* | *3* [+] |
| | | | | | *0* | *2* [+] | *0* | *0* |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| **RBC ($10^6$/μL) Day 86** | 5.510 | 5.237 | 5.513 | 5.303 | 5.698 | 5.000 | 5.086 | 4.766 |
| | *5.22* | *5.27* | *5.33* | *5.21* | *6.52* | *5.33* | *5.28* | *4.33* [−] |
| | *6.24* | *5.04* | *5.83* | *5.06* | *5.25* | *4.93* | *4.88* | *5.33* |
| | *5.07* | *5.40* | *5.38* | *5.64* | *6.06* | *5.02* | *5.24* | *4.94* |
| | | | | | *5.42* | *4.99* | *4.95* | *4.80* |
| | | | | | *5.24* | *4.73* | *5.08* | *4.33* [−] |
| **Hb (g/dL) Day 86** | 12.63 | 12.40 | 12.77 | 12.93 | 13.42 | 11.96 | 12.38 | 11.56 |
| | *12.9* | *11.7* | *12.2* | *12.8* | *15.5* | *12.7* | *13.3* | *10.7* [−] |
| | *13.0* | *12.1* | *13.0* | *12.6* | *12.9* | *11.9* | *11.6* | *12.5* |
| | *12.0* | *13.4* | *13.1* | *13.4* | *13.7* | *12.1* | *13.0* | *12.7* |
| | | | | | *12.4* | *11.7* | *12.7* | *11.0* |
| | | | | | *12.6* | *11.4* | *11.3* | *10.9* [−] |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing, [−]: Decrease when compared with the individual values at pre-dosing and the range of the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| **Ht (%) Day 86** | 40.63 | 39.43 | 41.17 | 41.50 | 43.60 | 38.48 | 40.96 | 37.78 |
| | *42.2* | *38.0* | *39.8* | *40.9* | *48.5* | *41.9* | *43.0* | *35.9* [−] |
| | *41.4* | *37.9* | *43.2* | *40.9* | *41.4* | *37.0* | *38.3* | *40.9* |
| | *38.3* | *42.4* | *40.5* | *42.7* | *46.5* | *38.2* | *42.5* | *40.0* |
| | | | | | *40.3* | *37.8* | *41.4* | *36.6* |
| | | | | | *41.3* | *37.5* | *39.6* | *35.5* [−] |
| **Ret (%) Day 86** | 0.80 | 1.07 | 0.90 | 0.90 | 1.06 | 0.86 | 1.40 | 1.86 |
| | *1.0* | *1.0* | *1.0* | *0.8* | *0.8* | *1.3* | *1.3* | *2.5* [+] |
| | *0.9* | *1.2* | *1.0* | *1.1* | *1.3* | *0.6* | *1.8* | *2.0* |
| | *0.5* | *1.0* | *0.7* | *0.8* | *1.6* | *0.8* | *0.8* | *0.8* |
| | | | | | *0.9* | *0.7* | *1.2* | *1.8* |
| | | | | | *0.7* | *0.9* | *1.9* | *2.2* [+] |
| **PLT ($10^3$/μL) Day 67** | 331.7 | 440.3 | 339.0 | 342.0 | 378.8 | 411.0 | 406.8 | 442.8 |
| | *326* | *442* | *269* | *231* [−] | *302* | *540* | *358* | *391* |
| | *379* | *385* | *385* | *415* | *411* | *335* | *481* | *534* |
| | *290* | *494* | *363* | *380* | *427* | *402* | *423* | *389* |
| | | | | | *420* | *370* | *344* | *520* |
| | | | | | *334* | *408* | *428* | *380* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the individual values at pre-dosing; [+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| **PLT ($10^3$/μL)　　Day 86** | 351.7 | 473.0 | 295.0 | 273.3 | 395.6 | 397.0 | 438.2 | 491.0 |
| | *324* | *529* | *121* [−] | *131* [−] | *380* | *496* | *375* | *601* |
| | *397* | *420* | *406* | *343* | *394* | *309* | *519* | *676* |
| | *334* | *470* | *358* | *346* | *364* | *402* | *439* | *434* |
| | | | | | *460* | *345* | *343* | *394* |
| | | | | | *380* | *433* | *515* | *350* |
| **Necropsy (No. examined)** | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) |
| **Skin** | | | | | | | | |
| **Black discoloration** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 |
| **Red discoloration** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Excoriation** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Crust** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Lung** | | | | | | | | |
| **Brown focus** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Red focus** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Hip joint, right** | | | | | | | | |
| **Thickening, articular capsule** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Axillary lymph node, right** | | | | | | | | |
| **Enlargement** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[−]: Decrease when compared with the individual values at pre-dosing.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Organ Weight (Absolute)** | | | | | | | | |
| **Lung (Δ%[a])** | 18.17 g | 17.40 g | +2 | +6 | +32 | −8 | +20 | −10 |
| | *15.6* | *17.3* | *15.1* | *17.9* | *38.5* [+] | *19.1* | *21.4* | *14.7* |
| | *17.4* | *20.0* | *21.1* | *18.3* | *13.9* | *14.1* | *18.7* | *15.7* |
| | *21.5* | *14.9* | *19.2* | *19.3* | *19.6* | *14.9* | *25.1* | *16.5* |
| **Organ Weight (Relative)** | | | | | | | | |
| **Lung (Δ%[a])** | 4.960 g/kg | 5.527 g/kg | −2 | +2 | +19 | −7 | +8 | −2 |
| | *4.55* | *4.61* | *5.12* | *6.03* | *7.43* [+] | *5.25* | *5.06* | *4.85* |
| | *5.00* | *6.97* | *5.12* | *5.98* | *4.47* | *4.93* | *5.31* | *5.22* |
| | *5.33* | *5.00* | *4.30* | *4.97* | *5.87* | *5.16* | *5.72* | *6.20* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared to the range of the control background data.
[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from controls are shown.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Duodenum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelium, crypt** | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| **Ileum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelium, crypt** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 |
| **Jejunum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelium, crypt** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| **Skin (cubital fossa, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | NE |
| **Skin (back, interscapular)** | | | | | | | | |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Skin (forearm, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (2) | (2) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | 2 | 2 | 2 |
| **Skin (popliteal, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (1) | (1) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | 1 | 1 |
| **Skin (popliteal, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Skin (sural, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (2) | (3) |
| **Erosion** | NE | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 |
| **Infiltrate, inflammatory cell, epidermis/dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | 2 | 3 |
| **Skin (thoracic, left)** | | | | | | | | |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Skin (axillary, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Erosion** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Infiltrate, inflammatory cell, epidermis/dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Skin (inguinal, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Crust** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Infiltrate, inflammatory cell, epidermis/dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Skin (inguinal, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Erosion** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Infiltrate, inflammatory cell, epidermis/dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Skin (knee, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Fibrosis, dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Infiltrate, mononuclear cell, dermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Eyeball (left)** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| **Pigmentation, brown, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| **Atrophy, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Eyeball (right)** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| **Pigmentation, brown, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| **Atrophy, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Vacuolation, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Lung (including bronchus, left)** | | | | | | | | |
| **Aggregation, foamy alveolar macrophage** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Edema, alveolus** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Inflammation, interstitial** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| **Lung (including bronchus, right)** | | | | | | | | |
| **Aggregation, foamy alveolar macrophage** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Inflammation, interstitial** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Lung (anterior lobe, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) |
| **Aggregation, foamy alveolar macrophage** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |
| **Edema, alveolus** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |
| **Hemorrhage, alveolus** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |
| **Inflammation, alveolus/interstitium** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |
| **Thymus** | | | | | | | | |
| **Atrophy** | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| **Kidney (left)** | | | | | | | | |
| **Anisokaryosis, proximal tubule** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Kidney (right)** | | | | | | | | |
| **Anisokaryosis, proximal tubule** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Lymph node (axillary, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Plasma cell infiltration in the medulla** | NE | 0 | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Hip joint (right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Fibrocartilage formation, articular surface** | NE | 0 | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Erosion, articular cartilage** | NE | 0 | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Hyperplasia, synovial cell** | NE | 0 | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Thickening, fibrous, articular capsule** | NE | 0 | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |

