目次

略語・略号一覧 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1 CSL312：マウスを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0056） 8
2.6.6.3.2 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0061） 9
2.6.6.3.3 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（試験番号 TOM 16-02） 12
2.6.6.3.4 CSL312：カニクイザルを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0055） 13
2.6.6.3.5 CSL312：カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0058） 14
2.6.6.3.6 CSL312:カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 TH43GT） 16
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.5 がん原性試験 20
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 22
2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生 23
2.6.6.6.1.1 CSL312：雌ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8408860） 23
2.6.6.6.1.2 CSL312：雄ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8399537） 25
2.6.6.6.2 胚・胎児発生 27
2.6.6.6.2.1 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験のための予備試験（試験番号 MN80HQ） 27
2.6.6.6.2.2 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（試験番号 VK47BJ） 28
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能 31
2.6.6.6.3.1 CSL312：ウサギを用いた皮下及び静脈内投与による出生前及び出生後の発生並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8410864） 31
2.6.6.7 局所刺激性試験 33

2.6.6.7.1 CSL312 製剤（2 種類）：皮下投与局所刺激性及び生物学的同等性試験（試験番号 37761） 34
2.6.6.8 その他の毒性試験 34
2.6.6.8.1 CSL312：ヒト及びカニクイザルの組織交差反応性試験（試験番号 APQ0057） 34
2.6.6.8.2 免疫毒性評価 37
2.6.6.9 考察及び結論 38
2.6.6.10 図表 41
2.6.6.11 参考文献 41

表 目次

表 2.6.6-1 反復投与毒性試験の一覧 7
表 2.6.6-2 試験番号 APQ0056：試験デザイン 8
表 2.6.6-3 試験番号 APQ0061：試験デザイン 9
表 2.6.6-4 試験番号 APQ0055：試験デザイン 13
表 2.6.6-5 試験番号 APQ0058：試験デザイン 15
表 2.6.6-6 試験番号 TH43GT：試験デザイン 16
表 2.6.6-7 試験番号 TH43GT：トキシコキネティクス 20
表 2.6.6-8 生殖発生毒性試験の一覧 22
表 2.6.6-9 試験番号 8408860：試験デザイン 23
表 2.6.6-10 試験番号 8399537：試験デザイン 25
表 2.6.6-11 試験番号 MN80HQ：試験デザイン 27
表 2.6.6-12 試験番号 VK47BJ：試験デザイン 30
表 2.6.6-13 試験番号 8410864：試験デザイン 32
表 2.6.6-14 局所刺激性試験 34
表 2.6.6-15 その他の毒性試験 34
表 2.6.6-16 組織交差反応性評価に用いたヒト及びカニクイザルの組織（試験番号 APQ0057） 35

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
3F7	Anti-FXIIa parental antibody	抗 FXIIa 親抗体
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
aPTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	Area under the plasma concentration time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CRP	C-reactive protein	C 反応性タンパク
CSL312	Garadacimab; Factor XIIa inhibitor monoclonal antibody	ガラダシマブ、抗活性化第 XII 因子モノクローナル抗体
FXII	Coagulation Factor XII,（Hageman factor）	凝固第 XII 因子、（ハーゲマン因子）
FXIIa	Activated coagulation Factor XII,（Hageman factor）	活性化第 XII 因子（ハーゲマン因子）
GD	Gestation day	妊娠日
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgE	Immunoglobulin E	免疫グロブリン E
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M	免疫グロブリン M
IV	Intravenous	静脈内
LD	Lactation day	授乳日
Mab	Monoclonal antibody	モノクローナル抗体
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
RA	Accumulation ratio	蓄積率
SC	Subcutaneous	皮下
$t_{1/2}$	Terminal half-life	消失半減期
TCR	Tissue cross reactivity	組織交差反応性
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス

表記規則

これまでの開発期間を通じて、CSL312（ガラダシマブ）は「FXIIa antagonist monoclonal antibody（抗第 XIIa 因子モノクローナル抗体）」と記載されており、過去の関連する記録及び連絡文書でこの用語が使用されている。ガラダシマブは遺伝子組換え完全ヒト型 IgG4/λ モノクローナル抗体であり、血漿タンパク質 FXIIa の触媒ドメインに結合し、その触媒活性を強力に阻害する。ガラダシマブは FXIIa の活性部位に結合することでそのプロテアーゼ活性を阻害するもの（inhibitor）であり、アゴニストの結合を阻害するもの（antagonist）ではない。したがって、ガラダシマブは antagonist より inhibitor と識別するほうが科学的に正確である。この用語の改訂は、製品の活性や作用機序の理解の変更ではない。本文書では、ガラダシマブの正確な記述として、「FXIIa inhibitor monoclonal antibody（抗活性化第 XII 因子モノクローナル抗体）」を使用する。

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」に準拠した毒性試験として、マウスを用いた反復投与毒性試験を 2 試験（8 日間及び 4 週間試験）、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験を 3 試験（8 日間、5 週間及び 26 週間試験）、ウサギを用いた生殖発生毒性試験を 4 試験（雌雄の受胎能試験を各 1 試験、胚・胎児発生試験を 1 試験及び出生前及び出生後の発生試験を 1 試験）実施した。

さらに、GLP 非適用下での毒性試験として、マウスを用いた反復投与忍容性試験を 1 試験及びウサギを用いた胚・胎児発生予備試験を 1 試験実施した。これらの試験は科学的妥当性を担保しており、GLP 適用試験の試験方法やデータ解釈に有用な情報を提供した。

毒性試験に使用したガラダシマブ（garadacimab）は、多岐にわたる分析により治験用製剤と同等性／同質性を有していると考えられる。

非臨床試験に使用する動物種としては、入手可能な in vitro 及び非臨床 in vivo 薬力学データに基づき、薬理学的に関連性のあるげっ歯類及び非げっ歯類としてマウス、ウサギ及びカニクイザルを選択した。ガラダシマブはこれらの動物種において薬理学的な活性を示し、ヒト、カニクイザル、ウサギ及びマウス血漿中の FXIIa 活性を阻害する一方、ラット血漿中では FXIIa 阻害作用は認められなかった。したがって、ラットは薬理学的に適切な動物種ではなく、ラットを用いた in vivo 毒性試験は実施しなかった（詳細は 2.6.2.2.11 項参照）。医薬品規制調和国際会議（ICH）S6（R1）ガイドラインによれば、胚・胎児発生試験には、臨床開発候補化合物がげっ歯類及びウサギにおいて薬理学的な活性を示す場合、両動物種を使用する必要がある。しかし、マウスは反復投与後に異種ヒトタンパク質に対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）を発現することが示されたため、マウスからは意味のある安全性情報を得ることができず、薬理学的に適切な代替種が存在する場合、ヒト以外の霊長類の使用は倫理的ではない（詳細は 2.6.6.6 項参照）。このため、ガラダシマブの生殖発生毒性試験は薬理学的に関連性のある唯一の動物種であるウサギを用いて実施した。

心血管系及び呼吸器系（呼吸数の評価に基づく）に対する安全性薬理学的評価は、カニクイザルを用いた 5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験で実施し、中枢神経系（CNS）に対する安全性薬理学的評価は、マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験で実施した。また、すべての反復投与毒性試験において局所刺激性の評価を実施した。

さらに、ヒト及びカニクイザルの組織に対する交差反応性抗体結合を評価するために組織交差反応性試験を行った。

In vivo 毒性試験では、静脈内及び皮下の両投与経路により評価した（ウサギを用いた雌雄受胎能試験及び胚・胎児発生試験、並びに GLP 非適用のマウスを用いた反復投与忍容性試験については、静脈内投与のみで評価した）。In vivo 毒性試験における静脈内投与での 10 mg/kg/回の用量は静脈内投与での予定最大臨床用量に相当する。中用量群（30 mg/kg/回）と高用量群（100 mg/kg/回）には、静脈内投与での予定最大臨床用量の 3 倍及び 10 倍を投与した。また、

薬理学的に適切な用量を追加するため、8 日間及び 4～5 週間試験では 3 mg/kg/回の静脈内投与群も設定した。In vivo 毒性試験における皮下投与での 60 及び 200 mg/kg/回の用量は、皮下投与での予定臨床最大用量（20 mg/kg）のそれぞれ 3 倍及び 10 倍に相当する。さらに、ガラダシマブの低濃度及び高濃度製剤（それぞれ 100 及び 170 mg/mL）の皮下投与による局所刺激性試験を実施した。

実施された毒性試験の概要を表 2.6.6-1、表 2.6.6-8、表 2.6.6-13 及び表 2.6.6-15 に示す。

ガラダシマブの毒性学的プログラムでは、マウス及びカニクイザルにおいて、最大 100 mg/kg/回の静脈内投与（静脈内投与での最大臨床用量の 10 倍）及び 200 mg/kg/回の皮下投与（皮下投与での最大臨床用量の 10 倍）では、安全性薬理学的な検査項目にガラダシマブ投与に関連した影響は認められなかった。

反復投与毒性試験（マウス及びカニクイザルを用いた 8 日間反復投与試験、並びにカニクイザルを用いた 5 週間反復投与試験）において、3～100 mg/kg/回の静脈内投与及び 60～200 mg/kg/回の皮下投与での忍容性は良好であった。

マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験において、皮下投与（60～200 mg/kg/回）及び静脈内投与の最高用量（100 mg/kg/回）での忍容性は良好であった。一方、静脈内投与のより低い用量（3～30 mg/kg/回；主に 3 mg/kg/回）では、反復投与後にガラダシマブ投与に関連した一般状態変化及び死亡がみられた。これらの所見は、ヒトタンパク質であるガラダシマブに対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）と考えられることから、臨床使用に際しての予測性に乏しい。

カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内（10～100 mg/kg/回）及び皮下（60～200 mg/kg/回）投与試験において、ヒトタンパク質であるガラダシマブに対する免疫反応がみられたことから、動物福祉上の観点から 2 例（100 mg/kg/回を静脈内投与した 1 例、200 mg/kg/回を皮下投与した 1 例）を安楽殺したが、残りの動物では投与部位に軽度の局所刺激性が認められたのみであった。

同一の製剤緩衝液（すなわち、同一の添加剤含量）を用いた異なる濃度（100 及び 170 mg/mL ガラダシマブ）のガラダシマブをウサギに皮下投与した時の忍容性は良好であり、投与部位にガラダシマブ投与に関連した変化はみられなかった。

ウサギを用いた受胎能試験、胚・胎児発生試験、並びに出生前及び出生後の発生試験において、本薬投与に関連した生殖発生毒性は認められなかった。しかし、雄の受胎能試験では、ヒトタンパクであるガラダシマブに対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）が一部の動物（10 mg/kg/回群で 4/25 例、30 mg/kg/回群で 2/25 例）で観察された。

さらに、ヒト及びカニクイザルの種々の組織で組織交差反応性が認められたが、カニクイザルの反復投与毒性試験では安全性面で問題となる所見は認められなかった。

ガラダシマブの遺伝毒性試験は実施していない。ICH S6（R1）ガイドラインでは、バイオ医薬品は、DNA や染色体成分と直接相互作用しないため、標準的な in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験は適用されない。

ICHS6（R1）ガイドラインによれば、がん原性試験は、バイオ医薬品の評価には一般的に不適切である。ガラダシマブの潜在的発がんリスクを評価するために、詳細な発がんリスク評価を実施した。証拠の重み付け（weight of evidence）のアプローチに基づくと、ガラダシマブを患者に投与しても、潜在的発がんリスクはないと考えられる。

ガラダシマブを用いた生態毒性及び環境影響評価の試験は実施していない。

抗体、すなわちタンパク質は、環境中では、化学的、物理的及び生物学的に急速に分解されやすいため、安定に存在して生物学的に活性があるとは考えられない。

結論として、ガラダシマブは、非臨床試験において、適切な安全性プロファイルを示した。ICH S6（R1）ガイドラインに示されているように、動物に異種タンパク質（ヒトタンパク質）を反復投与した場合、主として免疫反応が生じることが想定されることから、反復投与毒性試験で認められた所見は、臨床での有害事象を予測するものではないと考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験の重要性は限定的であり、急性毒性に関する情報は他の種類の毒性試験で得られるため、単回投与毒性試験は実施しなかった。その代替として短期及び長期の反復投与試験の初回投与後の急性症状を評価した（下記参照）。この対応は、急性毒性情報は用量漸増試験又は短期間の用量漸増試験から得られるとする ICH M3（R2）に沿ったものである。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ガラダシマブの反復投与による毒性は、マウス（8 日間及び 4 週間試験）及びカニクイザル（8 日間、5 週間及び 26 週間試験）において、最大 100 mg/kg/回（静脈内投与）及び 200 mg/kg/回（皮下投与）の用量で評価した。

反復投与毒性試験の概要を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 反復投与毒性試験の一覧

Study Type and species	Duration/ route of administration	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Repeat-dose toxicity, mouse	8 days/ IV and SC	APQ0056	[redacted]	garadacimab	Yes
Repeat-dose toxicity, mouse	4 weeks/ IV and SC	APQ0061	[redacted]	garadacimab	Yes
Repeat-dose toxicity, mouse	4 weeks/ IV	TOM 16-02	[redacted]	garadacimab	No
Repeat-dose toxicity, monkey	8 days/ IV and SC	APQ0055	[redacted]	garadacimab	Yes
Repeat-dose toxicity, monkey	5 weeks/ IV and SC	APQ0058	[redacted]	garadacimab	Yes

Study Type and species	Duration/ route of administration	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Repeat-dose toxicity, monkey	26 weeks/ IV and SC	TH43GT	[redacted]	garadacimab	Yes

2.6.6.3.1 CSL312：マウスを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0056）

本試験では、CD-1 マウスにガラダシマブを 8 日間反復静脈内投与（3、10、30 及び 100 mg/kg/回）又は皮下投与（60 及び 200 mg/kg/回）し、ガラダシマブによる全身毒性を評価した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2 試験番号 APQ0056：試験デザイン

Group	Treatment	Dose (mg/kg/occasion)	Route	Number of animals			
				Main study		Satellite study[a]	
				Male	Female	Male	Female
1	Control[b]	0	IV/SC	9	9	6	6
2	garadacimab	3	IV	9	9	15	15
3	garadacimab	10	IV	9	9	15	15
4	garadacimab	30	IV	9	9	15	15
5	garadacimab	100	IV	9	9	15	15
6	garadacimab	60	SC	9	9	15	15
7	garadacimab	200	SC	9	9	15	15

a Satellite animals used for toxicokinetic sampling only on Day 1 and 8 of the study
b Control animals used for both IV and SC dosing
Abbreviations: IV = intravenous; SC = subcutaneous

動物には、対照物質である 0.9%等張生理食塩液及びガラダシマブを 3 日間隔で 8 日間反復静脈内又は皮下投与した（投与 1、4 及び 8 日）。

評価項目は、トキシコキネティクス（TK）、一般状態、体重、摂餌量、眼底検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査とした。

ガラダシマブ投与群の動物ではガラダシマブの全身曝露が確認され、対照群及びガラダシマブ投与群における投与前のサンプルからガラダシマブは検出されなかった。TK 解析の結果、投与 1 及び 8 日の C_{max} 及び投与後 0～72 時間までの $AUC_{0\text{-}72h}$ は、雌雄ともに両投与経路で投与量の増加に伴って上昇し、静脈内投与の曝露量は 100 mg/kg/回まで投与量に比例していた。さらに、投与 1 及び 8 日の C_{max} 又は $AUC_{0\text{-}72h}$ の蓄積比を解析した結果、静脈内投与での平均蓄積比は 1.23～2.08（C_{max}）及び 1.21～2.25（$AUC_{0\text{-}72h}$）、皮下投与での平均蓄積比は 1.48～2.23（C_{max}）及び 1.50～2.24（$AUC_{0\text{-}72h}$）であり、いずれも薬物の蓄積性が認められた。

雌雄マウスにガラダシマブを静脈内投与（ボーラス投与）及び皮下投与した時の急性毒性を、それぞれ 100 mg/kg 及び 200 mg/kg の用量まで評価した。いずれの用量においても、投与に関連した毒性は認められなかった。

ガラダシマブの反復静脈内及び反復皮下投与により、すべての投与群において活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）の明らかな用量依存的延長が認められた。これらの所見は、ガラダシマブの薬理作用に関連している。血液学的検査及び血液生化学的検査で観察されたその他の所見は、すべて投与量との関連性が明確でないか、又は片性に限定されたものであり、毒性ではないと考えられた。本試験期間中、10 mg/kg/回を静脈内投与した雌 1 例（ガラダシマブを投与した 48 例中 1 例）が投与 8 日に死亡した。この動物には試験中に一般状態変化がみられず、肉眼的観察及び病理組織学的検査でも所見が認められなかったため、死因は明らかでなかった。しかし、同群のその他すべての動物の忍容性は良好であり、高用量群に死亡は認められなかったことから、この死亡はガラダシマブ投与に関連したものではないと考えられた。

以上のように、100 mg/kg/回の静脈内投与及び 200 mg/kg/回の皮下投与のいずれにおいても毒性所見は認められなかった。

したがって、本試験条件下での無毒性量（NOAEL）は、静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.3.2 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0061）

本試験では、CD-1 マウスにガラダシマブを 4 週間反復静脈内（3、10、30 及び 100 mg/kg/回）又は皮下投与（60 及び 200 mg/kg/回）し、ガラダシマブによる全身毒性を評価した。また、最終投与から 8 週間にわたって回復性を評価した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3 試験番号 APQ0061：試験デザイン

Group	Treatment	Dose (mg/kg/occasion); Route	Number of animals					
			Main study		Recovery Phase		Satellite study[a]	
			Male	Female	Male	Female	Male	Female
1	Control[b]	0; IV/SC	12	12	6	6	6	6
2	garadacimab	3; IV	12	12	-	-	18	18
3	garadacimab	10; IV	12	12	-	-	18	18
4	garadacimab	30; IV	12	12	-	-	18	18
5	garadacimab	100; IV	12	12	6	6	18	18
6	garadacimab	60; SC	12	12	-	-	18	18
7	garadacimab	200; SC	12	12	6	6	18	18

a Satellite animals used for toxicokinetic, anti-drug antibody and contingency sampling only
b Control animals used for both IV and SC dosing
Abbreviations: IV = intravenous; SC = subcutaneous