F, female; M, male; NE: not examined.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Serum Surfactant Protein D (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 21** | 28.823 | 68.423 | 35.097 | 105.313 | 68.016 | 46.368 | 58.194 | 84.786 |
| | *36.40* | *97.38* | *30.70* | *161.15* [+] | *163.09* [+] | *47.23* | *63.94* | *105.52* |
| | *37.92* | *41.13* | *27.74* | *83.83* | *45.01* | *36.85* | *25.78* | *99.11* |
| | *12.15* | *66.76* | *46.85* | *70.96* | *30.81* | *27.48* | *97.47* | *105.45* |
| | | | | | *56.16* | *77.11* | *62.84* | *68.47* |
| | | | | | *45.01* | *43.17* | *40.94* | *45.38* |
| **Day 42** | 32.367 | 70.047 | 32.840 | 102.000 | 74.656 | 51.124 | 70.466 | 100.356 |
| | *41.82* | *95.93* | *30.55* | *150.23* [+] | *193.26* [+] | *40.71* | *75.40* | *137.79* [+] |
| | *38.58* | *37.87* | *29.39* | *82.96* | *46.16* | *37.70* | *34.69* | *104.46* |
| | *16.70* | *76.34* | *38.58* | *72.81* | *30.29* | *30.37* | *109.10* | *129.60* |
| | | | | | *54.86* | *102.87* | *77.60* | *75.93* |
| | | | | | *48.71* | *43.97* | *55.54* | *54.00* |
| **Day 63** | 31.183 | 61.090 | 26.633 | 84.323 | 75.462 | 47.002 | 53.452 | 89.454 |
| | *55.62* | *84.67* | *20.06* | *118.14* | *227.68* [+] | *39.31* | *54.84* | *143.56* [+] |
| | *26.45* | *34.45* | *25.55* | *70.81* | *42.92* | *38.55* | *26.47* | *80.26* |
| | *11.48* | *64.15* | *34.29* | *64.02* | *19.36* | *29.19* | *68.47* | *94.21* |
| | | | | | *41.66* | *83.99* | *71.14* | *78.95* |
| | | | | | *45.69* | *43.97* | *46.34* | *50.29* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing and the range of values in the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Serum Surfactant Protein D (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 64** | | | | | | | | |
| **Pre-dosing** | 31.357 | 69.157 | 32.593 | 98.763 | 78.036 | 53.404 | 58.078 | 94.630 |
| | *53.93* | *97.39* | *27.72* | *149.10* [+] | *212.20* [+] | *47.76* | *79.92* | *131.98* |
| | *28.11* | *43.71* | *30.03* | *75.05* | *53.95* | *37.41* | *28.27* | *104.05* |
| | *12.03* | *66.37* | *40.03* | *72.14* | *25.17* | *32.10* | *79.10* | *107.00* |
| | | | | | *48.15* | *97.38* | *55.81* | *71.50* |
| | | | | | *50.71* | *52.37* | *47.29* | *58.62* |
| **1 h after the end of dosing** | 29.773 | 60.547 | 28.150 | 73.453 | 64.356 | 40.494 | 46.764 | 78.232 |
| | *52.32* | *84.51* | *23.10* | *107.52* | *173.41* [+] | *29.67* | *61.71* | *115.44* |
| | *26.48* | *37.96* | *26.16* | *58.72* | *44.68* | *27.15* | *22.24* | *79.17* |
| | *10.52* | *59.17* | *35.19* | *54.12* | *21.01* | *24.45* | *62.76* | *89.41* |
| | | | | | *41.10* | *82.16* | *47.27* | *61.31* |
| | | | | | *41.58* | *39.04* | *39.84* | *45.83* |
| **7 h after the end of dosing** | 24.513 | 51.833 | 26.007 | 71.077 | 69.894 | 44.928 | 53.368 | 80.760 |
| | *43.39* | *67.80* | *18.98* | *109.18* | *206.74* [+] | *41.82* | *67.67* | *121.67* |
| | *21.13* | *32.63* | *25.80* | *58.22* | *42.54* | *30.43* | *23.85* | *86.94* |
| | *9.02* | *55.07* | *33.24* | *45.83* | *17.06* | *26.13* | *72.49* | *88.65* |
| | | | | | *41.63* | *85.54* | *59.96* | *65.21* |
| | | | | | *41.50* | *40.72* | *42.87* | *41.33* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing and the range of values in the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Serum Surfactant Protein D (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 64** | | | | | | | | |
| **24 h after the end of dosing** | 27.417 | 51.340 | 26.347 | 61.537 | 68.168 | 38.346 | 52.338 | 72.086 |
| | *47.48* | *76.57* | *19.41* | *82.31* | *198.22* [+] | *39.83* | *66.97* | *103.40* |
| | *24.04* | *32.86* | *23.86* | *50.15* | *36.77* | *25.57* | *23.86* | *66.27* |
| | *10.73* | *44.59* | *35.77* | *52.15* | *16.04* | *24.38* | *72.34* | *85.11* |
| | | | | | *53.74* | *69.90* | *61.77* | *64.35* |
| | | | | | *36.07* | *32.05* | *36.75* | *41.30* |
| **72 h after the end of dosing** | 16.813 | 54.720 | 22.803 | 67.277 | 75.152 | 46.356 | 48.882 | 82.886 |
| | *21.71* | *90.37* | *20.01* | *97.82* | *265.41* [+] | *47.48* | *77.26* | *123.19* |
| | *18.76* | *30.65* | *30.57* | *52.37* | *32.06* | *35.87* | *21.75* | *82.65* |
| | *9.97* | *43.14* | *17.83* | *51.64* | *14.80* | *26.10* | *94.69* | *95.39* |
| | | | | | *23.83* | *84.05* | *31.16* | *65.34* |
| | | | | | *39.66* | *38.28* | *19.55* | *47.86* |
| **168 h after the end of dosing** | 25.373 | 63.927 | 28.257 | 88.997 | 48.246 | 45.702 | 39.562 | 78.236 |
| | *38.18* | *114.51* | *22.75* | *140.48* | *131.26* [+] | *33.13* | *43.03* | *122.95* |
| | *27.27* | *30.75* | *26.46* | *64.02* | *22.61* | *33.45* | *35.72* | *66.93* |
| | *10.67* | *46.52* | *35.56* | *62.49* | *25.20* | *24.20* | *51.19* | *84.70* |
| | | | | | *37.61* | *92.03* | *41.42* | *74.16* |
| | | | | | *24.55* | *45.70* | *26.45* | *42.44* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing and the range of values in the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Serum Surfactant Protein D (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 64** | | | | | | | | |
| **504 h after the end of dosing** | 29.160 | 64.587 | 28.743 | 110.300 | 64.612 | 53.164 | 59.578 | 111.746 |
| | *36.94* | *80.47* | *23.02* | *160.06* [+] | *145.57* [+] | *53.23* | *57.90* | *172.47* [+] |
| | *40.53* | *47.99* | *26.77* | *87.92* | *44.42* | *40.37* | *31.02* | *119.51* |
| | *10.01* | *65.30* | *36.44* | *82.92* | *21.56* | *31.50* | *84.94* | *133.08* |
| | | | | | *57.74* | *102.88* | *70.38* | *81.98* |
| | | | | | *53.77* | *37.84* | *53.65* | *51.69* |
| **Day 86 (day of necropsy)** | 25.350 | 65.220 | 28.597 | 104.023 | 60.362 | 49.582 | 56.516 | 108.914 |
| | *33.41* | *84.92* | *24.53* | *147.49* [+] | *135.08* [+] | *48.01* | *54.03* | *151.20* [+] |
| | *33.18* | *43.43* | *26.61* | *80.63* | *42.66* | *35.18* | *30.55* | *116.74* |
| | *9.46* | *67.31* | *34.65* | *83.95* | *21.37* | *29.15* | *83.94* | *142.55* |
| | | | | | *52.81* | *93.32* | *66.54* | *85.13* |
| | | | | | *49.89* | *42.25* | *47.52* | *48.95* |

F, female; M, male.
Individual values were expressed in italic font.
[+]: Increase when compared with the individual values at pre-dosing and the range of values in the control group.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 | M:2 | F:2 |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **Dato-DXd (µg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | NE | NE | *2.25* | *2.59* | *164* | *86.5* |
| | NE | NE | NE | NE | *24.3* | *6.40* | *42.6* | *94.4* |
| **Day 57** | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.0227* | *0.0233* |
| | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.0103* | *0.0237* |
| **Total anti-TROP2 antibody (µg/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | NE | NE | *3.59* | *3.84* | *216* | *116* |
| | NE | NE | NE | NE | *34.3* | *9.17* | *57.4* | *130* |
| **Day 57** | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.111* | *0.0664* |
| | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.0195* | *0.0736* |
| **DXd (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 22** | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.137* | *BLQ* |
| | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *0.109* | *BLQ* |
| **Day 57** | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *BLQ* | *BLQ* |
| | NE | NE | NE | NE | *BLQ* | *BLQ* | *BLQ* | *BLQ* |
| **Anti-Drug Antibody** | | | | | | | | |
| **No. of animals showed positive (Day 57)** | NE | NE | NE | NE | 2 | 2 | ND | ND |

F, female; M, male; ND, not detected; NE, not examined; BLQ, below the lower limit of quantification (< 0.0100 µg/mL for Dato-DXd and total anti-TROP2 antibody, < 0.100 ng/mL for DXd).
Individual values were expressed in italic font.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 | M:2 | F:2 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Abnormal skin color**[a] | | | | | | | | |
| **Animals with the findings** | NE | NE | NE | NE | 2 | 2 | 2 | 2 |
| **Total No. of frequency (days)**[b] | NE | NE | NE | NE | 57 | 57 | 57 | 57 |
| **Body Weight (kg)** **Day 55 (Individual)** | NE | NE | NE | NE | *3.23* | *3.06* | *3.16* | *3.63* |
| | NE | NE | NE | NE | *4.76* | *3.78* | *3.14* | *3.42* |
| **Food Consumption (g)** **Day 56 (Individual)** | NE | NE | NE | NE | *108* | *102* | *108* | *108* |
| | NE | NE | NE | NE | *108* | *108* | *108* | *108* |

F, female; M, male; NE, not examined.
Individual values were expressed in italic font.
[a] Black; nose, cervix, shoulder, forelegs, chest, lower abdomen, and/or hindlegs
[b] Number of days that the abnormal clinical sign was shown at least once per day throughout the recovery period (minimum to maximum).

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 | M:2 | F:2 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Ophthalmology Day 51** | | | | | | | | |
| **Gross ophthalmological examination** | | | | | | | | |
| **Corneal pigmentation, bilateral** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Slit-lamp examination** | | | | | | | | |
| **Corneal pigmentation, bilateral** | NE | NE | NE | NE | 1 | 1 | 2 | 2 |
| **CT Examination** | | | | | | | | |
| **Day 27** | | | | | | | | |
| **Reticular shadow, unilateral** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Day 55** | | | | | | | | |
| **Reticular shadow, unilateral** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Blood Gas Analysis** | NE | NE | NE | NE | - | - | - | - |
| **Hematology** | NE | NE | NE | NE | - | - | - | - |
| **Blood Chemistry** | NE | NE | NE | NE | - | - | - | - |
| **Necropsy** | | | | | | | | |
| **Skin** | | | | | | | | |
| **Black discoloration** | NE | NE | NE | NE | 2 | 2 | 2 | 2 |
| **Organ Weight** | NE | NE | NE | NE | - | - | - | - |

F, female; M, male; NE, not examined, -, no noteworthy findings.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 | M:2 | F:2 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Skin (back, interscapular)** | | | | | | | | |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 2 | 0 |
| **Skin (forearm, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (2) | (2) | (2) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | 1 | 2 | 2 | 2 |
| **Skin (forearm, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 |
| **Skin (popliteal, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (1) | (2) | (0) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | 1 | 1 | 2 | NE |
| **Skin (knee, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (1) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | 1 |
| **Skin (shin, left, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |
| **Skin (shin, right, gross lesion)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) |
| **Pigmentation, brown, epidermis** | NE | NE | NE | NE | 1 | NE | NE | NE |

F, female; M, male; NE, not examined.

| **7.2. Monkey 3-Month Repeated Dose Toxicity** | | | **Attachment No. 4.2.3.2-3** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 10 | | 30 | | 80 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 | M:2 | F:2 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Eyeball (left)** | | | | | | | | |
| **Pigmentation, brown, corneal epithelium** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Eyeball (right)** | | | | | | | | |
| **Pigmentation, brown, corneal epithelium** | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Lung (areas with findings in chest CT scan)** (No. examined) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| **Aggregation, foamy alveolar macrophage** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | NE |
| **Hemorrhage, alveolus** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | NE |
| **inflammation, alveolus/interstitium** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | NE |

F, female; M, male; NE, not examined.

# 8. In Vitro 遺伝毒性試験

## 8.1 DXd（一水和物）の細菌を用いた復帰突然変異試験

| **Report Title: Bacterial Reverse Mutation Study of DXd monohydrate** | | **Test Article: DXd** |
|---|---|---|
| **Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells** | **No. of Independent Assays: 2** | **Attachment No.: 4.2.3.3.1-1** |
| **Strains: *S. typhimurium* and *E. coli*** | **No. of Replicate Cultures: 3** | **Location in CTD: 4.2.3.3.1** |
| **Metabolizing System: Phenobarbital and 5,6-Benzoflavone induced rat liver S9, 7.1%** | | **GLP Compliance: Yes** |
| **Vehicle of Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)** | **Vehicle of Positive Controls: Water for injection and DMSO** | **Date of Treatment: [redacted] and [redacted], 20[redacted]** |
| **Treatment: Pre-incubation method** | | |
| **Special Features: None** | | |
| **Cytotoxic Effects: None** | | |
| **Genotoxic Effects: None** | | |

| **8.1. Bacterial Reverse Mutation Study of DXd Monohydrate** | | | **Attachment No. 4.2.3.3.1-1** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Metabolic Activation | Test Article | Dose[a] (μg/plate) | Assay #1 | | | | |
| | | | No. of Revertant Colonies/plate (Mean) | | | | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| Without activation | Vehicle | 0 | 108 | 8 | 16 | 20 | 4 |
| | DXd monohydrate | 1.5 | 103 | 7 | 19 | 22 | 4 |
| | | 5 | 103 | 7 | 15 | 20 | 3 |
| | | 15 | 116 | 9 | 19 | 20 | 4 |
| | | 50 | 106 | 7 | 19 | 21 | 5 |
| | | 150 | 104 | 7 | 16 | 20 | 4 |
| | | 500 | 107 | 7 | 14 | 18 | 6 |
| | | 1500[b] | 101 | 6 | 15 | 21 | 5 |
| | | 5000[b] | 91 | 4 | 14 | 14 | 6 |
| | Positive control[c] | | 698* | 275* | 346* | 166* | 265* |
| With activation | Vehicle | 0 | 97 | 10 | 21 | 29 | 5 |
| | DXd monohydrate | 1.5 | 103 | 9 | 19 | 30 | 5 |
| | | 5 | 112 | 9 | 19 | 29 | 8 |
| | | 15 | 110 | 7 | 20 | 26 | 6 |
| | | 50 | 117 | 7 | 20 | 28 | 5 |
| | | 150 | 108 | 8 | 18 | 27 | 8 |
| | | 500[b] | 112 | 7 | 19 | 28 | 8 |
| | | 1500[b] | 116 | 7 | 20 | 31 | 5 |
| | | 5000[b] | 128 | 9 | 20 | 28 | 7 |
| | Positive control[d] | | 709* | 227* | 375* | 562* | 169* |

Assay #1: Dose range-finding test (vs vehicle control) *: The value was more than twice higher than that in the vehicle control.

[a] Calculated as DXd

[b] Precipitation was observed on the plates after incubation for 48 hours.

[c] TA100: 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO, 0.1 μg/plate), TA1535: Sodium azide (0.5 μg/plate), WP2*uvrA*: 4NQO (0.2 μg/plate), TA98: 4NQO (0.2 μg/plate), TA1537: 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate (80 μg/plate)

[d] TA100: 2-Aminoanthracene (2AA, 1 μg/plate), TA1535: 2AA (2 μg/plate), WP2*uvrA*: 2AA (10 μg/plate), TA98: 2AA (0.5 μg/plate), TA1537: 2AA (2 μg/plate)

| **8.1. Bacterial Reverse Mutation Study of DXd Monohydrate** | | | **Attachment No. 4.2.3.3.1-1** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Metabolic Activation | Test Article | Dose[a] (μg/plate) | Assay #2 | | | | |
| | | | No. of Revertant Colonies/plate (Mean) | | | | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| Without activation | Vehicle | 0 | 94 | 7 | 17 | 21 | 6 |
| | DXd monohydrate | 313 | 106 | 6 | 16 | 26 | 5 |
| | | 625[b] | 104 | 6 | 13 | 17 | 5 |
| | | 1250[b] | 88 | 6 | 15 | 22 | 5 |
| | | 2500[b] | 98 | 7 | 14 | 15 | 4 |
| | | 5000[b] | 80 | 5 | 13 | 16 | 4 |
| | Positive control[c] | | 696* | 318* | 283* | 163* | 416* |
| With activation | Vehicle | 0 | 97 | 7 | 24 | 32 | 8 |
| | DXd monohydrate | 313 | 104 | 6 | 20 | 26 | 9 |
| | | 625[b] | 113 | 9 | 17 | 30 | 8 |
| | | 1250[b] | 109 | 8 | 18 | 30 | 7 |
| | | 2500[b] | 115 | 7 | 13 | 28 | 5 |
| | | 5000[b] | 117 | 9 | 18 | 25 | 5 |
| | Positive control[d] | | 689* | 243* | 283* | 585* | 168* |

Assay #2: Main test (vs vehicle control) *: The value was more than twice higher than that in the vehicle control.

[a] Calculated as DXd

[b] Precipitation was observed on the plates after incubation for 48 hours.