主試験群の動物には、対照物質である 0.9%等張生理食塩液又はガラダシマブを 3 日間隔で 4 週間反復静脈内又は皮下投与した（投与 1、4、8、11、15、18、22、25 及び 29 日）。回復群の動物には、投与後 8 週間の休薬期間を設け、所見の回復性及び遅発性毒性の有無を評価した。なお、投与 1 日の投与後 96 時間に TK 測定のための血液サンプルを採取する予定だったサテライ

ト動物には、サンプル採取前に投与を実施しないようにするため、投与 4 日の投与についてはその翌日に実施した。

評価項目は、TK、免疫原性（抗薬物抗体）、一般状態、体重、摂餌量、Irwin による神経・行動学的スクリーニング、眼科学的検査、血液学的検査（末梢血）、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査とした。

ガラダシマブの静脈内投与及び皮下投与による全身曝露は、すべての投与動物で確認され、C_{max} 及び AUC 値は、雌雄ともに両投与経路で投与量の増加に伴って上昇し、静脈内投与による C_{max} 及び AUC 値の上昇は投与量に比例していた（投与 1 日は 3～100 mg/kg/回、投与 29 日は 10～100 mg/kg/回の範囲で投与量に比例）。皮下投与後の血漿中濃度は雄に比べて雌で高く、C_{max} 及び AUC 値が高値を示すことが示唆されたが、本試験で用いた動物数が少なかったため、結論は得られなかった。AUC 蓄積比は投与 1 及び 29 日の投与後 0～96 時間の濃度を用いて算出した。静脈内投与の $AUC_{0\text{-}96h}$ 蓄積比（$RA_{AUC0\text{-}96h}$）は 1.56～3.08 の範囲であり、皮下投与の $RA_{AUC0\text{-}96h}$ は 1.38～2.33 の範囲であった。さらに、静脈内投与の C_{max} の蓄積比（RA_{Cmax}）は 1.04～3.53 の範囲であり、皮下投与群の RA_{Cmax} は 1.23～2.50 の範囲であった。これらの結果から，静脈内投与（10～100 mg/kg/回）及び皮下投与（60～200 mg/kg/回）のいずれにおいても反復投与後の蓄積性が認められた。

雌 4 例から採取した血漿サンプルがガラダシマブ抗体（ADA）陽性であった。このうち 3 例は 10 mg/kg/回の静脈内投与群、1 例は 60 mg/kg/回の皮下投与群の動物であった。これらの所見は投与群の数例にのみ認められたものであり、毒性学的意義はないと考えられる。

初回投与 1 時間後の静脈内投与群、初回投与 24 時間後の皮下投与群のいずれにおいても、Irwin 法による観察結果に投与の影響は認められなかった。

3 mg/kg/回を静脈内投与した雄 13 例では投与 11 又は 15 日（4 又は 5 回目の投与）の投与後、死亡又は重篤な一般状態変化がみられたため安楽殺した。一般状態変化として、鼻口部、後肢又は前肢の腫脹、四肢及び口吻の発赤、活動性低下、立毛、表在呼吸又は緩徐呼吸、平坦姿勢又は円背位がみられた。残りの雄動物は、さらなる重篤な一般状態変化の発現を防ぐため、投与 18 日（6 回目の投与）の投与後に毒性機序解明のための採血を実施し、直ちに安楽殺した。3 mg/kg/回を静脈内投与した雌 1 例は、それまで一般状態変化を示さなかったが、投与 8 日の投与後に死亡が確認された。雌の投与開始時期は雄より 1 週間遅かったため、3 mg/kg/回を静脈内投与した雌動物には、投与 12 又は 13 日（4 回目の投与）に同様の採血を行い、重篤な一般状態変化の発現を防ぐために投与を中止した。さらに、10 mg/kg/回を静脈内投与した雌動物 3 例及び雄動物 1 例、並びに 30 mg/kg/回を静脈内投与した雌動物 1 例で投与 18、22 又は 29 日に死亡又は安楽殺した。これらの動物のうち、10 mg/kg/回を静脈内投与した雌 1 例には立毛、部分的な閉瞼、円背位などの一般状態変化が観察された。

10 mg/kg/回以上を静脈内投与したその他の動物、並びに60 及び200 mg/kg/回を皮下投与した動物には一般状態の変化は観察されず、9 回投与後に予定された剖検まで生存した。静脈内投与された動物では、ガラダシマブの薬理作用に起因すると考えられるaPTT の延長以外に明らかな

変化は認められなかった。一方、皮下投与された動物ではaPTT の延長に加え、リンパ球及び好酸球数のわずかな増加及び腋窩及び／又は鼠経リンパ節肥大が観察されたが、それら以外には明らかな変化は認められなかった。リンパ球及び好酸球数の増加は、静脈内投与では観察されていないことから、局所刺激性並びに腋窩及び鼠経リンパ節肥大に起因した変化と考えられた。ガラダシマブによる薬理学的反応は最終投与から 8 週間後には完全に回復した。aPTT 延長の程度は用量依存的ではなかったことから、静脈内投与では 10、30 及び 100 mg/kg/回の用量で、皮下投与では 60 及び 200 mg/kg/回の用量で最大の薬理学的反応が得られたことが示された。

皮下投与部位でみられた軽度な炎症は、休薬により完全に回復しており、毒性ではないと考えられる。一部の投与群では肝臓重量が低下したが、肝臓重量の低下に関連した病理組織学的変化はみられなかったため、これらの所見は毒性とは考えられなかった。

毒性機序を解明するため、3 mg/kg/回群の動物で追加検査を実施した。評価項目として、病理組織学的検査、種々の炎症性サイトカイン、免疫グロブリン E、C 反応性タンパク質（CRP）、末梢血及び脾臓の白血球イムノフェノタイピング、脳・腎臓・肺・皮膚における IgM 及び IgG の免疫組織化学検査などを実施し、臨床症状との関連について解析したが、得られたデータからは観察された毒性の機序解明に関する新たな知見は得られなかった。

これらを総合すると、毒性は異種ヒトタンパク質であるガラダシマブの反復投与に対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）によるものである可能性が高いと考えられる。このことは、観察された一般状態の特徴（マウスにおけるアナフィラキシーの臨床徴候に関する報告［Finkelman, 2007］と一致）及びその時間経過に加え、毒性が反復投与後にのみ出現したこと及びマウスにおいてガラダシマブが免疫原性をもつことを示す ADA が検出されたことによって裏付けられている。免疫反応によると考えられる毒性の発現例数には用量依存性が認められなかったが、薬物が抗原となり、生体の抗体と反応して誘発されるアレルギー性副作用は用量非依存性であることが知られている（宇野、2018; Ryder and Waldmann, 2004）。

投与経路にかかわらず認められた aPTT の延長は、ガラダシマブ投与で予想される薬理学的反応と考えられた。

ガラダシマブ投与に関連した一般状態の変化及び 3 又は 4 回目の投与時に死亡がみられたため、3 mg/kg/回を静脈内投与した雄は投与 18 日（6 回目の投与）の採血後、3 mg/kg/回を静脈内投与した雌は投与 12 又は 13 日（4 回目の投与後）の採血後に投与を中止した。さらに、10 mg/kg/回を静脈内投与した雄 1 例及び雌 3 例、並びに 30 mg/kg/回を静脈内投与した雌 1 例も投与 18、22 又は 29 日に死亡又は安楽殺した。観察された毒性所見は、異種ヒトタンパク質であるガラダシマブの反復静脈内投与に起因するアナフィラキシーによるものと考えられた。

以上のように、ガラダシマブ投与に関連した一般状態変化及び死亡を除き、すべての用量レベル（3、10、30 及び 100 mg/kg/回の静脈内投与、並びに 60 及び 200 mg/kg/回の皮下投与）においても、毒性学的意義のある所見は認められなかった。

本試験条件下では、低用量（3 mg/kg/回）の静脈内投与を早期に中止したため、静脈内投与の NOAEL を求めることはできなかった。皮下投与の NOAEL は 200 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.3.3 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（試験番号 TOM 16-02）

本試験は CD-1 マウスを用いた GLP 試験（試験番号 APQ0061）で観察された毒性機序を明らかにすることを目的とし、ガラダシマブの 3 mg/kg/回を 4 週間（28 日間）反復静脈内投与した後、その忍容性をアイソタイプコントロールモノクローナル抗体（Mab）と比較した。

本試験では、雌雄の Crl:CD1(ICR)マウスを 4 群（5 例／性／群）に割り付け、週 2 回静脈内投与した。投与回数は、投与開始日を投与 0 日として投与 0、3、7、10、14、17、21、24 及び 28 日（試験番号 APQ0061 と同様）とした。第 1 群には、対照物質である 0.9%等張生理食塩液を投薬群と同じ投与容量で投与した。第 2 群には、試験番号 APQ0061 で所見がみられたガラダシマブの 3 mg/kg/回を投与した。第 3 群には、ガラダシマブの 3 mg/kg/回を静脈内投与する 30 分前にヒスタミン H_1 受容体拮抗薬であるピリラミンの 2.5 mg/kg/回を静脈内投与し、ヒスタミンが介在するアナフィラキシーが抑制されるかを調べた。第 4 群には、ヒトタンパク質であるガラダシマブに対する ADA 産生とは無関係なマウスの免疫反応を評価するため、ガラダシマブと同用量である 3 mg/kg/回のアイソタイプヒトコントロール Mab を静脈内投与した。

本試験で観察された主な結果は、投与時の一般状態変化、体温変化及び死亡であった。副次的評価項目では、サイトカイン及びアナフィラトキシン C5a の分析、血液学的検査及び投与終了時の病理組織学的検査で所見がみられた。

試験中、3 例のマウスに以下のような毒性所見が認められた。

第 2 群のガラダシマブ静脈内投与群において、雄動物 1 例（動物番号 9）が 5 回目の投与後にアナフィラキシーを示した。この動物で認められた一般状態は、試験番号 APQ0061 でみられた所見と同様、活動性低下及び浮腫等であった。さらに、体温の著しい低下が観察され、ガラダシマブの静脈内投与でみられる所見がアナフィラキシーに基づくという仮説を支持した。この動物は動物福祉の観点から安楽殺した。

第 4 群のヒトアイソタイプコントロール Mab を静脈内投与した雄 1 例（動物番号 7）が、7 回目の投与後にアナフィラキシーを示した。この動物では、上述のガラダシマブを静脈内投与した雄動物と同様に活動低下及び体温低下がみられ、その程度も同程度であった。この結果から、ガラダシマブの静脈内投与でみられたアナフィラキシーは、ガラダシマブの標的（FXIIa）及び作用機序とは無関係であり、異種ヒト抗体に対する免疫反応によるものであることが確認された。この動物は動物福祉の観点から安楽殺した。

第 3 群のヒスタミン H_1 受容体拮抗薬で前処置後にガラダシマブを静脈内投与した雄 1 例（動物番号 8）では、7、8 及び 9 回目の投与後に一過性のわずかな活動性と体温の低下がみられたが、その後直ちに回復した。この結果から、ヒスタミン H_1 受容体拮抗薬の前処置がガラダシマ

ブ投与によるアナフィラキシーの重篤度を軽減し、症状の早期回復につながったことが確認された。この動物は、投与 28 日の試験終了時に剖検した。

その他のすべての動物は、投与の影響を受けなかった。前述した一般状態変化を除き、ガラダシマブ 3 mg/kg/回の静脈内投与に関連した毒性学的に意義ある所見は認められなかった。本試験期間中、3 例の動物を動物福祉の観点から安楽殺したが、死亡はなかった。投与に関連した一般状態変化を示した 2 例（ガラダシマブの 5 回目の投与後の動物番号 9、及びヒトアイソタイプコントロール Mab の 7 回目の投与後の動物番号 7）に加え、闘争が原因と思われる傷害が観察された動物（第 2 群、動物番号 6）について、動物福祉の観点から安楽殺を実施した。試験終了時にはサイトカインレベル測定、血液学的検査及び肉眼的観察を行ったが、GLP 適用試験である試験番号 APQ0061 で観察された毒性機序に関連した変化は認められなかった。

以上のように、本試験成績は、異種ヒト抗体による免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）を示すものであり、さらに、試験番号 APQ0061 で観察された毒性所見の発現機序が免疫反応であったという仮説を支持するものである。ICH S6（R1）ガイドラインにも記載されているように、免疫反応は主として動物に異種タンパク質を反復投与した後に発現するものであるため、これらの成績はヒトにおける抗体形成の可能性、ひいては臨床使用での有害事象を予見するものではないと判断した。

結論として、上記の毒性は、異種ヒトタンパク質であるガラダシマブに対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）によるマウス特有の変化であり、ヒトへの外挿性は低いと考える。

2.6.6.3.4 CSL312：カニクイザルを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0055）

本試験では、カニクイザルにガラダシマブを 8 日間反復静脈内（3、10、30 及び 100 mg/kg/回）又は皮下投与（60 及び 200 mg/kg/回）し、ガラダシマブによる全身毒性を評価した。動物には対照物質である 0.9%等張生理食塩液又はガラダシマブを投与 1 及び 8 日に静脈内投与（第 1～5 群）又は皮下投与（第 1、6 及び 7 群）し、投与 9 日に剖検した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4 試験番号 APQ0055：試験デザイン

Group	Treatment	Dose (mg/kg/occasion)	Route	Number of animals	
				Main study	
				Male	Female
1	Control[a]	0	IV / SC	1	1
2	garadacimab	3	IV	1	1
3	garadacimab	10	IV	1	1
4	garadacimab	30	IV	1	1
5	garadacimab	100	IV	1	1
6	garadacimab	60	SC	1	1
7	garadacimab	200	SC	1	1

a Control animals used for both IV and SC dosing
Abbreviations: IV = intravenous; SC = subcutaneous

評価項目は、TK、一般状態、体重、眼科学的検査、血液学的検査（末梢血）、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、補体活性化マーカーC3a 測定、D-ダイマー分析、トロンビン抗トロンビン複合体測定、肉眼的観察及び病理組織学的検査とした。

対照群及びガラダシマブ投与群の投与 1 日の投与前血液サンプルからガラダシマブは検出されなかったが、投与開始後のガラダシマブ投与群ではガラダシマブの全身曝露が確認された。TK 解析の結果、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は雌雄ともに静脈内及び皮下の両投与経路において、投与量の増加に伴い上昇し、静脈内投与では 100 mg/kg/回まで投与量に比例していた。皮下投与は 2 群構成のため用量比例は算出しなかった。$t_{1/2}$ 値は、静脈内投与で 65～126 時間、皮下投与で 116～161 時間であった。$t_{1/2}$ に用量依存性は認められなかった。

初回投与後、いずれの投与経路においても aPTT の延長を除き、すべての用量で投与の影響は認められなかった。

ガラダシマブの反復静脈内及び反復皮下投与は、明らかな用量依存的 aPTT 延長を引き起こしたが、プロトロンビン時間（PT）には影響を及ぼさなかった。静脈内投与群の aPTT 延長は、投与 1 日の投与後 0.25～1 時間の間にピークを示し、その後、投与 8 日の次回投与まで徐々に短縮したが、この期間内にベースライン値には戻らず、投与 1 日の投与前値よりも高い値を維持した。皮下投与群の aPTT は投与後約 48 時間でピークに達し、その後はほぼ同レベルを維持するか、わずかに短縮した。その他の薬理作用は認められなかった。

以上のように、投与経路にかかわらずみられた aPTT の延長は用量依存的でありガラダシマブの臨床投与で予想される薬理学的反応と一致していた。その他、毒性学的意義のある所見は、試験した最高用量（静脈内投与の 100 mg/kg/回、皮下投与の 200 mg/kg/回）まで認められなかった。

したがって、本試験条件下での NOAEL は、静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.3.5 CSL312：カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0058）

本試験では、カニクイザルにガラダシマブを 5 週間反復静脈内（3、10、30 及び 100 mg/kg/回）又は皮下（60 及び 200 mg/kg/回）投与し、ガラダシマブの全身毒性及び TK を評価した。対照物質である 0.9%等張生理食塩液及びガラダシマブを投与 1、8、15、22、29 及び 36 日に静脈内投与（第 1～5 群）及び皮下投与（第 1、6 及び 7 群）した。また、最終投与から 8 週間にわたって回復性を評価した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-5 試験番号 APQ0058：試験デザイン

Group	Treatment	Dose (mg/kg/occasion)	Route	Number of animals			
				Main study		Recovery phase	
				Male	Female	Male	Female
1	Control[a]	0	IV / SC	3	3	2	2
2	garadacimab	3	IV	3	3	-	-
3	garadacimab	10	IV	3	3	-	-
4	garadacimab	30	IV	3	3	-	-
5	garadacimab	100	IV	3	3	2	2
6	garadacimab	60	SC	3	3	-	-
7	garadacimab	200	SC	3	3	2	2

a Control animals used for both IV and SC dosing

評価項目は、TK、補体活性化マーカーC3a、D-ダイマー分析、トロンビン抗トロンビン複合体、ADA、サイトカイン量、イムノフェノタイピング、一般状態、体重、眼科学的検査、心電図、血圧、呼吸数、血液学的検査（末梢血）、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査とした。

ガラダシマブ投与群では、ガラダシマブの全身曝露が確認され、ガラダシマブの血漿中濃度は投与量の増加とともに上昇し、性差は認められなかった。投与 1 日の C_{max}、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は、雌雄ともに両投与経路で投与量の増加に伴って上昇し、静脈内投与では 100 mg/kg/回まで投与量に比例していた。雌雄合算の平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ 蓄積比（$RA_{AUC0\text{-}24h}$）は、静脈内投与で 1.93～2.95、皮下投与で 2.77～3.81 であった。また、雌雄合算の平均 RA_{cmax} は、静脈内投与で 1.67～2.42、皮下投与で 1.53～2.00 であった。これらの結果より、静脈内投与（3～100 mg/kg/回）及び皮下投与（60 及び 200 mg/kg/回）のいずれにおいても反復投与による蓄積性が認められた。

100 mg/kg/回を静脈内投与した第 5 群において、回復 8 週に 1 例の動物でガラダシマブに対する ADA 陽性が確認された。この所見は 1 例の動物にのみ認められたため、毒性学的意義はないと考えられる。