[c] TA100: 4NQO, 0.1 μg/plate, TA1535: Sodium azide (0.5 μg/plate), WP2*uvrA*: 4NQO (0.2 μg/plate), TA98: 4NQO (0.2 μg/plate), TA1537: 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate (80 μg/plate)

[d] TA100: 2AA, 1 μg/plate, TA1535: 2AA (2 μg/plate), WP2*uvrA*: 2AA (10 μg/plate), TA98: 2AA (0.5 μg/plate), TA1537: 2AA (2 μg/plate)

## 8.2　DXd（一水和物）の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title: Chromosome Aberration Study of DXd Monohydrate with Mammalian Cultured Cells** | | **Test Article: DXd monohydrate** |
| **Test for Induction of: Chromosome aberration** | **No. of Independent Assays: 1** | **Attachment No.: 4.2.3.3.1-2** |
| **Strains: Chinese Hamster Lung (CHL/IU) cells** | **No. of Replicate Cultures: 2** | **Location in CTD: 4.2.3.3.1** |
| **Metabolizing System: PB and BF induced rat liver S9, 5%** | **No. of Cells Analyzed/Culture: 150** | |
| **Vehicle of Test Article: Dimethyl sulfoxide** | **Vehicle of Positive Controls: Water for injection and physiological saline** | **GLP Compliance: Yes** |
| **Treatment: Short-term treatment for 6 h with and without S9; continuous treatment for 24 h without S9** | | **Date of Treatment: [redacted], 20[redacted]** |
| **Special Features: None** | | |
| **Cytotoxic Effects: Cytotoxic effect was observed in each treatment.** | | |
| **Genotoxic Effects: DXd caused statistically significant dose-dependent increase in the number of cells with structural chromosome aberrations in all treatment conditions, when compared with that in the negative control group.** | | |

| Treatment Time (h) | Metabolic Activation | Test Article | Dose (μg/mL)[a] | Relative Cell No. (%) | Aberrant Cell No. (%) | Polyploid Cell No. (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | Without Activation | Vehicle | 0 | 100 | 0.0 | 0.0 |
| | | DXd monohydrate | 0.05 | 98.2 | 0.0 | 0.3 |
| | | | 0.1 | 98.5 | 3.3* | 0.0 |
| | | | 0.2 | 71.3 | 16.7* | 0.0 |
| | | | 0.3 | 59.6 | NE | NE |
| | | | 0.4 | 57.1 | 20.0* | 0.0 |
| | | | 0.5 | 38.2 | NE | NE |
| | | | 0.8 | 40.7 | NE | NE |
| | | | 1 | 32.4 | NE | NE |
| | | Positive control[b] | 0.15 | 68.4 | 15.3 | 0.0 |

PB/BF, Phenobarbital/5, 6-benzoflavone; NE, not examined, * A statistically significant increase compared with vehicle control by the Fisher's exact test ($P < 0.05$, two-tailed)
[a] Calculated as DXd, [b] Mitomycin C
The Cochran-Armitage trend test ($P < 0.05$, two-tailed) showed these increase in the incidence of structural aberrations to be dose dependent.

| **8.2. Chromosome Aberration Study of DXd Monohydrate** | | | | **Attachment No.: 4.2.3.3.1-2** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Treatment Time (h) | Metabolic Activation | Test Article | Dose (μg/mL)[a] | Relative Cell No. (%) | Aberrant Cell No. (%) | Polyploid Cell No. (%) |
| 6 | With Activation | Vehicle | 0 | 100 | 0.3 | 0.3 |
| | | DXd monohydrate | 0.05 | 96.9 | 1.0 | 0.3 |
| | | | 0.1 | 103.1 | 10.3* | 0.3 |
| | | | 0.2 | 94.2 | 12.7* | 0.0 |
| | | | 0.4 | 67.3 | 12.3* | 0.7 |
| | | | 0.8 | 61.9 | NE | NE |
| | | | 1 | 52.5 | 14.3* | 1.3 |
| | | | 1.5 | 46.6 | NE | NE |
| | | | 3 | 39.9 | NE | NE |
| | | Positive control[b] | 10 | 78.5 | 16.7 | 0.3 |
| 24 | Without Activation | Vehicle | 0 | 100 | 0.0 | 0.7 |
| | | DXd monohydrate | 0.0125 | 100.0 | 0.7 | 0.0 |
| | | | 0.025 | 106.6 | 3.7* | 0.3 |
| | | | 0.05 | 103.5 | 5.3* | 0.3 |
| | | | 0.075 | 85.7 | NE | NE |
| | | | 0.1 | 73.4 | 19.7* | 0.0 |
| | | | 0.15 | 64.9 | NE | NE |
| | | | 0.2 | 51.0 | 51.3* | 0.0 |
| | | | 0.3 | 46.3 | NE | NE |
| | | Positive control[c] | 0.05 | 80.3 | 12.7 | 0.7 |

NE, not examined.
* A statistically significant increase compared with vehicle control by the Fisher's exact test ($P < 0.05$, two-tailed).
[a] Calculated as DXd
[b] Cyclophosphamide monohydrate
[c] Mitomycin C
The Cochran-Armitage trend test ($P < 0.05$, two-tailed) showed these increase in the incidence of structural aberrations to be dose dependent.

# 9. In Vivo 遺伝毒性試験

## 9.1 DXd（一水和物）静脈内投与後のラットの骨髄を用いた小核試験

| **Report Title: Micronucleus Study in Bone Marrow of Rats Treated Intravenously with DXd monohydrate** | | **Test Article: DXd monohydrate** |
|---|---|---|
| **Test for Induction of: Micronucleated immature erythrocytes in bone marrow** | **Treatment Schedule: Single administration** | **Attachment No. 4.2.3.3.2-1** |
| **Species/Strain: Rats/ Crl:CD(SD)** | **Collection Time: 24 hours after administration** | **Location in CTD: 4.2.3.3.2** |
| **Age: 8 weeks old** | **Method of Administration: Intravenous** | **GLP Compliance: Yes** |
| **Cells Evaluated: Immature erythrocytes** | **Vehicle/Formulation: Physiological saline /Solution** | **Date of Dosing: [redacted], 20[redacted]** |
| **No. of Cells Analyzed/Animal: IE%; 1000, MNIE%; 4000** | | |
| **Special Features: None** | | |
| **Toxic/Cytotoxic Effects: None** | | |
| **Genotoxic Effects: A statistically significant increase in the number of MNIE was observed in the 0.05 mg/kg group and above when compared with the negative control group.** | | |
| **Evidence of Exposure: The exposure of DXd to rats was confirmed because a statistically significant increase in the number of MNIE was observed in the 0.05 mg/kg group and above.** | | |

| **Test Article** | **Dose (mg/kg)** | **No. of Animals** | **IE% (Mean ± standard deviation)** | **Number of MNIEs (/20000IEs)** | **MNIE% (Mean ± standard deviation)** |
|---|---|---|---|---|---|
| Vehicle | 0 | M: 5 | 47.3 ± 4.1 | 37 | 0.19 ± 0.04 |
| DXd monohydrate | 0.025[a] | M: 5 | 46.4 ± 3.7 | 50 | 0.25 ± 0.08 |
| | 0.05[a] | M: 5 | 47.0 ± 0.8 | 68# | 0.34 ± 0.09 |
| | 0.1[a] | M: 5 | 48.6 ± 3.1 | 107# | 0.54 ± 0.10 |
| | 0.2[a] | M: 5 | 42.4 ± 5.2 | 324# | 1.62 ± 0.38 |
| Positive control[b] | 20 | M: 5 | 40.5 ± 5.5 | 488# | 2.44 ± 0.78 |

IE%, proportion of immature erythrocytes to total erythrocytes; M, male; MNIE%, incidence of micronucleated immature erythrocytes.
Statistics (vs vehicle control): # $P<0.01$ (Kastenbaum and Bowman's table, one-tailed)
[a] Calculated as DXd
[b] Preserved positive control specimens prepared in "Preparation of positive control specimens for micronucleus tests in rats (2018)" (Report No.: SBL999-839, cyclophosphamide monohydrate at a dose level of 20 mg/kg orally administered once to rats) were used.