ガラダシマブの静脈内及び皮下投与は、用量依存的に aPTT 延長を引き起こしたが、PT には影響を及ぼさなかった。静脈内投与群では、aPTT 延長は投与 1 及び 36 日の投与後約 0.25 時間でピークに達した。投与 1 及び 36 日では対照群との間に差はなかったが、投与 1 日の投与 168 時間後の aPTT は、10、30 及び 100 mg/kg/回を投与したすべての雌雄で対照群及び投与前値よりも高値を維持した。投与 36 日の投与前 aPTT 値も対照群及び投与前値より高く、ガラダシマブの曝露プロファイルに連動して長期間作用した。最終投与から 8 週間後の aPTT 値は、雌では対照群と同程度であったが、雄では高値であった。60 及び 200 mg/kg/回を皮下投与した動物の aPTT は、投与 1 及び 36 日の投与 32～72 時間にピークを示した。投与 1 日の 168 時間後、投与 36 日の投与前及び回復 8 週の aPTT 値は、全群でコントロール及び投与前値より高値を示し、皮下投与による長期的な薬理作用の発現が確認された。

ガラダシマブ投与に関連したその他の変化として、すべての静脈内投与及び皮下投与群における体重増加抑制（対照群の 0.11～0.67 倍）、60 及び 200 mg/kg/回の皮下投与群の病理組織学的検査でみられた投与部位の軽度な局所刺激性、200 mg/kg/回の皮下投与群の雄でみられた血中グルコース濃度の軽度増加並びに 10、30 及び 100 mg/kg/回の静脈内投与群の雄でみられた甲状腺及び副甲状腺重量の低値がみられた。これらの変化は、投与に関連する可能性はあるが、軽微であり、毒性学的意義はないと考えられた。

以上のように、投与経路にかかわらずみられた aPTT 延長は、ガラダシマブ投与で予想される薬理学的反応と一致していた。その他の変化は、すべての投与量において生物学的正常範囲内であり、毒性学的意義のある所見は、いずれの投与経路においても最高用量（静脈内投与は 100 mg/kg/回、皮下投与は 200 mg/kg/回）まで認められなかった。

したがって、本試験条件下での NOAEL は、静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.3.6 CSL312：カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 TH43GT）

本試験ではカニクイザルにガラダシマブ 26 週間反復静脈内（10、30 及び 100 mg/kg/回）又は皮下（60 及び 200 mg/kg/回）投与し、ガラダシマブの全身毒性及び TK を評価した。動物には、26 週まで週 1 回、対照物質である 0.9%等張生理食塩液を両経路で（第 1 群）、ガラダシマブを静脈内（第 2、3、4 群）及び皮下（第 5、6 群）で投与した。第 4 群（100 mg/kg/回の静脈内投与）及び第 6 群（200 mg/kg/回の皮下投与）には投与開始後 13 週間の中間期で剖検して評価する動物を設けた。中間期に評価する動物への最終投与は投与 14 週の 1 日目に、主試験動物への最終投与は投与 27 週の 1 日目に行った。また、26 週間の最終投与から 8 週間にわたる回復性を評価した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6 試験番号 TH43GT：試験デザイン

Group	Treatment	Dose (mg/kg/occasion); Route	Number of animals					
			Main study		Interim phase		Recovery phase	
			Male	Female	Male	Female	Male	Female
1	Control[a]	0; IV / SC	4	4	2	2	2	2
2	garadacimab	10; IV	4	4	-	-	-	-
3	garadacimab	30; IV	4	4	-	-	-	-
4	garadacimab	100; IV	4	4	2	2	2	2
5	garadacimab	60; SC	4	4	-	-	-	-
6	garadacimab	200; SC	4	4	2	2	2	2

a Control animals were used for both intravenous and subcutaneous dosing

評価項目は、一般状態、死亡、体重、摂餌量、TK、ADA 分析、薬力学的活性（aPTT）、眼科学的検査、安全性薬理パラメータ（心電図、血圧、脈拍数；及び呼吸数）、血液学的検査、血液

生化学的検査、尿検査、凝固系検査（PT、D ダイマー分析及びトロンビン抗トロンビン複合体）、免疫毒性／調節マーカー（補体活性化マーカーC3a、サイトカイン量及びイムノフェノタイピング）、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査とした。

投与動物におけるガラダシマブへの全身曝露が確認され、血漿中ガラダシマブ濃度は、投与量の増加とともに上昇した。曝露に性差は認められず、静脈内投与と皮下投与ともに雌雄で同じレベルであった。ガラダシマブ投与群における投与 1、14 及び 27 週の C_{max}、AUC_{0-24h} 及び AUC_{0-168h} は、いずれの投与経路においても、雌雄ともに投与量の増加に比例して上昇した。静脈内投与における $t_{1/2}$ は、投与量に関係なく、投与 1 日では約 116～145 時間、投与 14 週では約 167～211 時間の範囲であった。投与 27 週の $t_{1/2}$ は、第 2 群と第 3 群では算出できず、第 4 群では回復群の動物サンプルを用いて算出したところ、平均 179 時間であった。皮下投与における $t_{1/2}$ は、投与量に関係なく、投与 1 日は約 152～154 時間、投与 14 週は約 165～208 時間であった。投与 27 週の $t_{1/2}$ は、第 5 群では算出できず、第 6 群では回復群の動物サンプルを用いて算出したところ、平均 221 時間であった。TK データから、静脈内及び皮下投与のいずれにおいても、投与 13 及び 26 週以上の週 1 回投与によるガラダシマブの蓄積は最大 4.78 倍であることが示された。

ADA 分析において、200 mg/kg/回を皮下投与した動物番号 537、30 mg/kg/回を静脈内投与した動物番号 446 及び 100 mg/kg/回を静脈内投与した動物番号 239 が陽性であった。しかし、動物番号 446 及び 239 の血漿中ガラダシマブ曝露量は、試験を通して ADA の影響を受けていないと考えられた。動物番号 537 の血漿中ガラダシマブ濃度は、ADA 検出後一貫して予想より低い値を示し、この動物の aPTT 値が、同一ガラダシマブ投与群の動物と比べて低く、10 週目の対照群値と同様の値を示したことと相関した。投与 119 日に安楽死させた動物番号 238（詳細は以下を参照）は、確認試験結果からは ADA 陰性と判定したが、投与 10、14 及び 17 週に採取したサンプルのスクリーニングアッセイでは ADA 陽性（再測定では ADA 弱陽性）であった。この動物でみられた一般状態所見（腹部及び口吻部の腫脹、皮下液貯留）、投与 6 週の投与後からの血漿中ガラダシマブ曝露量の減少及び予想より低い aPTT 値などから、この動物も ADA 反応を発現したと考えられた。

ガラダシマブの静脈内及び皮下投与において、用量依存的で明らかな aPTT の延長がみられた。これはガラダシマブ投与で予想される薬理学的反応と一致していた。aPTT の延長は経時的に進行する用量依存的な変化であり、静脈内投与では投与 0.25～5 時間の間に、皮下投与では概ね投与 48～96 時間の間にピークを示した。aPTT は投与後 168 時間まで延長を維持し、ガラダシマブ投与群の投与後 168 時間の平均 aPTT は対照群と比べ、それぞれ 1.61 倍（第 2 群）、2.16 倍（第 3 群）、2.17 倍（第 4 群）、1.9 倍（第 5 群）及び 2.43 倍（第 6 群）であった。8 週間の回復期間終了時の aPTT は対照群と比べ 1.28～1.66 倍であり、完全には回復していなかったが、回復傾向は認められた。ADA 陽性の動物番号 537 は、投与 10 週に対照群と同様の aPTT 値を示したことから、ガラダシマブに対する ADA が予想される薬理作用を阻害したことが確認された。さ

らに、すべての試験動物において、26 週間の投与期間を通じて PT への影響は認められなかった。

投与 26 週に剖検を予定していた 200 mg/kg/回の皮下投与群の雌 1 例（動物番号 537）は投与 66 日に、100 mg/kg/回の静脈内投与群の雄 1 例（動物番号 238）は投与 119 日に動物福祉上の観点から安楽殺した。

上述した雌 1 例（動物番号 537）では、安楽死の直前に頚部と肩関節領域の周囲に広範な腫脹を認め、軽度の発熱と発声障害を呈した。肉眼的観察では肺の暗色化、腎臓の変色（淡色化及び暗色化）と肥大、胆嚢の形態異常、下顎リンパ節の腫大、骨格筋の一部隆起、皮下投与部位の暗色化、甲状腺嚢胞並びに下顎唾液腺の浮腫が認められた。重要な病理組織学的所見として、骨格筋の筋線維壊死と再生、下顎リンパ節の形質細胞浸潤、下顎の炎症性細胞浸潤、皮下投与部位及び舌下唾液腺の出血及び炎症性細胞浸潤がみられ、安楽殺前に観察された一般状態及び肉眼的観察所見と相関していた。その他に病理所見がみられた組織は、肺、眼球、腋窩リンパ節、耳下腺唾液腺、胸腺、甲状腺であった。さらに、この動物から採取した ADA サンプルは陽性であることが確認された。このことは、この動物の血漿中ガラダシマブ濃度が投与 1 から 6 週まで一貫して群平均より低いこと、投与 10 週の投与後 32 時間の血漿中ガラダシマブ濃度が大きく低下したことと相関しており、ADA によりガラダシマブのクリアランスが促進されたことを示していた。観察された一般状態所見（大型の腫脹、呼吸時の喘鳴、体温上昇）は、異種タンパク質であるガラダシマブに対する免疫反応に類似しており、この仮説は ADA の存在が確認されたことによってさらに支持されるものとなった。安楽殺となった主な要因は骨格筋の障害であり、これは免疫反応に起因する可能性があると考えられた。

雄 1 例（動物番号 238）においても、重篤で急速な浮腫の発症、広範な浮腫性変化（脂肪組織、膵臓、唾液腺及び皮膚／皮下）及び空腸粘膜の赤色化を伴う空腸及び十二指腸の肥厚といった消化管所見から、潜在的な免疫反応が示唆された。膵臓の浮腫及び各種臓器の炎症細胞浸潤（心臓、腎臓、食道、下顎及び舌下唾液腺）といった病理組織学的所見は、炎症反応と一致する変化と考えられた。この動物から投与 10、14 及び 17 週に採取したサンプルのスクリーニングアッセイではシグナルがわずかに阻害されたが、確認試験では ADA 陰性であった。しかし、この動物の投与 14 週のガラダシマブの曝露量は群平均より低いことから、安楽殺直前のガラダシマブに対する潜在的な免疫反応と考えられる所見と ADA 反応が関連していると考えられた。

血液生化学的検査において、100 mg/kg/回を静脈内投与した雄並びに 60 及び 200 mg/kg/回を皮下投与した雄で、主に投与 27 週にアラニンアミノトランスフェラーゼ活性がわずかに低下した。回復は、200 mg/kg/回を皮下投与した動物でのみみられた。また、すべての雌動物で平均カリウム濃度がわずかに上昇したが、明確な用量相関性はみられず、肝臓及び腎臓の病理組織学的変化とも関連しなかった。8 週間の休薬により、部分的な回復が認められた。これらの所見は、ガラダシマブ投与に関連する可能性はあるが、その程度が軽微で対照群との乖離が小さく、回復性が確認されていることから毒性学的意義はないと考えられた。

病理組織学的検査において、ガラダシマブ投与に関連した変化は、静脈内及び皮下の投与部位でみられた局所炎症反応（出血、炎症性病変及び痂疲）であった。27 回の皮下投与後、リンパ球の集簇が投与部位でのみ観察された。これらの変化は、ガラダシマブによる軽度の局所刺激作用であり、8 週間の休薬後に少なくとも部分的な回復が示された。これらの所見も、ガラダシマブ投与に関連したものではあるが、毒性学的意義はないと考えられた。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、安全性薬理学パラメータ（心電図、血圧、脈拍数、呼吸数）、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、凝固系検査（PT、D ダイマー分析、トロンビン抗トロンビン複合体）、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査において、ガラダシマブ投与に関連すると考えられる所見はみられなかった。

以上のように、カニクイザルの 13 週間の中間解析を含む 26 週間試験において、ガラダシマブを静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回まで投与した結果、薬理学的に予想される aPTT 延長が認められた。投与 26 週後に剖検を予定していた 2 例の動物は、動物福祉上の観点から安楽殺した。これら 2 例の一般状態所見及び各評価項目で得られた結果の特徴は、ガラダシマブ投与による ADA 反応と一致した。その他のガラダシマブ投与動物における病理組織学的変化は、投与部位に限定される局所炎症反応とリンパ球の集簇であり、ガラダシマブの軽度な局所刺激作用に起因すると考えられたが、8 週間の休薬により少なくとも部分的には回復した。

したがって，本試験条件下において、100 mg/kg/回（静脈内投与）及び 200 mg/kg/回（皮下投与）を投与した 2 例の早期安楽殺を考慮し、カニクイザルにガラダシマブを毎週 1 回合計 27 回反復投与した時の NOAEL は、30 mg/kg/回（静脈内投与）及び 60 mg/kg/回（皮下投与）と判断した。皮下投与の NOAEL である 60 mg/kg/回の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は 89,385 µg*h/mL であった。本試験では毎週 1 回の投与が行われたが、臨床での投与は月 1 回である。そこで、本試験の平均 AUC 値と臨床試験の 200 mg の月 1 回投与レジメンから報告された平均 AUC 値を比較するため、皮下投与の NOAEL の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ に 30/7 の比率を乗じた。その結果、カニクイザルに皮下投与した時の NOAEL における $AUC_{0\text{-}30days}$ は、ヒトの推奨用量である月 1 回 200 mg 投与時の臨床 AUC（10,300 µg*h/mL）の約 37 倍であった。カニクイザルに皮下投与した時の NOAEL である 60 mg/kg/回の平均 C_{max} は 686 µg/mL であり、ヒトの推奨用量である月 1 回 200 mg 投与時の臨床 C_{max}（21.2 µg/mL）の約 32 倍であった。

ガラダシマブを毎週 1 回合計 14 回反復投与した後の中間解析での NOAEL は、100 mg/kg/回（静脈内投与）及び 200 mg/kg/回（皮下投与）と判断した。

TK の値を以下の表 2.6.6-7 にまとめた。

表 2.6.6-7 試験番号 TH43GT：トキシコキネティクス

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Number of Animals	M: 4/6[a]	F: 4/6[a]	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4/6[a]	F: 4/6[a]	M: 4	F: 4	M: 4/6[a]	F: 4/6[a]
Toxicokinetics:												
$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)												
Week 1	-	-	4840	2540	11644	9072	39742	36523	4221	3893	13365	12534
Week 14	-	-	5363	6219	16058	17325	52546	50497	12426	14692	37212	37665
Week 27	-	-	6870	7358	17275	19854	58349	56328	9602	15234	30959	33401
$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)												
Week 1	-	-	17521	10776	41223	37007	142337	127252	41726	44366	140984	135316
Week 14	-	-	24939	29509	70191	81141	205735	199884	82159	96630	255718	237917
Week 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C_{max} (µg/mL)												
Week 1	-	-	264	158	618	540	2287	2003	322	349	1118	1067
Week 14	-	-	290	323	827	951	2862	2825	639	732	2016	2030
Week 27	-	-	347	370	1002	1021	3011	3094	463	728	1640	1797
T_{max} (h)												
Week 1	-	-	0.25	0.25	1.44	0.25	0.25	0.84	38.00	44.00	44.00	40.00
Week 14	-	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	28.00	26.00	30.00	33.14
Week 27	-	-	1.44	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	24.00	24.00	29.33	27.20
$t_{1/2}$												
Week 1	-	-	153	133	140	150	106	125	-	-	-	137
Week 14	-	-	225	180	156	178	255	174	184	231	167	163
Week 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a During Weeks 1 and 14, the number of animals included the Interim Phase animals
Abbreviations: AUC = Area under the plasma concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}t}$ = Partial area under the plasma concentration curve from time point zero (start of administration) to time t; C_{max} = Maximum plasma concentration; IV = intravenous; SC = subcutaneous; $t_{1/2}$ = terminal half-life; T_{max} = time to reach maximum concentration in plasma; - = Not applicable.

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ガラダシマブの遺伝毒性試験は実施していない。ICH S6（R1）ガイドラインでは、バイオ医薬品は、DNA や染色体成分と直接相互作用しないため、標準的な in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験は適用されない。

2.6.6.5 がん原性試験

ICH S6（R1）ガイドラインでは、バイオ医薬品の評価にはがん原性試験は一般的に適用されない。

ガラダシマブの潜在的発がんリスクを評価するために、詳細な発がんリスク評価を実施した（ガラダシマブ：試験番号 REP-008854、添加剤：試験番号 ST2020CSL-001）。

概略すると、ガラダシマブについて薬理、薬物動態及び毒性試験を含む非臨床試験を実施し、ガラダシマブと活性化 FXII との相互作用の特徴を明らかにして、薬理学的に反応する動物種（カニクイザル、ウサギ及びマウス）におけるガラダシマブの毒性を確認した。ガラダシマブは、FXIIa の酵素活性を強力に阻害し、α 及び β フラグメントの両方に対して FXIIa 触媒活性を 100%阻害したことから、ザイモーゲン FXII の機能に対する影響はない、又は無視できる程

度であることを示している。対照的に、ガラダシマブは、試験した他の血清プロテアーゼを有意に阻害しなかった。

ザイモーゲン及び活性化体 FXII（FXIIa）は、いずれも炎症及び細胞増殖を促進する作用をもつことが報告されている。FXII は、内皮細胞や平滑筋細胞において細胞分裂活性を有するが、これはザイモーゲン FXII のプロテアーゼ機能とは関連しない。FXII 及び FXIIa はともに好中球の機能をアップレギュレートし、マクロファージの分極化に寄与し、T 細胞の分化を誘導する。In vivo では、これらのシグナル伝達は病原体に対する宿主防御に寄与し、神経炎症の発症を介して、創傷治癒に影響し、がんの維持と進行を促進する可能性がある［Renné and Stavrou, 2019］。内皮では、ザイモーゲン FXII は細胞増殖を刺激し、in vivo では障害後の血管新生を刺激する。線維芽細胞では、TGF-β が FXII 発現を増加させ、線維芽細胞の増殖により、組織の線維化を誘発する。好中球では、FXII は Akt2 を刺激して好中球の接着、遊走、走化性を開始して、NETosis を引き起こす。樹状細胞では、FXII は神経炎症に寄与しており、FXII 欠損や薬理学的阻害作用により、マウスは自己免疫性脳脊髄炎を誘発しにくくなる。このことは、FXII が複数の炎症反応の要因に関与していることを示している［Schmaier and Stavrou, 2019、Didiasova et al, 2018］。FXII ノックアウトマウス（FXII-/-）は、12 ヵ月以上健康に生存可能であり、バイタルの異常はなく、肉眼的および病理組織学的にも野生型と同様である［Pauer et al, 2004］。FXII ノックアウトマウスの結果は、ザイモーゲン及び活性化 FXII はいずれも生命維持に必須ではないことを示唆している。ヒトにおいても重篤な第 XII 因子欠乏症の発生率は不明であり、多くの欠乏症患者は診断されていない可能性が高い。

抗 FXIIa 抗体による FXII の阻害は、患者血漿中の細胞外小胞を介した凝固促進活性の増加を抑制する［Nickel et al., 2015］。抗 FXIIa 治療は、血栓症治療への有望なアプローチであり、様々な疾患における炎症反応を抑制し、がん患者により安全な抗凝固薬の開発につながる可能性があると考えられている［Nickel et al., 2016、Nickel et al., 2015］。

活性化 FXII の阻害やザイモーゲン FXII の欠乏が、患者にがん、腫瘍又は催奇形性を誘発するという論文報告はなく、逆に FXIIa を阻害することにより、炎症反応やがんの進行が抑制されることが多く知られている。

ガラダシマブの最終製剤中の添加剤に関する潜在的発がんリスク評価では、L-ヒスチジン、L-アルギニン一塩酸塩、L-プロリン及びポリソルベート 80 は、ガラダシマブの曝露条件において、がん原性はないものと考えられた。

全動物種に対する無毒性量は、試験された最高用量、すなわち静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回であった。ガラダシマブの非臨床試験において、in vivo 肉眼検査又は病理組織学的検査を含めて、患者に発がん又は腫瘍誘発の可能性を示すようなガラダシマブ投与に関連した毒性は認められなかった。

以上のように、1）製品のクラスエフェクト（FXIIa の阻害）としての潜在的発がんリスクは知られていない、2）構造活性相関の結果から、ガラダシマブとその添加剤に発がんリスクはないと考えられる、3）ガラダシマブのようなバイオ医薬品では遺伝毒性はないと考えられる、

4）反復投与毒性試験において、（前）腫瘍性病変は認められなかった、5）ガラダシマブは組織中に長期間残存せず、非臨床試験では局所反応は認められなかった。

したがって、証拠の重み付けアプローチの結果、ガラダシマブを患者に投与しても発がんの可能性はないと判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

ガラダシマブの生殖発生毒性は、ウサギを用いた 100 mg/kg/回までの静脈内又は皮下投与による雌雄の受胎能及び初期胚発生に関する試験、胚・胎児発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験により評価した。

ICH S6（R1）及び ICH S5（R3）の両ガイドラインに従い、生殖発生毒性試験は薬理学的に適切な動物種であるウサギ 1 種のみで実施した。本ガイドラインによれば、胚・胎児発生に対するバイオ医薬品の影響は、通常、薬理学的な関連性がある場合、2 種の動物種（げっ歯類 1 種と非げっ歯類 1 種）を使用する必要がある。マウスでは FXIIa への結合が証明されたが、マウスは反復投与後に異種ヒトタンパク質に対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）を発現することが示された（試験番号 APQ0061、TOM 16-02）。したがって、胚・胎児の発生段階にわたるガラダシマブの反復投与によって得られた結果は、免疫学的応答の影響を受ける可能性があることから、データ解釈に誤解を招き、ヒトへの外挿性がないと考えられる。また、3Rs の原則を考慮すると、マウスからは意味のある安全性情報を得ることができない。ラットは薬理学的に適切な動物種ではなく、いずれの in vivo 非臨床試験にもラットは使用しなかった。ラットの FXII に対する抗 FXIIa 親抗体（3F7）及びガラダシマブの結合の欠如は、ウエスタンブロット法を用いて確認されており（試験番号 REP-21279）、ラット血漿中の FXIIa の阻害は in vitro 発色活性アッセイにおいて観察されなかった（試験番号 REP-009151）。薬理学的に適切な代替種が存在する場合、ヒト以外の霊長類の使用は倫理的ではないことから、当該試験はウサギ 1 種を用いて実施した。

ウサギでは、母動物の IgG 及びより低いレベルのアルブミンが胎児卵黄嚢膜を通過して母動物の子宮内腔から胎児へ移行する。さらに、母動物の循環血液中に注入されたヒト IgG はウサギ胎児にも良好に輸送され、ウサギ新生児の Fc 受容体がヒト IgG と効率的に結合することが示された［Szikora et al, 2017］。ガラダシマブの胎児移行性はウサギを用いた出生前及び出生後の発生試験及び胚・胎児発生予備試験おいても確認された。

表 2.6.6-8 に生殖発生毒性試験の概要を示す。

表 2.6.6-8 生殖発生毒性試験の一覧

Study Type	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Female fertility & implantation development, rabbit	8408860	[redacted]	garadacimab	Yes

Study Type	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Male fertility & implantation development, rabbit	8399537	[redacted]	garadacimab	Yes
Embryo-fetal development, rabbit	MN80HQ	[redacted]	garadacimab	No
Embryo-fetal development, rabbit	VK47BJ	[redacted]	garadacimab	Yes
Prenatal and postnatal developmental toxicity, rabbit	8410864	[redacted]	garadacimab	Yes

2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生

2.6.6.6.1.1 CSL312：雌ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8408860）

本試験では、雌ウサギに交配前から剖検まで 3 日間隔（計 8～10 回）でガラダシマブを静脈内投与し、交尾及び受胎能に対する影響を評価するとともに、TK 評価を実施した。

1 群 25～26 例の New Zealand White 雌ウサギにガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を交配前 0 日（投与 1 日）、3、6、9 及び 12 日、交配 1 及び 4 日（交配が確認された場合を除く）、並びに妊娠 1、4 及び 7 日に投与した。雌は妊娠 14 日に帝王切開して妊娠の有無を判定し、子宮内観察を行った。

試験デザインを以下の表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9 試験番号 8408860：試験デザイン

Group	Treatment	Route	Number of animals[a]	Dose Level[b] (mg/kg/dose)	Dose Concentration (Nominal) (mg/mL)	Injection Volume[c] (Nominal) (mL/kg)
			Females			
1	Control[d]	IV	25	0	0	1
2	garadacimab	IV	26[e]	10	100	0.1
3	garadacimab	IV	25	30	100	0.3
4	garadacimab	IV	25	100	100	1

a Naïve males were assigned to each group for mating purposes only
b Animals were dosed every 3 days
c Animals were dosed according to the nominal dose
d Group 1 was administered vehicle control article only
e One female administered 10 mg/kg/dose was removed on the first day of dosing (Pre-Mating Day 0) due to administration of a partial dose.
Abbreviations: IV = intravenous

本試験では、雌の生殖腺機能、交尾行動、受胎能に対する影響を評価した。

評価項目は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、交尾及び受胎能、卵巣重量、並びに剖検とした。また、血液を採取し、TK 及び免疫原性評価を実施した。

対照群の雌 1 例は後肢骨折の可能性があったため、試験系から除外した。10 mg/kg/回群の雌 1 例は投与液の全量を投与できなかったため、交配前 0 日（投与 1 日）に試験系より除外し、代

替動物と置き換えた。残りの雌はすべて予定された剖検日まで生存した。交配用の雄に死亡はみられなかった。

ガラダシマブ投与に関連した一般状態の変化は交配前、交配期間中及び妊娠期間中を通じて認められなかった。なお、交配用の雄には、摂餌量低下、糞便量の減少及び泌尿生殖器周辺の被毛の褐色汚れがみられたのみであった。獣医師による治療は行われなかった。

雌の体重及び体重増加量には交配前及び妊娠期間中を通じてガラダシマブ投与の影響は認められなかった。なお、交配前にみられた交配用の雄の体重変化は投与を実施していないことからガラダシマブ投与に起因したものではなかった。摂餌量には交配前及び妊娠期間中ともにガラダシマブ投与の影響は認められなかった。

ガラダシマブの 10～100 mg/kg を静脈内投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}72h}$ は投与量の増加に伴って上昇し、交配前及び交配期間中、並びに妊娠期間中の雌に 3 日間隔でガラダシマブを反復投与することによって蓄積の可能性が示唆された。ADA の発現は反復投与後に増加したが、中和効果やガラダシマブの曝露の減少を引き起こすことはなく、ADA 陽性及び ADA 陰性であった雌の血漿中濃度は同用量及び測定時点でおおむね類似していた。

交配所要日数、交尾率、繁殖率、受胎率にガラダシマブによる影響は認められなかった。10 mg/kg/回群の雌 1 例は、交配に割り当てたどの雄とも交尾しなかったが、その他の雌はいずれも交配開始から 6 日以内に交尾した。交尾した雌の大部分は交配初日に交尾が確認された（0、10、30 及び 100 mg/kg/回群のそれぞれ 23、22、25 及び 21 例）。受胎率は、0、10、30 及び 100 mg/kg/回群でそれぞれ 96%、92%、96%及び 92%であった。卵巣重量及び肉眼的病理所見にはガラダシマブ投与による影響は認められなかった。

母動物の生殖パラメータや胚生存率に対するガラダシマブ投与による影響は認められなかった。黄体数は対照群及びすべてのガラダシマブ投与群で約 10 であった。10 及び 100 mg/kg/回群では、わずかではあるが統計学的に有意な着床痕数の増加が認められた。10 mg/kg/回群では、着床前胚死亡率の減少も認められた（対照群の 14.6%に対して 5.4%）。着床痕数及び着床前胚死亡率の変化は軽度であること、受胎能への影響は認められなかったこと、用量依存性が認められなかったことから、ガラダシマブ投与との関連性はないと判断した。

早期及び後期吸収胚数、着床後胚死亡数、並びに同腹児数をもとに算出した胚生存率にはガラダシマブ投与による影響は認められなかった。早期及び後期吸収胚数、並びに着床後胚死亡数の平均値は対照群及びすべてのガラダシマブ投与群でほぼ 0 であった。また、対照群とガラダシマブとの間に着床後胚死亡率及び同腹児数に意味のある差異は認められなかった。試験番号 8408860 で観察された着床痕数、着床前胚死亡及び受胎能の変化は、試験実施施設における同一の種／系統の背景値の範囲内であった。

以上のように、雌ではガラダシマブ投与による一般状態の変化、体重及び摂餌量への影響、肉眼的病理所見、並びに臓器重量への影響は認められなかった。交尾、繁殖率、受胎率への影響も認められなかった。さらに、母動物の生殖パラメータや胚の生存率にも影響は認められなかった。

したがって、母動物の一般毒性及び受胎能、並びに初期胚発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/回と判断した。本試験の NOAEL である 100 mg/kg/回投与時の妊娠 7 日における平均 $AUC_{0\text{-}30days}$ は 852,000 µg*h/mL、平均 C_{max} は 2,430 µg/mL であり、ヒト推奨用量である 200 mg の 1 ヵ月 1 回投与時のヒトでの AUC（10,300 µg*h/mL）及び C_{max}（21.2 µg/mL）のそれぞれ約 83 倍及び約 115 倍であった。

2.6.6.6.1.2 CSL312：雄ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8399537）

本試験では、雄ウサギに交配前から剖検まで 3 日間隔でガラダシマブを静脈内投与し、交尾及び受胎能に対する影響を評価するとともに、TK 評価を実施した。

1 群 25 例の New Zealand White 雄ウサギにガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を交配前 0 日（投与 1 日）、3、6、9、12、15、18、21、24 及び 27 日、交配 2 及び 5 日、並びに交配期間終了後 2、5 及び 8 日に投与した。雄は最終投与の翌日である交期間終了後 9 日に剖検した。交尾の確認された雌は妊娠 14 日に帝王切開して妊娠の有無を判定し、子宮内観察を行った。

試験デザインを以下の表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-10 試験番号 8399537：試験デザイン

Group	Treatment	Route	Number of animals[a]		Dose Level[b] (mg/kg/dose)	Dose Concentration (Nominal) (mg/mL)	Injection Volume[c] (Nominal) (mL/kg)
			Males	Females			
1	Control[d]	IV	25	30	0	0	1
2	garadacimab	IV	25	24	10	100	0.1
3	garadacimab	IV	25	28	30	100	0.3
4	garadacimab	IV	25	28	100	100	1

a Naïve females were assigned to each group for mating purposes only
b Animals were dosed every 3 days
c Animals were dosed according to the nominal dose
d Group 1 was administered vehicle control article only
Abbreviations: IV = intravenous

本試験では、雄の生殖腺機能、交尾行動、受胎能に対する影響を評価した。

検査項目は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、生殖パラメータ、臓器重量、精子検査、臨床病理検査及び肉眼的観察とし、精巣、精嚢、前立腺及び肉眼病変については病理組織学的検査に供した。また、血液検体を採取し、TK 及び免疫原性評価を実施した。

試験期間中、ガラダシマブ投与に起因した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。ガラダシマブ投与との因果関係がないと考えられる死亡又は瀕死が 10 及び 30 mg/kg/回群の 4 及び 2 例で観察された。死亡及び瀕死の発現例数には用量反応性がなく、これらの動物に共通して認められた一般状態の変化や剖検所見も認められなかった。また、死亡や瀕死の原因は限られた組織の病理組織学的検査では特定できなかった。死亡及び瀕死動物の肉眼的観察で認められた

変化（前立腺及び精嚢の小型化、並びに精巣の軟化及び形態異常）は、病理組織学的検査で関連した所見が認められなかったこと、後述する通り、生殖機能障害を示唆する評価項目に影響がなかったこと（交尾、受胎能、繁殖能に対するガラダシマブ投与の影響は認められず、精子検査でも異常は認められなかったこと）から、本試験条件下におけるウサギの毒性とは判断しなかった。なお、これらの動物の死亡や瀕死の原因は明らかにできなかったが、外来性タンパク質に対する有害な免疫反応の結果であった可能性がある。外来タンパク質は免疫複合体の形成によりマウスで死に至る有害な免疫応答を誘発することが報告されている［Bugelski et al, 2000; Jönsson et al, 2011; Krishna and Nadler, 2016; Luffer-Atlas et al, 2018］。本試験で認められた逆用量反応は循環する ADA の化学量論と関連するとされた文献での報告［Krishna and Nadler, 2016; Luffer-Atlas et al, 2018］と類似している。さらに、死亡例の中には、皮膚や眼の蒼白化、呼吸困難、呼吸促迫、耳介の冷感などの一般状態の変化を示した動物もみられ、肺や血管系といった臓器が過敏性ショックを受けることと一致している。これらの所見を総合すると、観察された死亡例は外来タンパク質であるガラダシマブに対する過敏反応の結果であるという結論を支持するものである。

体重、体重増加量及び摂餌量に対するガラダシマブ関連の影響は観察されなかった。

ガラダシマブの 10～100 mg/kg を静脈内投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}72h}$ は投与量の増加に伴って概ね上昇し、ガラダシマブを複数回投与することによって、交配前 15 及び 27 日にわずかな蓄積が認められた。ADA は投与後に少なくとも 1 回、0、10、30 及び 100 mg/kg/回群の約 28%、32%、16%及び 72%の動物で陽性となり、瀕死の発現日における ADA 誘導の発生率は 10 mg/kg/回群で 67%であった。対照群の動物では 28%が ADA 陽性となったが、これらの結果は原因不明の偽陽性である可能性が高いと考えられた。

ADA が死亡又は瀕死に関与しているかどうかについては不明であるが、瀕死動物で検出された高濃度の ADA の存在を死因として完全に排除することはできず、死亡は異種タンパク質（IgG4/λ 組換えモノクローナル抗体）に対する動物の免疫反応に関連している可能性が最も高いと考えられた。前述したように、免疫反応は異種タンパク質の反復投与後に発現することが予想されるため、本試験での死亡発現は臨床使用での有害事象を予見するものではなく、この点については ICH S6（R1）ガイドラインの記載とも一致している。

雄の交尾、受胎能、繁殖能に対するガラダシマブ投与に関連した影響は認められず、精子検査でも異常は認められなかった。ガラダシマブ投与群の雄に割り付けられた雌の受胎率は 0、10、30、100 mg/kg/回群でそれぞれ 77%、71%、76%及び 82%であった。なお、精子の運動性及び濃度、並びに精子上体の尾部重量にはガラダシマブ投与の影響はみられず、対照群と同等であったが、精子の運動性が統計学的に有意ではないものの、投与開始前に比べて交配開始後には増加した。しかし、この変化はガラダシマブ投与に起因するものではなく、採精技術のばらつきによるものであった。臓器重量に対するガラダシマブ投与の影響は観察されなかった。すべてのガラダシマブ投与群では薬理作用に基づく aPTT の延長が認められた。ガラダシマブ投与に関連した肉眼的及び病理組織学的所見は観察されなかった。

以上のように、ガラダシマブの 10、30、100 mg/kg/回を 3 日間隔で静脈内投与した場合の忍容性は良好であり、ガラダシマブ投与に関連した死亡や一般状態の変化は認められず、体重、体重増加量、摂餌量への影響も認められなかった。ガラダシマブの薬理作用に基づく aPTT の延長がすべてのガラダシマブ投与群で観察された。死亡や瀕死はヒトタンパクであるガラダシマブに対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）と考えられたが、異種タンパク（すなわち、ICH S6（R1）ガイドライン に記載された動物におけるヒトタンパク）の反復投与後に免疫反応が発現したと考えられることから、臨床使用での有害事象を予見するものではなかった。

したがって、雄の一般毒性、交尾及び生殖能に対する NOAEL はいずれも 100 mg/kg/回と判断した。本試験の NOAEL である 100 mg/kg/回投与時の平均 $AUC_{0\text{-}30days}$ は 1,060,000 µg*h/mL、平均 C_{max} は 2,930 µg/mL であり、ヒト推奨用量である 200 mg の 1 ヵ月 1 回投与時のヒトでの AUC（10,300 µg*h/mL）及び C_{max}（21.2 µg/mL）のそれぞれ約 103 倍及び 138 倍であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生

2.6.6.6.2.1 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験のための予備試験（試験番号 MN80HQ）