## 10. がん原性試験

ICH S9 に準拠し、Dato-DXd のがん原性は実施していない。

## 11. 生殖発生毒性試験

ICH S9 に準拠し、Dato-DXd の生殖発生毒性試験は実施していない。

## 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

ICH S9 に準拠し、Dato-DXd の生殖発生毒性試験は実施していない。

## 13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

ICH S9 に準拠し、Dato-DXd の生殖発生毒性試験は実施していない。

## 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

ICH S9 に準拠し、生殖発生毒性試験は実施していない。

## 15. 局所刺激性試験

Dato-DXd の局所刺激性試験は実施していない。

# 16. その他の毒性試験

## 16.1 組織交差反応性試験

| | | | Test Article: Dato-DXd | |
|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain** | **Number and Concentration** | **Positive (Specific stained) tissue** | **Negative tissue** | **Attachment No.** |
| Human | 3 separate individuals<br>2, 10 μg/mL | Positive control: BxPC-3 cells (TROP2 strong expression, human pancreatic cancer derived) and FaDu cells (TROP2 strong expression, human pharynx squamous cell carcinoma derived)<br>Plasma membrane of epithelium in urinary bladder (mucosa), breast (glands/ducts), eye (conjunctiva/cornea), Fallopian tube (mucosa), esophagus (mucosa), stomach (mucosa), kidney (tubules/parietal cells), liver (bile ducts), lung (alveolar), pancreas (ducts/acini), placenta (amnion), salivary gland (ducts), skin (epidermis/adnexa), thymus (reticular/Hassall's corpuscles), thyroid (follicles), tonsil (mucosa/crypt), ureter (mucosa), uterus-cervix (mucosa/glands), and uterus-endometrium (glands/myometrium), mesothelium (monolayer of flattened squamous-like epithelial cells) in the Fallopian tube, decidual cells in placenta<br>Cytoplasmic elements of epithelium in urinary bladder (mucosa), breast (glands/ducts), eye (conjunctiva/cornea), Fallopian tube (mucosa), esophagus (mucosa), stomach (mucosa), kidney (tubules/parietal cells), liver (bile ducts), lung (bronchiolar/alveolar), ovary (surface), pancreas (ducts/acini), parathyroid (glands), pituitary (endocrine/Rathke's), placenta (amnion/trophoblast), prostate (glands/ducts), salivary gland (ducts/acini), skin (epidermis/adnexa), thymus (reticular/Hassall's corpuscles), thyroid (follicles), tonsil (mucosa/crypt), ureter (mucosa), uterus-cervix (mucosa/glands), and uterus-endometrium (glands/myometrium), mesothelium in the Fallopian tube, decidual cells in placenta, Schwann cells in peripheral nerve and spinal cord (spinal nerves) | Negative control: Calu-6 cells (TROP2 non-expression, human lung cancer derived)<br>Adrenal, blood cells, bone marrow, brain, large and small intestine, heart, lymph node, spleen, and skeletal muscle, testis | 4.2.3.7.7-1 |

| | | | Test Article: Dato-DXd | |
|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain** | **Number and Concentration** | **Positive (Specific stained) tissue** | **Negative tissue** | **Attachment No.** |
| Cynomolgus monkeys | 3 separate individuals<br>2, 10 μg/mL | Positive control: BxPC-3 cells (TROP2 strong expression, human pancreatic cancer derived), FaDu cells (TROP2 strong expression, human pharynx squamous cell carcinoma derived)<br>Plasma membrane of epithelium in urinary bladder (mucosa), eye (conjunctiva), Fallopian tube (mucosa), esophagus (mucosa), small intestine (mucosa), stomach (mucosa); liver (bile ducts), lung (alveolar), pancreas (ducts/acini), salivary (ducts, acini), skin (epidermis/adnexa), testis (vas deferens), thyroid (follicles), tonsil (mucosa/crypt), ureter (mucosa), uterus-cervix (mucosa/glands), and uterus-endometrium (mucosa/glands).<br>Cytoplasmic elements of epithelium in urinary bladder (mucosa), breast (glands/ducts), eye (conjunctiva), Fallopian tube (mucosa), esophagus (mucosa), small intestine (mucosa), stomach (mucosa), kidney (tubules/parietal cells/pelvic urothelium), liver (bile ducts), lung (bronchiolar/alveolar), ovary (surface), pancreas (ducts/acini), parathyroid (glands/thymopharyngeal duct), pituitary (endocrine), placenta (amnion), prostate (glands/ducts/urethra), salivary (ducts, acini), skin (epidermis/adnexa), testis (vas deferens), thymus (squamous/Hassall's corpuscles/thymopharyngeal), thyroid (follicles), tonsil (mucosa/crypt), ureter (mucosa), uterus-cervix (mucosa), and uterus-endometrium (mucosa/glands), Schwann cells in brain-cerebellum (cranial nerve) and spinal cord (spinal nerves) | Negative control: Calu-6 cells (TROP2 non-expression, human lung cancer derived)<br>Adrenal, blood cells, bone marrow, brain (cerebrum), large intestine, heart, lymph node, peripheral nerve, spleen, and skeletal muscle | 4.2.3.7.7-2 |

## 16.2 DXd（一水和物）のラット 4 週間間歇静脈内投与毒性試験

| **Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Rats Treated Intravenously with DXd Monohydrate[a] Once a Week for 4 Weeks Followed by a 4-week Recovery Period** | | | | | | | **Test Article: DXd monohydrate** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain: Rats/Crl:CD(SD)** | | | **Duration of Dosing: 29 days** | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | |
| **Initial Age: 7 weeks age** | | | **Duration of Postdose: 28 days** | | | | **Location in CTD: 4.2.3.7.7** | |
| **Dates of First Dose: Males: [redacted], 20[redacted]<br>Females: [redacted], 20[redacted]** | | | **Method of Administration: Intravenous (every week)** | | | | **GLP Compliance: Yes** | |
| | | | **Vehicle/Formulation: Physiological saline/Solution** | | | | | |
| **Special Features:**<br>**Dose levels are described as DXd, the free form of DXd (Conversion factor: 0.9648).**<br>**Toxicokinetic study was done on Days 1 and 29 of dosing. Blood collection was done prior to dosing (only Day 29) and 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing.** | | | | | | | | |
| **The severely toxic dose in 10% of the animals ($STD_{10}$):** greater than 30 mg/kg in males and females | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **No. of Animals** | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 | M:4 | F:4 |
| **Toxicokinetics DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 2910 ± 546 | 1440 ± 363 | 14,600 ± 3290 | 7430 ± 3190 | 65,100 ± 12700 | 43,800 ± 8420 |
| **Day 29** | NE | NE | 4420 ± 1340 | 2610 ± 1140 | 13,600 ± 2450 | 12,100 ± 4840 | 59,600 ± 12,800 | 70,200 ± 19,000 |
| **t1/2 (d)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.0373 ± 0.00621 | 0.0250 ± 0.0155 | 0.0518 ± 0.0438 | 0.0440 ± 0.0283 | 0.112 ± 0.0454 | 0.0639 ± 0.0458 |
| **Day 29** | NE | NE | 0.0361± 0.00632 | 0.0350 ± 0.00549 | 0.0609 ± 0.0567 | 0.0312 ± 0.00216 | 0.121 ± 0.0335 | 0.0907 ± 0.0102 |
| **AUC1d (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 27.8 ± 3.08 | 16.6 ± 3.09 | 122 ± 28.8 | 66.9 ± 19.6 | 536 ± 96.5 | 396 ± 58.0 |
| **Day 29** | NE | NE | 42.2 ± 12.6 | 28.9 ± 12.0 | 134 ± 19.6 | 108 ± 39.1 | 520 ± 81.1 | 596 ± 136 |
| **AUCinf (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 27.2 ± 3.52 | 16.2 ± 2.97 | 122 ± 28.7 | 66.9 ± 19.6 | 536 ± 96.5 | 396 ± 57.9 |
| **Day 29** | NE | NE | 42 ± 12.7 | 28.8 ± 12.0 | 134 ± 19.6 | 108 ± 39.2 | 520 ± 81.0 | 596 ± 136 |

F, female; M, male; NE, not examined.

[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the report.

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **No. of Animals** | | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:14[a] | F:15 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Body Weight (Δ%[b])** | **Day 29** | 416.3 g | 245.1 g | −1 | +1 | -1 | 0 | −4 | 0 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 4** | 17.0 g | 4.6 g | −34** | −78 | −39** | −54 | −38**[c] | −96 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 11** | 16.8 g | 6.5 g | −20 | −38 | −36** | −6 | −28* | −11 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 18** | 7.6 g | −1.6 g | −59* | 31 | −29 | −44 | −55* | −44 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 22** | 19.3 g | 9.1 g | 27 | −5 | 31* | 9 | 8 | 4 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 25** | 11.1 g | −0.1 g | −64** | −800 | −68** | 700 | −71** | 1100 |
| **Body Weight Gain (Δ%)** | **Day 29** | 17.3 g | 8.0 g | 21 | 21 | 23 | 14 | −1 | 49** |
| **Food Consumption (Δ%)** | **Day 1** | 23.3 g/d | 15.7 g/d | −14** | −5 | −16** | −7 | −21**[c] | −10## |
| **Food Consumption (Δ%)** | **Day 8** | 24.3 g/d | 16.7 g/d | −9 | −7 | −23** | −5 | −18**[c] | −13* |
| **Food Consumption (Δ%)** | **Day 15** | 23.3 g/d | 16.7 g/d | −11* | −8 | −20** | −10 | −26** | −14* |
| **Food Consumption (Δ%)** | **Day 22** | 23.3 g/d | 17.2 g/d | −14 | −12* | −24## | −12* | −30## | −17** |
| **Food Consumption (Δ%)** | **Day 28** | 24.1 g/d | 16.3 g/d | +13 | +9 | +15## | +13 | +9 | +20** |
| **Ophthalmology** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Urinalysis** | | - | - | - | - | - | - | - | - |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.
Statistics (vs vehicle control): *P < 0.05, **P < 0.01 (Dunnett's test), ##P < 0.01 (Miller's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.
[b] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.
[c] N = 15