本試験では、妊娠ウサギの胎児器官形成期（妊娠 6～18 日）にガラダシマブを静脈内投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を予備的に評価して胚・胎児毒性試験の用量を設定した。

1 群 6 例の New Zealand White 雌ウサギにガラダシマブの 1、30 又は 100 mg/kg/回を妊娠 6、9、12、15 及び 18 日に静脈内投与した。対照群には媒体である 0.9%等張生理食塩液をガラダシマブの高用量群に合わせて 1 mL/kg/回の容量で静脈内投与した。母動物は妊娠 29 日に帝王切開して生殖機能の評価及び胎児検査を実施した。さらに 1 群 2 匹のサテライト群を設け、胎児への移行性を評価するため、妊娠 19 日に母動物を帝王切開して胎児血液を採取した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11 試験番号 MN80HQ：試験デザイン

Group	Treatment	Route	Number of animals[a]		Dose Level[b] (mg/kg/dose)	Dose Concentration (Nominal) (mg/mL)	Injection Volume[c] (Nominal) (mL/kg)
			Main Study	Satellite			
			Females	Females			
1	Control[d]	IV	6	2	0	0	1
2	garadacimab	IV	6	2	1	100	0.01
3	garadacimab	IV	6	2	30	100	0.3
4	garadacimab	IV	6	2	100	100	1

a Male/female ratio 1:1 using identified stock New Zealand White bucks
b Animals were dosed on Day 6, 9, 12, 15 and 18 after mating
c Animals were dosed according to the nominal dose
d Group 1 was administered vehicle control article only
Abbreviations: IV = intravenous

検査項目は死亡、一般状態、体重及び摂餌量とし、aPTT、TK 評価及び ADA 分析のために血漿サンプルを採取した。母動物は妊娠 29 日に帝王切開して肉眼的観察を実施し、妊娠子宮重量を測定した。すべての胎児は帝王切開時に肉眼的に観察した。

ガラダシマブ投与群ではガラダシマブの全身曝露が確認されたが、対照群の血漿及び投与 1 日前のいずれの血漿にもガラダシマブは検出されなかった。ガラダシマブの 1～100 mg/kg/回を反復静脈内投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ は投与量に比例して上昇し、$t_{1/2}$ は 27～34 時間で用量による違いは認められなかった。さらに、TK データからは静脈内投与を重ねることによって最大 1.60 倍までのわずかな蓄積が示唆され、初回投与以降、ガラダシマブの継続的な曝露が確認された。胎児血液をプールして TK 解析した結果、いずれの投与量においてもガラダシマブは胎盤を通過することが示された。

ADA はガラダシマブ投与群及び対照群ともに血漿中から検出されなかった。

ガラダシマブの 1、30、100 mg/kg/回を静脈内投与した場合の忍容性は良好であり、死亡や一般状態の変化は認められず、毒性学的に意義のある変化は観察されなかった。ガラダシマブ投与群の体重増加量はガラダシマブ投与の影響を受けず、妊娠 29 日の妊娠子宮重量及び妊娠子宮を除いた実質体重にもガラダシマブ投与の影響は認められなかった。摂餌量にもガラダシマブ投与の影響はなかった。

ガラダシマブの薬理作用に基づく明らかな aPTT の延長がすべてのガラダシマブ投与群で初回投与から観察された。

ガラダシマブ投与群ではいずれの用量においても、母動物及び胎児にガラダシマブ投与に起因した肉眼的病理所見は認められなかった。黄体数、着床数、死亡・吸収胚数、生存胎児数及び性比にはガラダシマブ投与による影響はなかった。さらに、胎盤重量、一腹の総胎児体重、胎児体重、同腹児数、胎児の形態にもガラダシマブ投与による影響は認められなかった。

以上のように、New Zealand White 妊娠ウサギにガラダシマブの 1、30 及び 100 mg/kg/回を胎児の器官形成期に静脈内投与すると、すべての用量で薬理作用に基づく aPTT の延長が認められたが、母動物の一般状態や体重に影響はみられず、良好な忍容性を示した。また、帝王切開時の観察では胚・胎児の生存性、同腹児数、胎児体重及び胎盤重量に投与による影響は認められず、胎児の形態にも異常は認められなかった。

したがって、New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、ガラダシマブの高用量を 100 mg/kg/回とすることが適切と考えられた。

本試験で得られた結果に基づき、母動物及び胎児に対する無毒性量は 100 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.6.2.2 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（試験番号 VK47BJ）

本試験では、妊娠ウサギの胎児器官形成期（妊娠 6～18 日）にガラダシマブを静脈内投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。

1 群 22 匹の New Zealand White 雌ウサギにガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を妊娠 6、9、12、15 及び 18 日に静脈内投与した。母動物は妊娠 29 日に帝王切開して生殖機能の評価及び胎児検査を実施した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-12　試験番号 VK47BJ：試験デザイン

Group	Treatment	Route	Number of animals[a] Females	Dose Level[b] (mg/kg/dose)	Dose Concentration (Nominal) (mg/mL)	Injection Volume[c] (Nominal) (mL/kg)
1	Control[d]	IV	22	0	0	1
2	garadacimab	IV	22	10	100	0.1
3	garadacimab	IV	22	30	100	0.3
4	garadacimab	IV	22	100	100	1

a Male/female ratio 1:1 using identified stock New Zealand White bucks
b Animals were dosed once every three days on Days 6, 9, 12, 15 and 18 after mating
c Animals were dosed according to the nominal dose
d Group 1 was administered vehicle control article only
Abbreviations: IV = intravenous

検査項目は死亡、一般状態、体重及び摂餌量とし、aPTT、TK 測定及び ADA 分析のために血漿サンプルを採取した。母動物は妊娠 29 日に帝王切開して肉眼的観察を実施して妊娠子宮重量を測定した。すべての胎児は帝王切開時に外表及び内臓を肉眼的に観察し、その後、頭部の詳細な内臓検査及び骨格検査を実施した。

ガラダシマブ投与群ではガラダシマブの全身曝露が確認されたが、対照群の血漿及び投与 1 日前のいずれの血漿にもガラダシマブは検出されなかった。ガラダシマブの 10～100 mg/kg/回を反復静脈内投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}48h}$ は投与量に比例して上昇し、$t_{1/2}$ は 29～49 時間で用量による違いは認められなかった。さらに、TK データからは静脈内投与を重ねることによって最大 1.81 倍までのわずかな蓄積が示され、初回投与以降、ガラダシマブの継続的な曝露が確認された。

ガラダシマブの薬理作用に基づく aPTT の延長が観察され、aPTT の延長は観察期間終了時、すなわち最終投与後 11 日にも依然として認められた。観察された aPTT の延長はすべての用量で最大の FXIIa 阻害作用を発現していることを示唆しているものと考えられた。

ADA 分析では、対照群の動物も ADA 陽性となり、ADA サンプリング時のガラダシマブ血漿中濃度が ADA 検出に影響を与えた可能性を否定できない薬物濃度の閾値（Drug Tolerance Level）を超えていたため、結論が出なかった。しかし、ガラダシマブへの曝露及び薬力学的活性（すなわち、aPTT 延長）が試験期間を通じて確認されたことから、ADA 形成の可能性が本試験の結果に影響を及ぼすものではないと考えられた。

100 mg/kg/回群では摂餌の低下及び糞便量の減少が観察された 2 例を安楽殺した。すなわち、動物番号 78 は削痩、軟便、糞便による被毛の汚れ、摂餌の減少又は廃絶が観察されたため、妊娠 16 日に動物福祉の観点から安楽殺した。剖検の結果、10 個の生存胚が認められた。動物番号 69 は摂餌量や飲水量の減少、削痩、糞便量の減少及びケージトレイ上に赤色又はピンク色の汚れが観察されたため、妊娠 22 日に動物福祉の観点から安楽殺した。剖検の結果、8 個の後期吸収胚が認められ、生存胚は認められなかった。ケージトレイ上の赤色/ピンク色の汚れは胎児の娩出によるものと考えられた。これら 2 匹の雌における糞便の異常（動物番号 78 では軟便、動

物番号 69 では糞便量の減少）及び胚・胎児発生の状況（動物番号 78 では生存胚、動物番号 69 では後期吸収胚）には共通性がなかった。生存動物ではガラダシマブ投与による影響が認められないこと、妊娠ウサギは実験操作に対する感受性が強いことが知られていること（主に消化管障害及び食欲不振、並びにこれらに引き続いて起きる流産［Cappon et al, 2005］）から、これら 2 例の状態悪化はガラダシマブ投与に起因したものではないと考えられ、総合的に判断してガラダシマブ投与に関連した毒性学的に意義ある変化は観察されなかった。

以上のように、母動物の一般状態にガラダシマブ投与に関連した変化は認められず、体重及び摂餌量にも影響はみられなかった。また、ガラダシマブ投与に関連した肉眼的観察での異常は観察されなかった。さらに、黄体数、着床数、死亡・吸収胚数、生存胎児数及び同腹児数にガラダシマブ投与の影響はみられず、胎児の性比にも影響はみられなかった。また、胎盤重量、一腹の総胎児体重、胎児体重に変化はみられず、ガラダシマブ投与に関連した胎児の形態異常も認められなかった。

したがって、母動物及び胎児に対する NOAEL は最高用量である 100 mg/kg/回と判断した。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能

2.6.6.6.3.1 CSL312：ウサギを用いた皮下及び静脈内投与による出生前及び出生後の発生並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8410864）

本試験では、着床から離乳までの間、ウサギの母動物に 5 日間隔でガラダシマブを皮下又は静脈内投与し、妊娠及び授乳中の雌に対する影響を評価するとともに、F1 出生児の成熟、生殖機能及び神経行動学的発達についても評価した。

1 群 25 匹の New Zealand White 雌ウサギにガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を皮下投与した。対照群には媒体である塩化ナトリウムを皮下投与した。さらに別途、25 匹の雌にガラダシマブの 100 mg/kg/回を静脈内投与する群を設けた。動物には、着床から離乳まで 5 日間隔で投与した。

試験デザインを以下の表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-13　試験番号 8410864：試験デザイン

Group	Treatment	Route	Number of animals[a]		Dose Level[b] (mg/kg/dose)	Dose Concentration (Nominal) (mg/mL)	Injection Volume[c] (Nominal) (mL/kg)
			Main Study	Placental Transfer			
			F0-Females	F0-Females			
1	Control[d]	SC	25	3	0	0	1
2	garadacimab	SC	25	3	10	170	0.059
3	garadacimab	SC	25	3	30	170	0.176
4	garadacimab	SC	25	3	100	170	0.59
5	garadacimab	IV	25	3	100	100	1

a F0 females were mated at the supplier using males of the same strain. Gestation Day (GD) 0 was designated as the day mating was confirmed.
b F0 toxicity animals were dosed on gestation day (GD) 7, 12, 17, 22, and 27 and lactation day (LD) 3, 8, 13, 18, 23, 28, 33, and 38. F0 placental transfer animals were dosed on GD 7, 12, 17, 22, and 27 and were sacrificed on GD29, blood samples were collected from all F0 placental transfer animals and their fetuses.
c Animals were dosed according to the nominal dose
d Group 1 was administered vehicle control article only
Abbreviations: IV = intravenous; SC = subcutaneous

評価項目は死亡、一般状態、体重、摂餌量、剖検並びに F1 世代の成熟及び神経行動学的評価とした。また、TK 測定並びに免疫原性及び aPTT 評価のために血漿サンプルを採取した。さらに、胎盤通過性評価のために母動物 3 例及びその胎児からも血漿サンプルを採取した。

F0 母動物には、ガラダシマブ投与に起因した死亡は認められず、一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量にも妊娠及び授乳期間中を通じて影響はみられなかった。

分娩及び出生児の生存に対するガラダシマブ投与の影響は観察されなかった。剖検ではガラダシマブ投与に起因した肉眼的病理所見は認められなかった。

10、30、又は 100 mg/kg/回群では、妊娠 7 日の皮下投与後 24 時間に aPTT の顕著な延長が観察された。aPTT の著しい延長は凝固に対する影響を引き起こす可能性があるが、本試験では凝固障害や凝固への影響を示唆する変化はみられなかった。

ガラダシマブの 10～100 mg/kg を皮下投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}120h}$ は投与量の増加に伴って概ね上昇したが、平均 C_{max} と $AUC_{0\text{-}120h}$ の上昇は用量比より概ね小さかった。New Zealand White ウサギへガラダシマブを複数回、皮下投与することによって蓄積が認められたが、複数回の静脈投与後に蓄積は認められなかった。

胎児と母動物の血漿中薬物濃度比はガラダシマブの皮下投与後で 0.0197～0.0653、静脈内投与後で 0.0281 であった。妊娠 29 日における胎児の血漿中薬物濃度は 10 及び 30 mg/kg/日の皮下投与で母動物の 76.6～136.6%であったが、100 mg/kg/日の皮下投与では母動物の 40.8%であった。ガラダシマブの 100 mg/kg/日を静脈内投与した場合、母動物と胎児の血漿中薬物濃度はほぼ同等であった。妊娠 7 日、並びに授乳 18 日及び 38 日に評価したガラダシマブの 100 mg/kg/日を皮下投与した場合のバイオアベイラビリティは、それぞれ 38.8%、60.5%及び 70.3%であった。

母動物の ADA 反応は、10～100 mg/kg/回の皮下投与で最大 44%、静脈内投与で最大 6.8%の動物に認められた。低用量である 10 mg/kg/回の皮下投与は、中用量及び高用量である 30 及び

100 mg/kg/日と比較して、ガラダシマブに対する母動物の ADA 陽性の誘導発生率が高かった。血漿中薬物濃度及び TK パラメータに関する考察は ADA 陽性動物及び ADA 陽性疑い動物を除外した結果に基づいている。

F1 出生児には、雌雄ともにガラダシマブ投与に起因した死亡は認められず、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量にも影響はみられなかった。

発達指標、並びに交尾、繁殖能及び受胎能に対するガラダシマブ投与の影響は雌雄ともに観察されなかった。

機能観察総合評価及び瞬目反射に対するガラダシマブ投与の影響は雌雄ともに観察されなかった。

以上のように、着床から離乳までの間、New Zealand White ウサギの母動物に 5 日間隔でガラダシマブの 10、30 及び 100 mg/kg/回を皮下投与、又は 100 mg/kg/回を静脈内投与した場合の忍容性は良好であり、F0 母動物及び F1 出生児にガラダシマブ投与に関連した毒性は観察されなかった。

したがって、母動物に対する NOAEL、F1 胎児の発生に対する NOAEL、F1 出生児の発達・神経行動・生殖能に対する NOAEL はいずれも皮下及び静脈内投与ともに 100 mg/kg/回と判断した。本試験の無毒性量である 100 mg/kg/日の皮下投与時における授乳 38 日の平均 $AUC_{0\text{-}30days}$ は 550,800 µg*h/mL、C_{max} は 927 µg/mL であり、ヒト推奨用量である 200 mg の 1 ヵ月 1 回投与時のヒトでの AUC（10,300 µg*h/mL）及び C_{max}（21.2 µg/mL）のそれぞれ約 53 倍及び 44 倍であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ウサギを用いて、2 種類のガラダシマブ製剤（100 及び 170 mg/mL）の皮下投与による局所刺激性を評価した。また、マウス（試験番号 APQ0056、APQ0061）及びカニクイザル（試験番号 APQ0055、APQ0058、TH43GT）を用いたすべての反復投与毒性試験において、忍容性及び局所刺激性を観察した。

マウスでは、いずれの用量においても、ガラダシマブ投与動物及び対照動物で尾の暗色化が観察されたことから、この所見はガラダシマブの刺激性ではなく投与操作によるものと考えられた。一部のガラダシマブ投与群及び対照群の雄マウスでは、尾静脈内投与部位や皮下投与部位に炎症性細胞浸潤、線維化や出血の増加が認められた。ガラダシマブ投与群の雌マウスでは、対照群に比べて皮下投与部位の炎症性細胞浸潤の発現率及び重症度が増加した。しかし、皮下投与部位の軽度な変化は完全に回復したことから、毒性学的意義はないと考えられた。

カニクイザルでは、投与 5 週後および 27 週後の剖検群の大部分の動物において、皮下投与部位および静脈内投与部位に出血や炎症性細胞浸潤が認められた。これらの発生率や重症度に用量依存性がないこと、対照動物にも同様な所見が認められたことから、これらは投与操作によるものであり、ガラダシマブの刺激性によるものではないと結論した。

以上、ガラダシマブの反復投与後に静脈内又は皮下投与部位で認められた所見のほとんどは、投与操作によるものであり、被験物質起因ではないと判断した。用量依存性が認められた所見についても、その程度が軽度であり回復性のある変化であったことから、皮下及び静脈内投与部位における忍容性はあるものと判断した。

表 2.6.6-14 に局所刺激性試験の概要を示す。

表 2.6.6-14 局所刺激性試験

Study Type	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Local Tolerance, rabbit	37761	[redacted] (100 mg/mL) [redacted] (170 mg/mL)	garadacimab	Yes

2.6.6.7.1 CSL312 製剤（2 種類）：皮下投与局所刺激性及び生物学的同等性試験（試験番号 37761）

本試験では、ガラダシマブの 2 種類の製剤（100 及び 170 mg/mL）を用いて、ウサギに 20 mg/kg/回（1 週間隔で 2 回）を皮下投与した後の局所刺激性を評価した。

観察期間（初回投与後 11 日）終了後に、全動物を安楽殺し、投与部位の肉眼検査及び病理組織学的検査を実施した。

観察期間中、いずれの動物においても毒性徴候は認められず、体重への影響も認められなかった。2 種類のガラダシマブ製剤は、観察期間中、投与部位に局所刺激性を示さなかった。病理組織学的検査では、皮下投与後にガラダシマブに起因した変化は認められなかった。

以上のように、ガラダシマブの 2 種類の製剤（100 及び 170 mg/mL）を 2 回皮下投与した結果、忍容性は良好であり、投与部位にガラダシマブに起因した変化は認められなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

表 2.6.6-15 にその他の毒性試験の概要を示す。

表 2.6.6-15 その他の毒性試験

Study Type	Study No	Batch No	Product used	GLP Status
Tissue Cross Reactivity, human and monkey	APQ0057	[redacted]	garadacimab	Yes

2.6.6.8.1 CSL312：ヒト及びカニクイザルの組織交差反応性試験（試験番号 APQ0057）

本試験の目的は、ガラダシマブの組織交差反応性を評価することであった。本試験は、ヒト及びカニクイザル由来の特定の組織を用いて、GLP 下で実施した。

検査したヒト及びカニクイザル（各 3 ドナー）の組織を表 2.6.6-16 に示す。カニクイザルの組織は、組織交差反応性（TCR）予備試験（ガラダシマブの免疫組織化学染色法の開発及び組織交差反応性の初期評価を目的とした試験、試験番号 APQ0060）において、ヒト組織でのガラダシマブ陽性反応に基づいて選択した。

各組織について、3 切片はガラダシマブ（5、2.5 及び 1.25 µg/mL）と、2 切片はアイソタイプコントロール抗体（5 及び 2.5 µg/mL）とそれぞれインキュベーションした。緩衝液対照及び陽性対照として、他の組織切片を用いた。

表 2.6.6-16　組織交差反応性評価に用いたヒト及びカニクイザルの組織（試験番号 APQ0057）

Tissues Assessed in both Human and Cynomolgus Monkey	
Adrenal[a]	Parotid[a]
Urinary bladder[a]	Peripheral nerve[a]
Bone marrow[a]	Pituitary[a]
Brain (Cerebellum[a], Cerebral cortex[a])	Prostate[a]
Liver[a]	Spinal cord[a]
Lung[a]	Spleen[a]
Lymph node[a]	Striated muscle[b]
Ovary[b]	Testis[a]
Pancreas[a]	Tonsil[c]
Parathyroid[a]	Ureter[a]
Tissues Assessed only in Human	
Blood cells[a]	Kidney[a] (Glomerulus, Tubules)
Breast[a]	Placenta[a]
Endothelium[b] (Blood vessels)	Skin[c]
Eye[a]	Thymus[a]
Fallopian tube[a]	Thyroid[b]
Gastrointestinal (Stomach[a], Ileum[b], Colon[b])	Uterus (Cervix[b], Endometrium[a])
Cardiac muscle[a]	

a Human tissues exhibiting specific staining of garadacimab
b Human tissues exhibiting no staining of garadacimab
c Human tissues exhibiting nonspecific staining of garadacimab

以下のヒト組織において、ガラダシマブの特異的染色が認められた：肝臓（陽性対照）、副腎、下垂体、肺（肺胞マクロファージ、肺胞上皮細胞）、心筋、中枢及び末梢神経系（小脳、大脳皮質、脊髄、末梢神経、視神経）、雌雄生殖組織（精巣、前立腺、卵管、子宮内膜、胎盤）、乳腺、泌尿器系（腎臓、尿管、膀胱）、免疫系（リンパ節、脾臓、胸腺、骨髄、血液塗抹標本）、消化器系（胃、膵臓、耳下腺）及び副甲状腺。これらの染色強度は様々であったが、肝臓、骨髄、肺、脊髄、大脳皮質及び眼（視神経）が最も強く染色された。しかし、in vitro 試験である APQ0057 試験において観察された組織結合自体は、in vivo での生物学的活性を示すものではない。通常、in vivo では抗体が到達できない領域（例えば、細胞質）への結合は、一般的に安全性とは関連しない。In vivo で全身曝露されたモノクローナル抗体の特定組織への到達は、生理的障壁（細胞膜、血液脳関門、血液精巣関門など）によって全体的に制限される。

さらに、ヒト組織では、非特異的染色（すなわち、ヒト Fc 領域との結合）が扁桃腺及び皮膚で認められ、卵巣、子宮頸部、横紋筋、結腸、回腸、甲状腺及び血管内皮は染色されなかった。

ヒト組織では、ガラダシマブ及びアイソタイプコントロール抗体で処理した切片で、視神経においてニューロンの陽性染色が認められた。ガラダシマブで処理した切片でより強く染色されたことから、特異的であると考えられた。卵管では、卵管上皮細胞において弱い特異的膜染色が認められた。染色は主に上皮の管腔表面で認められた。心筋では、心筋線維の特異的なびまん性の膜染色が、ガラダシマブの全濃度で全ドナーに認められた。心筋線維の細胞質に顆粒状パターンを伴う特異的染色が全ドナーで認められた。血液では、アイソタイプコントロール抗体及び陰性対照を含む全切片で、白血球の弱い非特異的細胞質染色が認められた。ガラダシマブで処理した切片では、多形核白血球に特異的な細胞質染色が 2 ドナーで認められた。胃では、固有層の細胞質染色が、1 ドナーで認められたが、特定の細胞タイプは決定できなかった。陰性対照及びアイソタイプコントロール抗体を含む全ての切片で、胃の固有層に散在する細胞の弱い細胞質染色が全ドナーで認められた。乳腺では、腺房及び乳管に特異的な膜性上皮細胞染色が偶発的に 1 ドナーで認められた。この染色は 5 µg/mL でのみ認められた。腺房／乳管の特異的な細胞質上皮細胞染色が、1 ドナーの組織の 1 部位に認められた。染色は顆粒状で、5 µg/mL でのみ認められた。腎臓では、腎尿細管上皮の特異的な膜性染色が、2.5 及び 5 µg/mL のガラダシマブで 2 ドナーに認められた。染色は主に尿細管上皮の管腔表面に認められた。胎盤の絨毛膜に弱い特異的染色が 2 ドナーで認められた。胸腺では、調べた全ての切片において、主に髄質に少数の円形細胞の非特異的陽性染色（中程度、肥満細胞様）が認められた。リンパ系細胞の特異的細胞質染色も主に髄質に認められたが、一部の領域では皮質でも認められた。染色は胸腺の限局した領域に限られ、残りの組織は影響を受けず、5 µg/mL のガラダシマブで 2 ドナーのみに認められた。子宮内膜では、2.5 及び 5 µg/mL のガラダシマブで、1 ドナーの腺上皮に弱い特異的細胞質染色が認められた。

カニクイザルでは、特異的染色が認められた組織は、副甲状腺を除いて、ヒト組織と同様であった。ただし、ヒトで特異的染色が認められた組織のうち、一部（眼［視神経］、卵管、心臓組織、血液塗抹標本、胃、乳腺、腎臓、胎盤、胸腺及び子宮内膜）については、TCR 予備試験（試験番号 APQ0060）では当初陽性でなかったため、カニクイザル組織では評価しなかった。

サル組織は、概ねヒト組織での染色性を予測するものであったことから、カニクイザルを用いた反復投与試験のデータは、薬理学的及び毒性学的に適切であると考えられる。カニクイザルの反復投与試験において、いずれの投与量においても、安全性に問題となる所見は認められなかった。結論として、現在得られているデータから、ガラダシマブの様々な組織への結合性は、HAE 患者において臨床での安全性の懸念を生じさせないことが示されている。

2.6.6.8.2 免疫毒性評価

ガラダシマブの免疫毒性を評価するため、マウス及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、補体活性化マーカーである C3a、サイトカイン、イムノフェノタイピング、又は CRP を解析した。

さらに、マウス及びカニクイザルの主たる非臨床毒性試験において、リンパ節（下顎、腸間膜、左右の腋窩）の肉眼検査及び病理組織学的検査を実施した。

反復投与毒性試験（マウス 8 日間、サル 5 及び 26 週間等）において、補体活性化マーカー C3a に変化は認められなかった（試験番号 APQ0056、APQ0058、TH43GT）。また、カニクイザルにおいて、血漿中サイトカイン量（投与 1、8 及び 36 日の投与後 1.5 及び 6 時間の試料を測定）にガラダシマブによる影響はなく、測定値の分布も、投与量、投与経路、評価時期との関連性は認められなかった（試験番号 APQ0058）。カニクイザルの 26 週間試験では、血漿中 IL-2 濃度の上昇が、200 mg/kg/回の皮下投与 14 週及び 30 mg/kg/回の静脈内投与 1 日に、いずれも雄 1 例に認められた（試験番号 TH43GT）。しかし、同じ投与用量で同様の変化が認められた個体はいなかったことから、この変化は、生物学的変動によるものと判断した。その他のサイトカインパラメータについて特記すべき変化は認められなかった。したがって、ガラダシマブ投与によるサイトカインパラメータへの影響はないと考えられた。

カニクイザルの静脈内及び皮下投与毒性試験において、血液を用いてイムノフェノタイピングを実施した結果、ガラダシマブによる用量依存的な変化は認められなかった（試験番号 APQ0058、TH43GT）。

カニクイザルの CRP レベルに、ガラダシマブ投与による影響はないと考えられた（試験番号 TH43GT）。

マウスに異種ヒトタンパク質であるガラダシマブを静脈内に 4 週間反復投与した毒性試験において、低用量群（3～30 mg/kg、主に 3 mg/kg）でアナフィラキシー様反応（一般状態の変化や死亡）が認められたことから、広範囲の炎症性サイトカインの評価、IgE、CRP、末梢血及び脾臓の白血球イムノフェノタイピング、並びに脳、腎臓、肺及び皮膚（一般状態と関連した部位）の免疫組織化学的評価（IgM 及び IgG）を追加検討した（試験番号 APQ0061）。

全血では、T リンパ球、B リンパ球、好中球、単球、NK 細胞、CD4+ T 細胞、又は CD8+ T 細胞の割合（%）に、投与群間で差はなかった。しかし、CD4+又は CD8+ T 細胞を除いて実施したイムノフェノタイピングの結果では、ガラダシマブの投与量に依存して、細胞数（細胞/μL）のわずかな増加が認められた。脾臓では、T リンパ球、B リンパ球、好中球、単球、NK 細胞、CD4+ T 細胞及び CD8+ T 細胞の割合（%）に、ガラダシマブの用量増加に伴う変化は認められなかった。いずれの評価項目についても、脾臓あたりの細胞数に用量依存性は認められなかった。10 mg/kg/日群の雄で、脾臓の NK 細胞の割合（%）と細胞数が微増したが、雌ではこの変化は認められなかった。

CRP、サイトカイン及び IgE の評価では、ガラダシマブ投与の影響は認められなかった。

したがって、ADA に関連した一般状態の変化や死亡を除いて、いずれの用量（静脈内投与の最高用量は 100 mg/kg/回、皮下投与の最高用量は 200 mg/kg/回）においても、毒性学的意義のある所見は認められなかった。

また、ガラダシマブのマウス及びカニクイザルを用いた主たる非臨床反復投与毒性試験では、肉眼観察及び病理組織学的検査において、安全性面で懸念すべき変化は認められなかった（試験番号 APQ0055、APQ0056、APQ0058、APQ0061、TH43GT）。

2.6.6.9 考察及び結論

マウス及びカニクイザルを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与試験において、良好な忍容性が確認され、ガラダシマブ投与に関連した毒性所見は得られなかった。用量依存的な aPTT 延長により、ガラダシマブの薬理作用が確認された。いずれの動物種の NOAEL も、静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回と考えられた。

マウスを用いた 4 週間反復静脈内及び皮下投与試験において、aPTT が延長したことから、薬理作用が確認された。低用量である 3 mg/kg/回を静脈内投与した動物において、ガラダシマブ投与に関連した一般状態変化又は死亡がみられた後、生存例は早期に安楽殺した。また、10 mg/kg/回を静脈内投与した 4 例及び 30 mg/kg/回を静脈内投与した 1 例では、投与 18、22 又は 29 日の投与後に同様の一般状態変化又は死亡がみられたことから、死亡機序解明のための追加検査を実施した。さらに、マウスを用いた忍容性試験も実施した。得られたすべての情報を要約すると、マウスで観察された所見は、以下の理由から、異種ヒトタンパク質に対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）と考えられた:

1. 反復投与後にのみ発現した。
2. 主に静脈内投与の最低用量群で発現した。
3. 急性症状及びその経時変化はアナフィラキシー反応を示す所見であった。
4. ADA が検出されたことから、ガラダシマブがマウスにおいて免疫原性を有することが確認された。
5. GLP 非適用のマウスを用いた忍容性試験（試験番号 TOM 16-02）では、ガラダシマブの反復投与によるアナフィラキシー（体温低下を含む）が確認されたが、ヒトアイソタイプコントロール抗体を投与した対照群でもアナフィラキシーが認められたことから、これは標的臓器に対する毒性によるものではなく、ヒト抗体の投与に関連するものであった。

異種タンパク質の反復投与後には主に免疫反応が予想されるため、これらのデータは臨床状況を予測するものではないと考えた。これは ICH S6（R1）ガイドラインの記載と一致したものである。マウスを用いた反復投与毒性試験における各用量段階（静脈内投与では 3、10、30 及び 100 mg/kg/回、皮下投与では 60 及び 200 mg/kg/回）では、ガラダシマブの免疫原性に関連した一般状態及び死亡以外に毒性学的意義のある所見は認められなかった。本試験の条件下で

は、低用量の静脈内投与（3 mg/kg/回）を試験途中で中断したため、静脈内投与での NOAEL は確定できなかったが、皮下投与での NOAEL は 200 mg/kg/回であった。

カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内及び皮下投与試験において、忍容性は良好であり、ガラダシマブ投与に関連した毒性を示唆する所見は認められなかった。用量依存的な aPTT 延長により薬理作用が確認された。本試験条件下において、NOAEL は静脈内投与で 100 mg/kg/回、皮下投与で 200 mg/kg/回と考えられた。

カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内及び皮下投与試験において、薬理作用に基づく aPTT の延長が確認された。主試験群の 2 例は、動物福祉上の観点から安楽殺した。これら 2 例の一般状態及び検査結果はガラダシマブ投与に関連する ADA 反応と一致していた（この結論は、外部レビューアによりさらに確認されている。詳細については［Haley, 2018］を参照）。その他の投与動物における病理組織学的変化は、投与部位に限局した局所炎症反応及びリンパ球の集簇であり、これらはガラダシマブの軽度の局所刺激作用を示すものと考えられた。これら局所刺激作用を示す所見はすべて、8 週間の休薬期間後に少なくとも部分的な回復を示した。したがって、本試験条件下において、カニクイザルに静脈内又は皮下投与によりガラダシマブを毎週 1 回、計 27 回反復投与した時の NOAEL は、静脈内投与では 30 mg/kg/回、皮下投与では 60 mg/kg/回と判断した。ガラダシマブを毎週 1 回、計 14 回反復投与した後の中間解析での NOAEL は、静脈内投与では 100 mg/kg/回、皮下投与では 200 mg/kg/回と判断した。

雌ウサギを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では、交配前、交配期間及び妊娠期間を通じてガラダシマブ投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。雌の大部分は交配初日に交尾が確認された（0、10、30 及び 100 mg/kg/回群のそれぞれ 23、22、25 及び 21 例）。受胎率は 0、10、30 及び 100 mg/kg/回群でそれぞれ 96%、92%、96%及び 92%であった。卵巣重量にガラダシマブ投与の影響は認められなかった。母動物の生殖パラメータや胚生存率に対するガラダシマブ投与の影響は観察されなかった。早期吸収胚数及び後期吸収胚数、着床後胚死亡数及び同腹児数を基に算出した胚生存率にはガラダシマブ投与による影響は認められなかった。ガラダシマブ投与に関連した一般状態の変化、体重及び摂餌量への影響、肉眼的病理所見及び臓器重量への影響はなく、母動物に毒性は認められなかった。また、交尾、繁殖率及び受胎率への影響は認められず、母動物の生殖パラメータや胚の生存率にも影響は認められなかった。したがって、母動物の一般毒性及び受胎能、並びに初期胚発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/回と判断した。

雄ウサギを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では、ガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を 3 日間隔で静脈内投与したところ、忍容性は良好で、ガラダシマブ投与に起因した死亡は認められなかった。雄 6 例は死亡又は安楽殺したが、これらの動物の死亡や瀕死の原因は限られた組織の病理組織学検査では特定できなかった。また、これらの動物に認められた肉眼的病理所見には関連する病理組織学所見が認められないこと、生殖機能障害を示唆する評価項目に影響がなかったこと（すなわち、交尾、受胎能及び繁殖率に対するガラダシマブ投与の影響は認められず、精子検査でも異常はなかったこと）から、本試験条件下におけるウサギ

の毒性とは判断しなかった。生殖機能に関する評価指標及び／又は精子形成にはいずれのガラダシマブ投与群でも異常は観察されなかった。すべてのガラダシマブ投与群では薬理作用に基づいた aPTT の延長が認められた。以上のように、死亡及び瀕死の発現例数には用量反応が認められず、死亡及び安楽殺した動物に共通して認められた一般状態の変化や剖検所見が認められなかったことか、ガラダシマブ投与に起因した死亡ではなく、ヒトタンパク質であるガラダシマブに対する免疫反応（すなわち、アナフィラキシー）であり、異種タンパクの反復投与後に免疫反応が発現したと考えられることから、臨床使用での有害事象を予見するものではなかった。したがって、雄の一般毒性、交尾及び生殖能に対する NOAEL はいずれも 100 mg/kg/回と判断した。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、ガラダシマブ投与に関連した母動物の一般状態、体重、摂餌量及び肉眼的観察に毒性学的意義のある影響は認められなかった。さらに、黄体数、着床数、死亡・吸収胚数、生存胎児数及び同腹児数にガラダシマブ投与の影響はみられず、胎児の性比にも影響はみられなかった。また、また、胎盤重量、一腹の総胎児体重、胎児体重に変化はみられず、ガラダシマブ投与に関連した胎児の形態異常も認められなかった。したがって、母動物及び胎児に対する NOAEL は最高用量である 100 mg/kg/回と判断した。

ウサギを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では、着床から離乳までの間、雌ウサギにガラダシマブの 10、30 又は 100 mg/kg/回を 5 日間隔で皮下投与又は静脈内投与したところ、忍容性は良好であった。ガラダシマブの 10～100 mg/kg/回の皮下投与した際の全身曝露量は用量の増加に伴って概ね上昇した。ウサギへ複数回、皮下投与することによってガラダシマブの蓄積性が認められたが、複数回の静脈投与後に蓄積性は認められなかった。妊娠 7 日、並びに授乳 18 日及び 38 日に評価したガラダシマブの 100 mg/kg/日を皮下投与した場合のバイオアベイラビリティは、それぞれ 38.8%、60.5%及び 70.3%であった。母動物の ADA 陽性率は、10～100 mg/kg/回の皮下投与で最大 44%、静脈内投与で最大 6.8%の動物に認められた。低用量である 10 mg/kg/回の皮下投与は、中用量及び高用量である 30 及び 100 mg/kg/日と比較して、ガラダシマブに対する母動物の ADA 陽性率が高かった。F0 母動物及び F1 出生児にはガラダシマブに関連した毒性は観察されなかった。したがって、母動物に対する NOAEL、F1 胎児の発生に対する NOAEL、F1 出生児の発達・神経行動・生殖能に対する NOAEL はいずれも皮下及び静脈内投与ともに 100 mg/kg/回と判断した。