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **No. of Animals** | | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:14[a] | F:15 |
| **Hematology Examined on Days 3, 17, and 30** | | | | | | | | | |
| **RBC ($10^6$/μL)** | **Day 30**[b] | 7.877 | 7.783 | 7.334** | 7.471 | 7.518 | 7.348* | 7.403* | 7.265** |
| **Hb** | **Day 17** | 15.87 | 15.79 | 15.25 | 14.83# | 15.00## | 14.88## | 14.89## | 14.56## |
| | **Day 30**[b] | 15.05 | 14.99 | 14.70 | 14.52 | 14.83 | 14.39* | 14.56 | 14.34* |
| **Ht (%)** | **Day 17** | 49.39 | 48.12 | 47.35 | 45.36** | 46.45## | 45.36** | 46.46## | 44.73** |
| | **Day 30**[b] | 45.06 | 43.49 | 43.87 | 42.55 | 44.43 | 41.84* | 43.82 | 41.81* |
| **MCV (fL)** | **Day 30**[b] | 57.25 | 55.96 | 59.84** | 56.98 | 59.15 | 56.97 | 59.24 | 57.61 |
| **MCH (pg)** | **Day 30**[b] | 19.12 | 19.28 | 20.06* | 19.45 | 19.75 | 19.61 | 19.67 | 19.74 |
| **RET (%)** | **Day 3** | 6.58 | 3.64 | 1.39# | 0.74# | 1.17## | 0.55## | 0.67## [c] | 0.38## |
| | **Day 17** | 3.21 | 2.49 | 0.92# | 0.86 | 0.69## | 0.58## | 0.49## | 0.36## |
| | **Day 30**[b] | 2.31 | 1.91 | 1.91 | 1.67 | 2.17 | 1.78 | 2.41 | 2.07 |
| **WBC ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 7.859 | 7.367 | 4.646** | 3.989** | 5.209** | 3.569** | 3.668** | 3.659** |
| **Neutrophils ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 1.221 | 1.295 | 0.612** | 0.648** | 0.625** | 0.631** | 0.533** | 0.644** |
| **Lymphocyte ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 6.310 | 5.704 | 3.817** | 3.145** | 4.387** | 2.762** | 2.994** | 2.816** |
| **Monocyte ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 0.142 | 0.163 | 0.128 | 0.090## | 0.115 | 0.085## | 0.074* | 0.094# |
| **Eosinophil ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 0.122 | 0.144 | 0.050## | 0.081# | 0.034## | 0.064## | 0.042## | 0.075## |
| **Basophil ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 0.015 | 0.018 | 0.004** | 0.005** | 0.008* | 0.003** | 0.002** | 0.005** |
| **LUC ($10^3$/μL)** | **Day 30**[b] | 0.049 | 0.044 | 0.032 | 0.020# | 0.036 | 0.023 | 0.020## | 0.024 |
| **Blood Chemistry (No. examined)** | | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| **Glucose (mg/dL)** | | 121.1 | 124.4 | 140.0** | 157.9* | 150.5** | 176.5** | 154.8** | 204.4** |
| **Necropsy (No. examined)** | | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.

Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test), #$P < 0.05$, ##$P < 0.01$ (Miller's test)

[a] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.

[b] N=10, except for males given 30 mg/kg; N=9 (number of animals necropsied at the end of the dosing period)

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:14[a] | F:15 |
| **Organ Weight (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| **Thymus** | | | | | | | | |
| **Absolute Weight (Δ%[b])** | 486.7 mg | 373.3 mg | −26* | −21* | −27* | −27** | −36** | −27** |
| **Relative Weight (Δ%[b])** | 122.4 mg/100gBW | 161.4 mg/100gBW | −24* | −22** | −25** | −28** | −35** | −30** |
| **Histopathology (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| **Bone marrow (femoral, left)** | | | | | | | | |
| **Decrease, erythroblast** | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 |
| **Decrease, myelocyte** | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 |
| **Bone marrow (sternal)** | | | | | | | | |
| **Decrease, erythroblast** | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 |
| **Decrease, myelocyte** | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 |
| **Histopathology (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| **Thymus** | | | | | | | | |
| **Atrophy** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Single cell necrosis, lymphocyte** | 0 | 0 | 8 | 7 | 7 | 8 | 7 | 8 |
| **Peyer's patch (ileum)** | | | | | | | | |
| **Atrophy, follicle** | 0 | 0 | 9 | 8 | 10 | 9 | 9 | 9 |
| **Lymph node (submandibular, left)** | | | | | | | | |
| **Atrophy, follicle** | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 8 | 3 | 3 |

BW, body weight, F, female; M, male.

Statistics (vs vehicle control): $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ (Dunnett's test)

[a] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8

[b] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **No. of Animals** | M:15 | F:15 | M:10 | F:10 | M:10 | F:10 | M:14[a] | F:15 |
| **Histopathology (No. examined)** | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (10) | (9) | (10) |
| **Duodenum** | | | | | | | | |
| **Atrophy, villus, focal** | 0 | 0 | 3 | 3 | 5 | 3 | 7 | 9 |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| **Jejunum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 |
| **Ileum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 6 | 5 | 8 | 9 | 9 | 10 |
| **Cecum** | | | | | | | | |
| **Regeneration, epithelial cell, crypt (with luminal dilatation)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 2 | 5 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| **Colon** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 4 | 0 |
| **Rectum** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, epithelial cell, crypt** | 0 | 0 | 9 | 8 | 10 | 10 | 8 | 10 |
| **Eyeball** | | | | | | | | |
| **Single cell necrosis, corneal epithelium** | 0 | 0 | 3 | 2 | 8 | 7 | 9 | 10 |

F, female; M, male

[a] One animal died due to a restraint error at dosing on Day 8.

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | | 0 | 0 | | | | | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | - | - | | | | | - | - |
| **Body Weight (Δ%[a])** | **Day 28[c]** | 508.0 g | 288.0 g | | | | | −3 | −6 |
| **Body Weight Gain (Δ%[a])** | **Day 7** | 25.4 g | 12.0 g | | | | | −58* | −65 |
| | **Day 28** | 25.6 g | 7.8 g | | | | | −9 | −15 |
| **Food Consumption (Δ%[a])** | **Day 27[c]** | 27.0 g/d | 15.6 g/d | | | | | −3 | +10 |
| **Hematology**<br>**Examined on Days 1 and 29 of recovery** | | | | | | | | | |
| **RBC ($10^6$/μL)** | **Day 29[b]** | 8.814 | 8.344 | | | | | 8.286** | 7.832* |
| **Hb (g/dL)** | **Day 1** | 15.94 | 15.76 | | | | | 15.40 | 14.66** |
| **Hb (g/dL** | **Day 29[b]** | 15.56 | 15.54 | | | | | 15.84 | 15.54 |
| **Ht (%)** | **Day 29[b]** | 45.56 | 45.00 | | | | | 46.58* | 45.18 |
| **MCV (fL)** | **Day 29[b]** | 51.74 | 54.00 | | | | | 56.24** | 57.74** |
| **MCH (pg)** | **Day 29[b]** | 17.68 | 18.62 | | | | | 19.12** | 19.88* |
| **WBC ($10^3$/μL)** | **Day 1** | 10.654 | 9.454 | | | | | 5.996** | 4.566** |
| **WBC ($10^3$/μL)** | **Day 29[b]** | 8.404 | 6.056 | | | | | 8.302 | 6.442 |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.

Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test)

[a] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

[b] At the end of recovery period

| **16.2. Rat 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-3** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg)** | 0 (vehicle) | | 3 | | 10 | | 30 | |
| **Recovery Period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:5 | F:5 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:5 | F:5 |
| **Hematology**<br>**Examined on Days 1 and 29 of recovery** | | | | | | | | |
| **Neutrophils ($10^3$/μL) Day 1** | 1.546 | 1.676 | | | | | 0.612** | 0.444 |
| **Neutrophils ($10^3$/μL) Day 29[a]** | 1.726 | 1.004 | | | | | 1.788 | 1.262 |
| **Lymphocyte ($10^3$/μL) Day 1** | 8.532 | 7.244 | | | | | 5.110** | 3.954** |
| **Lymphocyte ($10^3$/μL) Day 29[a]** | 6.218 | 4.634 | | | | | 6.000 | 4.834 |
| **Monocyte ($10^3$/μL) Day 1** | 0.304 | 0.288 | | | | | 0.164* | 0.056 |
| **Monocyte ($10^3$/μL) Day 29[a]** | 0.260 | 0.232 | | | | | 0.288 | 0.206 |
| **Eosinophil ($10^3$/μL) Day 1** | 0.152 | 0.152 | | | | | 0.050* | 0.076* |
| **Eosinophil ($10^3$/μL) Day 29[a]** | 0.134 | 0.122 | | | | | 0.134 | 0.086 |
| **Basophil ($10^3$/μL) Day 1** | 0.028 | 0.030 | | | | | 0.010 | 0.006** |
| **Basophil ($10^3$/μL Day 29[a]** | 0.018 | 0.016 | | | | | 0.018 | 0.012 |
| **LUC ($10^3$/μL) Day 1** | 0.086 | 0.068 | | | | | 0.050 | 0.026* |
| **LUC ($10^3$/μL) Day 29[a]** | 0.054 | 0.056 | | | | | 0.072 | 0.038 |
| **Blood Chemistry[a]** | | | | | | | | |
| **Glucose (mg/dL)** | 169.6 | 131.2 | | | | | 159.0 | 127.6 |
| **Necropsy** | - | - | | | | | - | - |
| **Organ Weight** | | | | | | | | |
| **Thymus** | | | | | | | | |
| **Absolute Weight (Δ%)[b]** | 350.2 mg | 297.8 mg | | | | | +10 | +13 |
| **Relative Weight (Δ%)[b]** | 72.6 mg/100gBW | 108.0 mg/100gBW | | | | | +14 | +21 |
| **Histopathology** | - | - | | | | | - | - |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.
Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett's test)
[a] At the end of recovery period
[b] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