2 種類のガラダシマブ製剤（100 及び 170 mg/mL）をウサギに皮下投与した局所刺激性試験では、毒性は認められず、ガラダシマブの忍容性は良好であり、投与部位にガラダシマブに起因した変化は認められなかった。ウサギの皮膚について病理組織学的検査を実施した結果、ガラダシマブの皮下投与による変化は認められなかった。さらに、マウス及びカニクイザルを用いたいずれの反復投与毒性試験においても、皮下又は静脈内投与部位において局所刺激性は認められなかった。

In vitro 組織交差性試験では、ガラダシマブは、ヒトやカニクイザル由来の種々の組織に対して特異的結合を示した。重要な点は、サル組織での染色性が、概ねヒト組織での染色性を予測

しており、毒性試験における反応種としてのカニクイザルの妥当性を確認したこと、及びカニクイザルの反復投与試験では、いずれの投与量においても、安全性に問題となる所見は認められなかったことである。したがって、カニクイザルを用いた反復投与試験の成績は、薬理学的及び毒性学的に重要であると考えられる。以上、カニクイザルの反復投与試験では、いずれの投与量においても、安全性が問題となる所見は認められなかった。

ICH S6（R1）ガイドラインに従い、ガラダシマブを用いた遺伝毒性及びがん原性試験は実施しなかった。ガラダシマブとその添加剤に関する発がんリスク評価の結果、ガラダシマブを患者に投与しても、潜在的発がんリスクはないと考えられた。

結論として、ガラダシマブは、非臨床試験の結果、承認申請に際して適切な安全性プロファイルを示した。なお、ICH S6（R1）ガイドラインに示されているように、動物に異種タンパク質（ヒトタンパク質）を反復投与した場合、主として免疫反応が生じることが想定されることから、反復投与毒性試験で認められた所見は、臨床での有害事象を予測するものではないと考えられる。

2.6.6.10 図表

関連する各項目の本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Bugelski PJ, Herzyk DJ, Rehm S, Harmsen AG, Gore EV, Williams DM, Maleeff BE, Badger AM, Truneh A, O'Brien SR, Macia RA, Wier PJ, Morgan DG and Hart TK. Preclinical development of keliximab, a Primatized anti-CD4 monoclonal antibody, in human CD4 transgenic mice: characterization of the model and safety studies. Human & Experimental Toxicology (2000) 19, 230-243.

Cappon GD, Fleeman TL, Chapin RE and Hurtt ME. Effects of feed restriction during organogenesis on embryo-fetal development in rabbit. Birth Defects Research (Part B). 2005; 74:424-430.

Didiasova M, Wujak L, Schaefer L, Wygrecka M. Factor XII in coagulation, inflammation and beyond. Cell Signal. 2018 Nov;51:257-265.

Finkelman FD. Anaphylaxis: lessons from mouse models. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2007;120(3):506-15.

Haley, P.J. Opinion by Patrick J. Haley regarding: Study No. TH43GT. 2018.

ICH S5 (R3), Guideline on reproductive toxicology: Detection of Toxicity to Reproduction for Human Pharmaceuticals. 2020

ICH S6(R1), Guidance for Industry S6 Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. 2011.

Jönsson F, Mancardi DA, Kita Y, Karasuyama H, Iannascoli B, Rooijen NV, Shimizu T, Daeron M and Bruhns P. Mouse and human neutrophils induce anaphylaxis. J Clin Invest. 2011;121(4):1484–1496. doi:10.1172/JCI45232.

Krishna M and Nadler SG. Immunogenicity to Biotherapeutics – the role of Anti-drug Immune Complexes. Front. Immunol., 02 February 2016 | DOI: 10.3389/fimmu.2016.00021.

Luffer-Atlas D, Reddy VR, Hilbish KG, Grace CE. PDGFRα monclonal antibody: Assessment of embryo-fetal toxicity and time-dependent placental transfer of a murine surrogate antibody of olaratumab in mice. Birth Defect Research. 2018;110:1358-1371. DOI: 10.1002/bdr2.1403.

Nickel KF, Ronquist G, Langer F, Labberton L, Fuchs TA, Bokemeyer C, Sauter G, Graefen M, Mackman N, Stavrou EX, Ronquist G, Renné T. The polyphosphate-factor XII pathway drives coagulation in prostate cancer-associated thrombosis. Blood. 2015 Sep 10;126(11):1379-89.

Nickel KF, Labberton L, Long AT, Langer F, Fuchs TA, Stavrou EX, Butler LM, Renné T. The polyphosphate/factor XII pathway in cancer-associated thrombosis: novel perspectives for safe anticoagulation in patients with malignancies. Thromb Res. 2016 May;141 Suppl 2:S4-7.

Pauer HU, Renné T, Hemmerlein B, Legler T, Fritzlar S, Adham I, Müller-Esterl W, Emons G, Sancken U, Engel W, Burfeind P. Targeted deletion of murine coagulation factor XII gene-a model for contact phase activation in vivo. Thromb Haemost. 2004 Sep;92(3):503-8.

Renné T, Stavrou EX. Roles of Factor XII in Innate Immunity. Front Immunol. 2019 Aug 22;10:2011.

Ryder Sally-Ann, Waldmann Carl, Ana phylaxis, Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain, Volume 4, Issue 4, August 2004, Pages 111–113.

Schmaier AH, Stavrou EX. Factor XII - What's important but not commonly thought about. Res Pract Thromb Haemost. 2019 Jun 19;3(4):599-606.

Szikora B, Hiripi L, Bender B, Kacskovics I, IliaÂs A. Characterization of the interactions of rabbit neonatal Fc receptor (FcRn) with rabbit and human IgG isotypes. PLoS One. 2017;12(9):e0185662.

Uno K. Pathogenic Mechanism and Diagnostic Testing for Drug Allergies. Yakugaku Zasshi. 2018;138(2):151-167.

目次

略語・略号一覧 3
2.6.7 毒性試験概要表 5
2.6.7.1 毒性試験 5
2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス：試験成績の一覧 8
2.6.7.4 毒性試験：被験物質 15
2.6.7.5 単回投与毒性試験 15
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 17
2.6.7.8 遺伝毒性試験 In Vitro 38
2.6.7.9 遺伝毒性試験: In Vivo 38
2.6.7.10 がん原性試験 38
2.6.7.11 生殖発生毒性：重要な試験以外の試験 39
2.6.7.12 生殖発生毒性：受胎能及び着床までの初期胚発生 41
2.6.7.13 生殖発生毒性：胚・胎児発生 47
2.6.7.14 生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能 51
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 55
2.6.7.16 局所刺激性試験 56
2.6.7.17 その他の毒性試験 57

表 目次

表 2.6.7-1 毒性試験一覧 5
表 2.6.7-2 トキシコキネティクス試験成績一覧 8
表 2.6.7-3 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（試験番号 TOM 16-02） 16
表 2.6.7-4 CSL312：マウスを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0056） 17
表 2.6.7-5 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0061） 19
表 2.6.7-6 CSL312：カニクイザルを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0055） 25
表 2.6.7-7 CSL312：カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0058） 27
表 2.6.7-8 CSL312：カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 TH43GT） 31

表 2.6.7-9　CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験のための予備試験（試験番号 MN80HQ）.....39
表 2.6.7-10　CSL312：雌ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験 （試験番号 8408860）.....41
表 2.6.7-11　CSL312：雄ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験 （試験番号 8399537）.....44
表 2.6.7-12　CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（試験番号 VK47BJ）.....47
表 2.6.7-13　CSL312：ウサギを用いた皮下及び静脈内投与による出生前及び出生後の発生並びにトキシコキネティクス試験 （試験番号 8410864）.....51
表 2.6.7-14　CSL312：ウサギ皮下投与局所刺激性及び生物学的同等性試験（試験番号 37761）.....56
表 2.6.7-15　CSL312：ヒト及びカニクイザルの組織を用いた組織反応性試験（試験番号 APQ0057）.....57

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
aPTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	Area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
CSL312	Garadacimab; Factor XIIa inhibitor monoclonal antibody	ガラダシマブ、抗活性化第 XII 因子モノクローナル抗体
F	Female	雌
GD	Gestation day	妊娠日
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IgE	Immunoglobulin E	免疫グロブリン E
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IS	Injection site	投与部位
IV	Intravenous	静脈内
LD	Lactation day	授乳日
M	Male	雄
NA	Not applicable	非該当
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
SC	Subcutaneous	皮下
$t_{1/2}$	Terminal half-life	消失半減期
TAT	Thrombin anti-thrombin complex	トロンビン・アンチトロンビン III 複合体

表記規則

これまでの開発期間を通じて、CSL312（ガラダシマブ）は「FXIIa antagonist monoclonal antibody（抗第 XIIa 因子モノクローナル抗体）」と記載されており、過去の関連する記録及び連絡文書でこの用語が使用されている。CSL312 は遺伝子組換え完全ヒト型 IgG4/λ モノクローナル抗体であり、血漿タンパク質 FXIIa の触媒ドメインに結合し、その触媒活性を強力に阻害する。CSL312 は FXIIa の活性部位に結合することでそのプロテアーゼ活性を阻害するもの（inhibitor）であり、アゴニストの結合を阻害するもの（antagonist）ではない。したがって、CSL312 は antagonist より inhibitor と識別するほうが科学的に正確である。この用語の改訂は、製品の活性や作用機序の理解の変更ではない。本文書では、ガラダシマブの正確な記述として、「FXIIa inhibitor monoclonal antibody（抗活性化第 XII 因子モノクローナル抗体）」を使用する。

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験

表 2.6.7-1 毒性試験一覧

Overview						**Test Article:** garadacimab		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg[a])**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Single-dose toxicity	-	-	-	-	-	-	-	-
Repeat-dose toxicity	Mouse/ CD-1	IV	28 Days (dosed on Days 0, 3, 7, 10, 1, 17, 21, 24, and 28)	3 mg/kg/occasion IV	No	CSL Behring GmbH	TOM 16-02	4.2.3.2.1
Repeat-dose toxicity	Mouse/ CD-1	IV / SC	8 Days (dosed on Days 1, 4, and 8)	3, 10, 30 and 100 mg/kg/occasion IV; 60 and 200 mg/kg/occasion SC	Yes	[redacted]	APQ0056	4.2.3.2.2
Repeat-dose toxicity	Mouse/ CD-1	IV / SC	4 Weeks (dosed on Days 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, and 29)	3, 10, 30 and 100 mg/kg/occasion IV; 60 and 200 mg/kg/occasion SC	Yes	[redacted]	APQ0061	4.2.3.2.3
Repeat-dose toxicity	Monkey/ Cynomolgus	IV / SC	8 Days (dosed on Days 1 and 8)	3, 10, 30 and 100 mg/kg/occasion IV; 60 and 200 mg/kg occasion SC	Yes	[redacted]	APQ0055	4.2.3.2.4
Repeat-dose toxicity	Monkey/ Cynomolgus	IV / SC	5 Weeks (dosed on Days 1, 8, 15, 22, 29, and 36)	3, 10, 30 and 100 mg/kg/occasion IV; 60 and 200 mg/kg/occasion SC	Yes	[redacted]	APQ0058	4.2.3.2.5
Repeat-dose toxicity	Monkey/ Cynomolgus	IV / SC	26 Weeks (dosed once weekly up to 26 weeks)	10, 30 and 100 mg/kg/occasion IV; 60 and 200 mg/kg/occasion SC	Yes	[redacted]	TH43GT	4.2.3.2.6
Genotoxicity	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcino-genicity[b]	-	-	-	-	-	-	-	-

Overview						Test Article: garadacimab		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg[a])**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Reproductive and developmental toxicity: fertility and early embryonic development to implantation	Rabbit/ New Zealand White	IV	Females: Pre-Mating Days 0, 3, 6, 9, and 12; Pairing Days 1 and 4 (unless mating was confirmed beforehand); and on Gestation Days 1, 4, and 7. Males: not dosed.	10, 30 and 100 mg/kg/occasion	Yes	[redacted]	8408860	4.2.3.5.1.1
Reproductive and developmental toxicity: fertility and early embryonic development to implantation	Rabbit/New Zealand White	IV	Males: Pre-Pairing Days 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, and 27; Pairing Days 2 and 5; and on Post-Pairing Days 2, 5, and 8. Females: not dosed.	10, 30 and 100 mg/kg/occasion	Yes	[redacted]	8399537	4.2.3.5.1.2
Reproductive and developmental toxicity: effects on embryo-fetal development	Rabbit/New Zealand White	IV	29 Days (dosed on Days 6, 9, 12, 15, and 18 after mating)	1, 30 and 100 mg/kg/occasion	No	[redacted]	MN80HQ	4.2.3.5.2.1
Reproductive and developmental toxicity: effects on embryo-fetal development	Rabbit/New Zealand White	IV	29 Days (dosed on Days 6, 9, 12, 15, and 18 after mating)	10, 30 and 100 mg/kg/occasion	Yes	[redacted]	VK47BJ	4.2.3.5.2.2

Overview						Test Article: garadacimab		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg[a])**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Reproductive and developmental toxicity: effects on pre- and postnatal development, including maternal function	Rabbit/New Zealand White	IV / SC	F0 toxicity animals: GD 7, 12, 17, 22, and 27, and LD 3, 8, 13, 18, 23, 28, 33, and 38 F0 placental transfer animals: GD 7, 12, 17, 22, and 27	100 mg/kg/dose IV; 10, 30, or 100 mg/kg/dose SC	Yes	[redacted]	8410864	4.2.3.5.3.1
Local tolerance[c]	Rabbit/ New Zealand White	SC	Repeated administration on 2 days 1 week apart. 72 hours after last administration, animals were sacrificed, and injection sites were examined macro- and microscopically	20 mg/kg/occasion	Yes	[redacted]	37761	4.2.3.6.1
Other toxicity studies: tissue cross reactivity	In vitro	-	-	1.25, 2.5 and 5 µg/mL	Yes	[redacted]	APQ0057	4.2.3.7.7.1

a: For repeat-dose toxicity, the highest NOAEL is underlined.
b: Carcinogenicity risk assessments have been performed on CSL312 (REP-008854) and on CSL312 excipients (ST2020CSL-001) and are located in Module 4.2.3.4.3.1 and 4.2.3.4.3.2, respectively.
c: Local tolerability investigations were also included in the repeat-dose toxicity studies in mice and monkeys.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表

独立した試験は実施していない。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：試験成績の一覧

TK 評価は GLP 適用の反復投与毒性試験（試験番号 APQ0056、APQ0061、APQ0055、APQ0058、TH43GT）及び生殖発生毒性試験（試験番号 8408860、8399537、VK47BJ、8410864）で実施したため、これらの成績を以下に示す。

表 2.6.7-2 トキシコキネティクス試験成績一覧

Mouse, 8-Day Repeated Dose Toxicity Study (Study No. APQ0056)				
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)		C_{max} (µg/mL)	
	Day 1	Day 8	Day 1	Day 8
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 1885.21 F: 1675.81	M: 2832.58 F: 1553.46	M: 51.91 F: 44.27	M: 88.39 F: 87.50
10 (IV)	M: 6666.57 F: 5620.93	M: 13768.38 F: 13665.97	M: 212.35 F:142.58	M: 332.37 F:369.47
30 (IV)	M: 21829.51 F: 15534.81	M: 38040.86 F: 38929.13	M: 833.27 F: 740.34	M: 985.37 F: 943.64
100 (IV)	M: 52854.34 F: 48447.13	M: 92885.28 F: 89723.96	M: 1859.99 F: 1622.48	M: 2208.70 F: 2195.23
60 (SC)	M: 13753.87 F: 16050.90	M: 30005.79 F: 36989.92	M: 258.30 F: 269.91	M: 483.36 F: 700.44
200 (SC)	M: 40949.14 F: 47330.17	M: 67077.29 F: 64855.97	M: 761.51 F: 917.53	M: 1226.99 F: 1242.57

Mouse, 4-Week Repeated Dose Toxicity Study (Study No. APQ0061)				
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)		$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)	
	Day 1	Day 29	Day 1	Day 29
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 843.14 F: 1088.73	M: # F: #	M: 2142.61 F: 2056.62	M: # F: #
10 (IV)	M: 2688.60 F: 2332.16	M: 7641.71 F: 4779.35	M: 6699.68 F: 6283.27	M: 20998.84 F: 12483.57
30 (IV)	M: 9011.38 F: 8973.70	M: 21172.22 F: 21067.54	M: 20890.40 F: 29637.28	M: 52798.95 F: 51202.30
100 (IV)	M: 23459.52 F: 23122.56	M: 33893.67 F: 32569.99	M: 50901.63 F: 43829.76	M: 78574.21 F: 78613.30
60 (SC)	M: 4753.50 F: 5384.34	M: 14195.57 F: 16604.84	M: 18987.37 F: 20834.91	M: 43055.60 F: 46182.20
200 (SC)	M: 11040.58 F: 16886.52	M: 19404.24 F: 29591.73	M: 44849.60 F: 59802.31	M: 65822.89 F: 83555.41
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}96h}$ (h*µg/mL)		C_{max} (µg/mL)	
	Day 1	Day 29	Day 1	Day 29
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 2682.90 F: 2539.20	M: # F: #	M: 54.52 F: 171.38	M: # F: #
10 (IV)	M: 8531.23 F: 8013.56	M: 26274.15 F: 15776.58	M: 142.58 F: 184.21	M: 503.13 F: 303.65
30 (IV)	M: 26338.31 F: 34472.16	M: 67359.57 F: 63100.56	M: 648.63 F: 796.21	M: 1006.41 F: 1045.50
100 (IV)	M: 62041.95 F: 57159.67	M: 96814.15 F: 94870.62	M: 1632.46 F: 2038.70	M: 1695.71 F: 2123.31
60 (SC)	M: 25111.02 F: 32839.30	M: 58456.25 F: 59797.83	M: 324.94 F: 712.71	M: 810.96 F: 877.41
200 (SC)	M: 60605.92 F: 72494.55	M: 83360.74 F: 106918.02	M: 727.58 F: 987.58	M: 1051.87 F: 1637.87