## 16.3 DXd（一水和物）のカニクイザル 4 週間間歇静脈内投与毒性試験

| **Report Title: Intermittent Dose Toxicity Study in Monkeys Treated Intravenously with DXd Monohydrate[a] Once a Week for 4 Weeks Followed by a 4-week Recovery Period** | | | | | | **Test Article: DXd monohydrate** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain: Cynomolgus monkeys** | | | **Duration of Dosing: 4 weeks** | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | | |
| **Initial Age: 3 to 8 years age** | | | **Duration of Postdose: 4 weeks** | | | **Location in CTD: 4.2.3.7.7** | | |
| **Date of First Dose: Males: [redacted], 20[redacted]<br>Females: [redacted], 20[redacted]** | | | **Method of Administration: Intravenous (every week)** | | | **GLP Compliance: Yes** | | |
| | | | **Vehicle/Formulation: Physiological saline/Solution** | | | | | |
| **Special Features:**<br>**Dose levels are described as DXd, the free form of DXd (Conversion factor: 0.9648).**<br>**Toxicokinetics study was done on Days 1 and 22 of dosing. Blood collection was done 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing on Day 1 of dosing and before dosing, 5 and 30 min, and 2, 7, and 24 h after the end of dosing on Day 22 of dosing.**<br>**Post dose recovery period (28 days) was set for 12 mg/kg treated group (2 animals/each sex/group).** | | | | | | | | |
| **Highest Non-Severely Toxic Dose: 3 mg/kg in males and females** | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle)[b] | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 |
| **Toxicokinetics of DXd (mean ± standard deviation)** | | | | | | | | |
| **C0 (ng/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 1560 ± 464 | 1310 ± 340 | 8350 ± 1330 | 5020 ± 1280 | 36,600 ± 4050 | 22,800 ± 5470 |
| **Day 22** | NE | NE | 1860 ± 974 | 1480 ± 789 | 6730 ± 1470 | 10,600 ± 5700 | 52,100 ± 6220[c] | 46,900 ± 20,800 |
| **t1/2 (d)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 0.0571 ± 0.0319 | 0.0384 ± 0.00248 | 0.161 ± 0.00944 | 0.165 ± 0.0254 | 0.174 ± 0.0263 | 0.167 ± 0.0425 |
| **Day 22** | NE | NE | 0.107 ± 0.0592 | 0.0390 ± 0.000578 | 0.176 ± 0.0626 | 0.152 ± 0.0671 | 0.180 ± 0.0534[b] | 0.123 ± 0.0279 |
| **AUC24h (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 18.0 ± 4.12 | 13.3 ± 2.48 | 79.1 ± 13.2 | 47.7 ± 7.50 | 349 ± 64.2 | 212 ± 43.0 |
| **Day 22** | NE | NE | 20.2 ± 7.64 | 15.7 ± 6.34 | 68.2 ± 13.6 | 95.2 ± 55.9 | 473 ± 20.7[c] | 384 ± 170[c] |
| **AUCinf (ng·d/mL)** | | | | | | | | |
| **Day 1** | NE | NE | 18.0 ± 4.08 | 13.2 ± 2.49 | 79.2 ± 13.3 | 47.8 ± 7.55 | 349 ± 64.5 | 213 ± 43.5 |
| **Day 22** | NE | NE | 20.2 ± 7.52 | 15.6 ± 6.32 | 68.4 ± 13.5 | 95.3 ± 55.8 | 475 ± 21.7 | 515 ± 329 |

F, female; M, male; NE, not examined.
[a] DXd monohydrate was referred to MAAA-1181d in the report.
[b] N=4

| **16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle) | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1[a] | 1[b] |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Vomiting** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 4 | 4 |
| **Diarrhea** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| **Soft stool** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| **Body Weight (Δ%[c])** **Day 28** | 4.210 kg | 3.353 kg | +4 | +4 | +11 | −2 | 0[e] | −9[e] |
| **Food Consumption (Δ%[c])** **Day 29** | 108.0 g | 108.0 g | −11 | 0 | 0 | −26 | 0[e] | 0[e] |
| **Urinalysis** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology Examined on Days 2, 4, 16, 18, 30** | | | | | | | | |
| **Lymphocyte ($10^3$/μL)** **Day 30** | 6.580 | 5.720 | 3.570* | 6.213 | 4.010 | 2.767 | 2.450**[d] | 5.743[d] |
| **RBC ($10^6$/μL)** **Day 30** | 5.643 | 4.773 | 5.260 | 4.497 | 5.040 | 5.010 | 5.010[d] | 4.398[d] |
| **Hb (g/dL)** **Day 18** | 13.80 | 12.17 | 12.73 | 10.60 | 12.37* | 12.43 | 12.28*[d] | 11.42 |
| **Hb (g/dL)** **Day 30** | 13.73 | 12.03 | 12.70 | 10.77 | 12.27 | 12.30 | 11.95[d] | 10.68[d] |
| **Plat. ($10^3$/μL)** **Day 30** | 262.0 | 427.3 | 404.0 | 384.3 | 398.0 | 415.7 | 544.8*[d] | 594.5[d] |
| **RET (%)** **Day 4** | 1.00 | 1.80 | 0.43** | 0.47** | 0.33** | 0.50** | 0.30** | 0.38** |
| **Day 18** | 0.97 | 1.30 | 0.67 | 0.63 | 0.43** | 0.60 | 0.45**[d] | 0.60* |
| **Day 30** | 1.37 | 2.33 | 2.00 | 3.33 | 2.27 | 2.97 | 2.95*[d] | 6.48*[d] |
| **APTT (sec)** **Day 16** | 21.67 | 20.33 | 20.97 | 19.20 | 21.33 | 19.63 | 20.08 [d] | 29.38[e] |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.

Statistics (vs vehicle control): *$P < 0.05$, **$P < 0.01$ (Dunnett test), #$P < 0.05$ (Miller's test)

[a] Euthanized due to moribundity on Day 12 of dosing

[b] Found dead on Day 23 of dosing

[c] Δ%: For the control group, group means are shown. For the treated groups, percent differences from the control are shown.

[d] N=4

[e] 1 female showed shortening (11.9 sec) and 1 female showed prolongation (75.2 sec).

| **16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle) | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **No. of Animals** | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:3 | F:3 | M:5 | F:5 |
| **Blood chemistry Examined on Days 2, 16, 30** | | | | | | | | |
| **AST (IU/L) Day 30** | 36.0 | 21.7 | 41.0 | 45.0 | 57.3 | 27.3 | 43.8 [a] | 53.8#[a] |
| **ALT (IU/L) Day 30** | 45.3 | 28.7 | 40.0 | 67.7 | 34.0 | 34.7 | 120.3[a] | 106.5# |
| **IP (mg/dL) Day 30** | 5.563 | 4.007 | 6.260 | 5.063 | 5.527 | 5.290 | 7.525*[a] | 6.285*[a] |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Organ Weight** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology (No. examined)** | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) | (3) | (2) | (2) |
| **Spleen: Atrophy, follicle** | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| **Lymph node (mesenteric): Atrophy, follicle** | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| **Peyer's patch (ileum): Atrophy, follicle** | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| **Thymus: Single cell necrosis, lymphocyte** | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| **Liver: Single cell necrosis, hepatocyte** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| **Jejunum: Single cell necrosis, crypt epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Ileum: Single cell necrosis, crypt epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Eyeball: Single cell necrosis, corneal epithelium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings.
Statistics (vs vehicle control): *P < 0.05, #P < 0.05 (Miller's test)
[a] N=4

| **16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle) | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **Recovery period** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:2 | F:2 |
| **Dead or Sacrificed Moribund** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Soft stool** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | 1 | 0 |
| **Body Weight (kg) (Day 28, Individual)** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | *3.67*<br>*4.78* | *3.33*<br>*3.48* |
| **Food Consumption (g) (Day 28, Individual)** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | *108*<br>*108* | *108*<br>*108* |
| **Urinalysis** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |
| **Hematology** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |
| **Blood chemistry** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |
| **Gross Pathology** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |
| **Organ Weight** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |
| **Histopathology** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | - | - |

F, female; M, male; -, no noteworthy findings; NE, not examined
Individual values were expressed in italic font.

| **16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle) | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:1 | F:1 |
| **Clinical Observations** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **Lateral position** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Hypothermia** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Pale oral mucosa** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Suppression of touch response** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Vomiting** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Diarrhea** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Body weight (kg)** **Day 7 or Day 21** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 5.09 | 2.48 [−] |
| **Food consumption (g)** **Day 12 or Day 22** | | | | | | | 0 [−] | 0 [−] |
| **Hematology**<br>**Examined on Days 2, 4, 16, 18, and 30** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **Ht (%)** **Day 4** | | | | | | | 43.3 | 34.1 [−] |
| **Lymphocyte ($10^3$/μL)** **Day 18** | | | | | | | NA | 1.67 [−] |
| **Blood Chemistry**<br>**Examined on Days 2, 16, and 30** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **AST (IU/L)** **Day 2** | | | | | | | 90 [+] | 183 |
| **ALT (IU/L)** **Day 2** | | | | | | | 106 [+] | 129 [+] |
| **Na (mEq/L)** **Day 16** | | | | | | | NA | 132 [−] |
| **Cl (mEq/L)** **Day 16** | | | | | | | NA | 94 [−] |

F, female; M, male; NA, not applicable.
[−]: Decrease when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.
[+]: Increase when compared with the control group, pre-dosing values, and background data.

| 16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate | | | | | | | Attachment No. 4.2.3.7.7-4 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle)[a] | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:1 | F:1 |
| **Gross Pathology** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **Adrenal: Enlargement** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Thymus: Small size** | | | | | | | 0 | 1 |
| **Histopathology** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **Bone marrow (sternal): Decrease, erythroblast** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Bone marrow (sternal): Decrease, myelocyte** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Spleen: Atrophy, follicle** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Spleen: Atrophy, periarterial lymphoid sheath** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Lymph node (mesenteric): Atrophy, follicle** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Peyer's patch (ileum): Atrophy, follicle** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Liver: Single cell necrosis, hepatocyte** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Liver: Increase, mitosis, hepatocyte** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Liver: Dilatation, bile canaliculus** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Liver: Bile thrombus, bile canaliculus** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Liver: Brown pigment deposition, Kupffer cell** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Liver: Necrosis, hepatocyte, focal** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Liver: Decrease, glycogen, hepatocyte** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Heart: Degeneration/necrosis, cardiac myocytes, ventricle** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Jejunum: Regeneration, epithelial cell, crypt** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Ileum: Regeneration, epithelial cell, crypt** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Ileum: Single cell necrosis, crypt epithelium** | | | | | | | 0 | 1 |

F, female; M, male; NA, not applicable.

| **16.3. Monkey 4-week Intermittent Dose Toxicity Study of DXd Monohydrate** | | | | | **Attachment No. 4.2.3.7.7-4** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/week)** | 0 (vehicle) | | 1 | | 3 | | 12 | |
| **Findings of Died or Sacrificed Moribund Animals** | | | | | | | | |
| **No. of Animals** | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:0 | F:0 | M:1 | F:1 |
| **Histopathology** | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| **Cecum: Regeneration, epithelial cell, crypt** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Cecum: Dilatation, crypt** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Cecum: Single cell necrosis, crypt epithelium** | | | | | | | 0 | 1 |
| **Colon: Regeneration, epithelial cell, crypt** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Colon: Dilatation, crypt** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Colon: Single cell necrosis, crypt epithelium** | | | | | | | 0 | 1 |
| **Rectum: Regeneration, epithelial cell, crypt** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Rectum: Dilatation, crypt** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Rectum: Single cell necrosis, crypt epithelium** | | | | | | | 0 | 1 |
| **Adrenal: Hypertrophy, decreased lipid, cortex** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Pancreas: Decrease, zymogen granule, acinus** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Kidney: Dilatation, distal tubule** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Skin: Atrophy, adipose tissue** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Skin: Saponification, adipose tissue** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Thymus: Atrophy** | | | | | | | 1 | 1 |
| **Lung: Bacterial infection, alveolus** | | | | | | | 1 | 0 |
| **Lung: Inflammatory cell infiltration, alveolus** | | | | | | | 1 | 0 |

F, female; M, male; NA, not applicable.

## 16.4 DXd（一水和物）の光毒性試験

| | | | | Test Article: DXd monohydrate | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain** | **Method of Administration** | **Duration of Dosing** | **Dose (mg/kg)** | **Gender and No. per Group** | **Noteworthy Findings** | **Attachment No.** |
| Balb/c 3T3 cells | In vitro | - | 0.195 to 25 µg/mL | - | Phototoxicity<br>[PIF: Not determined,<br>MPE: 0.432,<br>$IC_{50}$ (-UV): Not determined,<br>$IC_{50}$ (+UV): 2.356 µg/mL] | 4.2.3.7.7-5 |
| Rat/Iar:Long-Evans | Intravenous | Single | 0, 1, 3 | 5 males | No phototoxicity for DXd | 4.2.3.7.7-6 |

MPE, mean photo effect; PIF, photo irritation factor.

## 16.5 In Vitro サイトカイン放出試験

| | | | | Test Article: Dato-DXd, Dato[a] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species /Strain** | **Method of Administration** | **Treatment Time** | **Doses** | **No. per Group** | **Noteworthy Findings** | **Attachment No.** |
| Human PBMCs | In vitro (plate-bound format) | 48 hours | Dato-DXd, Dato: 0.15 to 150 µg/mL<br>Bevacizumab, alemtuzumab:<br>15 µg/mL<br>Anti-human CD3 antibody: 1.5 µg/mL | 6 donors | TNF-α and MIP-1β from human PBMCs incubated with Dato-DXd and TNF-α, IL-6, IL-10, and MIP-1β from human PBMCs incubated with Dato were higher than those with vehicle. The levels of cytokines by Dato-DXd and Dato were less than or comparable to those by bevacizumab. There was no difference in cell viability between vehicle and Dato-DXd, and vehicle and Dato. | 4.2.3.7.7-7 |
| Human whole blood | In vitro (soluble format) | 24 hours | Dato-DXd, Dato: 0.15 to 150 µg/mL<br>Bevacizumab, alemtuzumab:<br>1.5 µg/mL | 6 donors | Neither Dato-DXd nor Dato induced the release of any cytokines tested compared with vehicle. | 4.2.3.7.7-8 |

[a]: Dato was referred to MAAP-9001a (antibody component of Dato-DXd, datopotamab) in the reports.
CD, cluster of differentiation; IL, interleukin; MIP-1β, macrophage inflammatory protein-1 β; PBMCs, peripheral blood mononuclear cells; TNF-α, tumor necrosis factor α.

## 16.6 MAAP-9002b のサル 2 週間間歇静脈内投与毒性試験

| | | | | Test Article: MAAP-9002b[a] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/Strain** | **Method of Administration** | **Duration of Dosing** | **Dose (mg/kg)** | **Gender and No. per Group** | **Noteworthy Findings** | **Attachment No.** |
| Cynomolgus monkey | Intravenous | every week, 2 weeks | 11, 33, 89 | M:1, F:1 | ≥ 11: Vomiting, reddening skin, decreased body weight and food consumption, necrosis and anisokaryosis of mucosal epithelial cell in the esophagus, single cell necrosis of acinar and duct epithelial cell in the mammary gland, atrophy, necrosis, anisokaryosis of mucosal epithelial cell, and cell infiltration in mucosa and submucosa in the vagina, necrosis and anisokaryosis of squamous cell in epidermis and hair follicle in the skin.<br>≥ 33: Decrease in spontaneous activity, eruption, eye mucus, decreased RET, RBC, HT, and Hb, prolonged APTT, increased FIB, TG, and CRP, atrophy of mucosa and necrosis of mucosal epithelial cell in the esophagus, erosion of corneal epithelium in the eye, decrease in acinus, anisokaryosis of acinar and duct epithelial cell and dilatation of duct in the mammary gland, cell debris in glandular lumen in the prostate<br>89: Death or moribundity, diarrhea, disappearance of touch response, lateral position, decreased PLT, WBC, ALY, AMO, and ANE, increased AST, ALT, LDH, T-BIL, and D-BIL, decreased cellularity in the bone marrow, atrophy of mucosa and anisokaryosis of mucosal epithelial cell in the alimentary tract, single cell necrosis of duodenal glandular cell in the duodenum, atrophy of corneal epithelium in the eye, necrosis of cardiac myocyte in right ventricular wall in the heart, regeneration of tubular epithelium in the kidney, single cell necrosis of hepatocyte, decrease in growing follicle in the ovary. | 4.2.3.7.7-9 |

[a] The ADC that comprised the same antibody, linker, and drug as those of Dato-DXd. The average drug antibody ratio (DAR) of MAAP-9002b was approximately 7 and different from that of Dato-DXd.