Monkey, 8-Day Repeated Dose Toxicity Study (Study No. APQ0055)		
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL) Day 1	C_{max} (µg/mL) Day 1
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 6316.23 F: 3563.22	M: 108.97 F: 62.92
10 (IV)	M: 14777.09 F: 12420.74	M: 254.21 F: 192.68
30 (IV)	M: 36729.22 F: 35572.96	M: 648.32 F: 595.58
100 (IV)	M: 138956.47 F: 92356.68	M: 2262.68 F: 1823.95
60 (SC)	M: 45425.31[$] F: 48335.39	M: 359.35 F: 412.50
200 (SC)	M: 207291.80 F: 182038.82	M: 1610.26 F: 1527.88

Monkey, 5-Week Repeated Dose Toxicity Study (Study No. APQ0058)				
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)		$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)	
	Day 1	Day 36	Day 1	Day 36
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 1461.84 F: 845.23	M: 2441.20 F: 2963.43	M: 6029.37 F: 4312.02	M+F: 9577.31
10 (IV)	M: 3002.39 F: 2947.31	M: 6440.36 F: 8163.53	M: 10929.96 F: 12104.07	$
30 (IV)	M: 9553.45 F: 9099.43	M: 17908.71 F: 19588.91	M: 33452.84 F: 31453.40	M+F: 4702.59
100 (IV)	M: 32819.38 F: 27396.44	M: 55780.80 F: 58017.79	M: 102917.28 F: 90875.03	M+F: 192008.53
60 (SC)	M: 3433.52 F: 3802.14	M: 14686.88 F: 12620.01	M: 43450.94 F: 43129.24	$
200 (SC)	M: 16550.53 F: 11579.73	M: 35411.61 F:38343.36	M: 185030.22 F: 150526.59	M+F: 317438.35

Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (µg/mL)	
	Day 1	Day 36
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
3 (IV)	M: 104.17 F: 55.13	M: 127.14 F: 169.44
10 (IV)	M: 199.60 F: 185.11	M: 327.64 F: 401.03
30 (IV)	M: 647.24 F: 544.58	M: 987.93 F: 974.69
100 (IV)	M: 2142.49 F: 1662.76	M: 3927.02 F: 3892.79
60 (SC)	M: 308.44 F: 360.33	M: 701.43 F: 607.14
200 (SC)	M: 1664.11 F: 1250.28	M: 1939.73 F: 2320.84

Monkey, 26-Week Repeated Dose Toxicity Study (Study No. TH43GT)			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)		
	Week 1	Week 14	Week 27
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
10 (IV)	M: 4840 F: 2540	M: 5363 F: 6219	M: 6870 F:7358
30 (IV)	M: 11644 F: 9072	M: 16058 F: 17325	M: 17275 F: 19854
100 (IV)	M: 39742 F: 36523	M: 52546 F: 50497	M: 58349 F: 56328
60 (SC)	M: 4221 F: 3893	M: 12426 F: 14692	M: 9602 F: 15234
200 (SC)	M: 13365 F: 12534	M: 37212 F: 37665	M: 30959 F: 33401
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)		
	Week 1	Week 14	Week 27
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
10 (IV)	M: 17521 F: 10776	M: 24939 F: 29509	M: - F: -
30 (IV)	M: 41223 F: 37007	M: 70191 F: 81141	M: - F: -
100 (IV)	M: 142337 F: 127252	M: 205735 F: 199884	M: - F: -
60 (SC)	M: 41726 F: 44366	M: 82159 F: 96630	M: - F: -
200 (SC)	M: 140984 F: 135316	M: 255718 F: 237917	M: - F: -

Monkey, 26-Week Repeated Dose Toxicity Study (Study No. TH43GT)			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (µg/mL)		
	Week 1	Week 14	Week 27
0 (Control)	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ	M: BLLQ F: BLLQ
10 (IV)	M: 264 F: 158	M: 290 F: 323	M: 347 F: 370
30 (IV)	M: 618 F: 540	M: 827 F: 951	M: 1002 F: 1021
100 (IV)	M: 2287 F: 2003	M: 2862 F: 2825	M: 3011 F: 3094
60 (SC)	M: 322 F: 349	M: 639 F: 732	M: 463 F: 728
200 (SC)	M: 1118 F: 1067	M: 2016 F: 2030	M: 1640 F: 1797

Rabbit, Female Fertility Study (Study No. 8408860)				
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)			
	Pre-mating Day 0	Pre-mating Day 6	Pre-mating Day 12	Gestation Day 7
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (IV)	F: 7290	F: 11600	F: 12100	F: 13500
30 (IV)	F: 15900	F: 26900	F: 31200	F: 30500
100 (IV)	F: 49100	F: 75500	F: 85200	F: 85200
Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (µg/mL)			
	Pre-mating Day 0	Pre-mating Day 6	Pre-mating Day 12	Gestation Day 7
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (IV)	F: 186	F: 287	F: 280	F: 309
30 (IV)	F: 515	F: 662	F: 1430	F: 798
100 (IV)	F: 1880	F: 2150	F: 2530	F: 2430

Rabbit, Male Fertility Study (Study No. 8399537)			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*ng/mL)		
	Day 1 of Dosing	Pre-mating Day 15	Pre-mating Day 27
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (IV)	F: 5350000	F: 10400000	F: 11200000
30 (IV)	F: 16200000	F: 34300000	F: 35800000
100 (IV)	F: 62200000	F: 120000000	F: 106000000
Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (ng/mL)		
	Day 1 of Dosing	Pre-mating Day 15	Pre-mating Day 27
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (IV)	F: 198000	F: 206000	F: 281000
30 (IV)	F: 630000	F: 1680000	F: 1190000
100 (IV)	F: 2090000	F: 2780000	F: 2930000

Rabbit, Embryo-Fetal Developmental Study (Study No, VK47BJ)				
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}48h}$ (h*µg/mL)		$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)	
	Gestation Day 6	Gestation Day 18	Gestation Day 6	Gestation Day 18
0 (Control)	F: blq	F: blq	F: blq	F: blq
10 (IV)	F: 6878	F: 11131	F: 8509	F: 13911
30 (IV)	F: 21008	F: 31461	F: 25411	F: 39602
100 (IV)	F: 65362	F: 85332	F: 77696	F: 106828
Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (µg/mL)			
	Gestation Day 6	Gestation Day 18		
0 (Control)	F: blq	F: blq		
10 (IV)	F: 267	F: 439		
30 (IV)	F: 883	F. 1133		
100 (IV)	F: 3058	F: 3677		

Rabbit, Pre- and Postnatal Development Study Study No. 8410864)			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	$AUC_{0\text{-}120h}$ (h*µg/mL)		
	Gestation Day 7	Lactation Day 18	Lactation Day 38
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (SC)	F: 5740	F: 11900	F: 16800
30 (SC)	F: 13800	F: 23100	F: 35100
100 (SC)	F: 39900	F: 59100	F: 91800
100 (IV)	F: 103000	F: 97700	F: 131000
Daily Dose (mg/kg/occasion)	C_{max} (µg/mL)		
	Gestation Day 7	Lactation Day 18	Lactation Day 38
0 (Control)	F: BLLQ	F: BLLQ	F: BLLQ
10 (SC)	F: 61.2	F. 181	F: 154
30 (SC)	F: 172	F: 242	F: 360
100 (SC)	F: 456	F: 626	F: 927
100 (IV)	F. 3010	F: 2150	F: 2600

APQ0056, APQ0061, APQ0055, APQ0058, TH43GT, 8408860; 8399537, 8410864: BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)
VK47BJ: blq = below limit of quantification (<100.726 ng/mL)
#: Not sampled
$: Not calculable
-: Not applicable/No noteworthy findings

2.6.7.4 毒性試験：被験物質

M2.4 の表 2.4-3 毒性試験一覧を参照のこと。

2.6.7.5 単回投与毒性試験

独立した試験は実施していない。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

表 2.6.7-3 CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（試験番号 TOM 16-02）

Nonpivotal Studies					**Test Article:** garadacimab		
Species/Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. Per Group**	**NOAEL (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Mouse/ Crl:CD1(ICR)	IV (0.9% isotonic saline)	28 Days (Dosed on Days 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, and 28)	3	M/5 + F/5	NA	In one animal of each of the monoclonal antibody dosing groups (garadacimab and isotype control antibody treatment) immune-type responses occurred. These adverse findings are considered to be a mouse-specific effect (due to an immunological (ie, anaphylactic) reaction towards the heterologous human proteins) with limited relevance to the human situation.	TOM 16-02

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

表 2.6.7-4 CSL312：マウスを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0056）

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: CSL312: Short Term Toxicity Study by Intravenous (Bolus) and Subcutaneous Administration to CD-1 Mice for 8 Days</td><td>Test Article: garadacimab</td></tr>
<tr><td>Species/Strain: Mouse/Crl:CD1(ICR)</td><td>Duration of Dosing: 8 Days (Dosed on Days 1, 4 and 8)</td><td>Study No. APQ0056</td></tr>
<tr><td>Initial Age: 60-68 days</td><td>Duration of Postdose: NA</td><td>Location in CTD: 4.2.3.2.2</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Date of First Dose:
[redacted]20[redacted] (Males SC)
[redacted]20[redacted] (Males IV)
[redacted]20[redacted] (Females SC)
[redacted]20[redacted] (Females IV)</td><td>Method of Administration:
Intravenous Injection (Groups 1-5)
Subcutaneous Injection (Groups 1, 6-7)</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vehicle/Formulation: 0.9% isotonic saline</td></tr>
<tr><td colspan="3">Parameters collected:
Toxicokinetics, clinical condition, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, haematology (peripheral blood), blood chemistry, bioanalysis of garadacimab, contingency plasma samples, organ weight, macropathology and histopathology</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special Features: None</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/occasion (IV) / 200 mg/kg/occasion (SC)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Brief conclusion:
There were no findings at any dose level tested (up to 100 mg/kg/occasion intravenously and 200 mg/kg/occasion subcutaneously) that were considered to be adverse after single and repeated administration of garadacimab.</td></tr>
</table>

Study No. APQ0056 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/ occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Number of Animals														
Main Study:	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9
Satellite Study:	M: 6	F: 6	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics:														
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	1885.21	1675.81	6666.57	5620.93	21829.51	15534.81	52854.34	48447.13	13753.87	16050.90	40949.14	47330.17
Day 8	BLLQ	BLLQ	2832.58	1553.46	13768.38	13665.97	38040.86	38929.13	92885.28	89723.96	30005.79	36989.92	67077.29	64855.97
C_{max} (µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	51.91	44.27	212.35	142.58	833.27	740.34	1859.99	1622.48	258.30	269.91	761.51	917.53
Day 8	BLLQ	BLLQ	88.39	87.50	332.37	369.47	985.37	943.64	2208.70	2195.23	483.36	700.44	1226.99	1242.57
Noteworthy Findings:														
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Haematology[a]:														
Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) (sec)														
Day 8 (24 hour post-dose)	27.9	28.6	+119.0 **	+212.9 **	+142.3 **	$	+97.1 **	$	+100.4 **	$	+116.8 **	+96.9 **	+111.5 **	+78.0 **

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)
$ Not analysed
a: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
**: $p<0.01$

表 2.6.7-5　CSL312：マウスを用いた 4 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0061）

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: CSL312: Repeat Dose Toxicity Study by Intravenous and Subcutaneous Administration to CD-1 Mice for 4 Weeks Followed by an 8 Week Recovery Period</td><td>Test Article: garadacimab</td></tr>
<tr><td>Species/Strain: Mouse/Crl:CD1(ICR)</td><td>Duration of Dosing: 4 Weeks (Dosed on Days 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, and 29)</td><td>Study No. APQ0061</td></tr>
<tr><td>Initial Age:
Males: 60-68 Days
Females: 62-70 Days</td><td>Duration of Postdose: 8 Weeks</td><td>Location in CTD: 4.2.3.2.3</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Date of First Dose:
Males (Subcutaneous): [redacted]20[redacted]
Males (Intravenous): [redacted]20[redacted]
Females (Subcutaneous): [redacted]20[redacted]
Females (Intravenous): [redacted]20[redacted]</td><td>Method of Administration:
SC Injection (Groups 1, 6 and 7)
IV Injection (Groups 1-5)</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vehicle/Formulation: Isotonic saline (0.9%)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Parameters collected:
Toxicokinetics, immunogenicity (anti-drug antibodies (ADA)), immunophenotyping, C reactive protein, cytokine, IgE assessment, immunohistochemistry, clinical condition, body weight, food consumption, Irwin screen, ophthalmoscopy, haematology (peripheral blood), blood chemistry, organ weight, macropathology and histopathology.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special Features: None</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: 200 mg/kg SC injection / not established for IV injection</td></tr>
<tr><td colspan="3">Brief conclusion:
Prolongation of the activated partial thromboplastin times (aPTT) irrespective of the route of administration was consistent with the expected pharmacological response to the treatment with garadacimab. Following treatment-related clinical signs or death at the third or fourth dosing occasions, surviving males receiving 3 mg/kg/day were terminated immediately following blood sampling on Day 18 (following sixth dose) and females receiving 3 mg/kg were terminated on Day 12 or 13 (following fourth dose). In addition, four animals receiving 10 mg/kg and one female receiving 30 mg/kg had similar findings or were found dead following dosing on days 18, 22 or 29. The adverse effects observed are assessed to most likely being due to an anaphylactic reaction of the mice to the repeated IV administration of the heterologous human protein garadacimab. Apart from the treatment-related clinical signs and mortality, there were no other findings of toxicological significance at any other dose level tested (up to 100 mg/kg/occasion intravenously and 200 mg/kg/occasion subcutaneously). There were no treatment-related effects on Irwin observations both in the intravenous groups examined 1 hour after a single administration and in the subcutaneous groups examined 24 hours after a single administration.</td></tr>
</table>

Study No. APQ0061 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Twice Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Main Study	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Recovery Phase	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6
Satellite Study	M: 6	F: 6	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18
Toxicokinetics:														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	843.14	1088.73	2688.60	2332.16	9011.38	8973.70	23459.52	23122.56	4753.50	5384.34	11040.58	16886.52
Day 29	BLLQ	BLLQ	#	#	7641.71	4779.35	21172.22	21067.54	33893.67	32569.99	14195.57	16604.84	19404.24	29591.73
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	2142.61	2056.62	6699.68	6283.27	20890.40	29637.28	50901.63	43829.76	18987.37	20834.91	44849.60	59802.31
Day 29	BLLQ	BLLQ	#	#	20998.84	12483.57	52798.95	51202.30	78574.21	78613.30	43055.60	46182.20	65822.89	83555.41
$AUC_{0\text{-}96h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	2682.90	2539.20	8531.23	8013.56	26338.31	34472.16	62041.95	57159.67	25111.02	32839.30	60605.92	72494.55
Day 29	BLLQ	BLLQ	#	#	26274.15	15776.58	67359.57	63100.56	96814.15	94870.62	58456.25	59797.83	83360.74	106918.02
C_{max} (µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	54.52	171.38	142.58	184.21	648.63	796.21	1632.46	2038.70	324.94	712.71	727.58	987.58
Day 29	BLLQ	BLLQ	#	#	503.13	303.65	1006.41	1045.50	1695.71	2123.31	810.96	877.41	1051.87	1637.87

Study No. APQ0061 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Twice Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Noteworthy Findings:														
Died or Sacrificed Moribund	0	0	13	1	1	3	0	1	1	0	1	2	0	0
Clinical Obser-vations	One or more of the following clinical signs, considered treatment related, were noted for a few animals following the fourth or fifth 3 mg/kg/occasion dose administration. These signs included swollen muzzle, hind limbs or forelimbs, reddening of the limbs and muzzle, decreased activity, piloerection, shallow or slow breathing, and flattened or hunched posture. Swollen muzzle, piloerection, hunched posture, decreased activity, partially closed eyelids and rapid breathing were noted in individual animals at 10 and/or 30 mg/kg/occasion (IV).													
Anti-Drug Antibodies (No. of positive animals)														
Day 9	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
Day 15	#	#	0	#	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 29	0	0	#	#	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Day 39	#	#	#	#	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 43	#	#	#	#	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 50	#	#	#	#	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Activated Partial Thromboplastin Time (sec)														
Day 30	31.0	35.9	#	#	59.1**	79.9**	69.4**	56.4*	65.8**	56.0*	67.2**	62.3**	70.5**	56.3**
Recovery Week 8	28.5	30.5	#	#	#	#	#	#	40.0*	36.5	#	#	32.6	32.4

Study No. APQ0061 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Twice Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Haematology:														
Lymphocytes ($x10^9$/L)														
Week 4	1.67	2.09	#	#	2.15	2.54	2.80	2.97	2.03	2.19	3.81**	3.63*	5.16**	3.06*
Recovery Week 8	3.43	2.70	#	#	#	#	#	#	3.74	2.09	#	#	3.34	2.60
Eosinophil ($x10^9$/L)														
Week 4	0.11	0.08	#	#	0.16	0.15	0.11	0.14	0.10	0.10	0.15	0.30**	0.18	0.22**
Recovery Week 8	0.22	0.17	#	#	#	#	#	#	0.16	0.15	#	#	0.16	0.14
Organ Weights (g):														
Liver														
Main Study Termination														
Absolute	1.8787	1.2548	#	#	1.7877	1.1852	1.7362	1.1210	1.8129	1.1723	1.9239	1.2025	1.7193	1.1799
Adjusted	1.9223	1.2609	#	#	1.7785**	1.2232	1.7163**	1.1037*	1.7728**	1.1881*	1.9040	1.2082	1.7648**	1.1366**
Recovery Phase Termination														
Absolute	1.9838	1.3097	#	#	#	#	#	#	1.7843	1.3619	#	#	1.9833	1.1660
Adjusted	1.9156	1.2881	#	#	#	#	#	#	1.8296	1.3410	#	#	2.0062	1.2084

Study No. APQ0061 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Twice Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Histology:														
Main Study Termination														
Subcutaneous IS 1														
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous														
No examined	12	12	#	#	#	#	#	#	#	#	12	12	12	12
Minimal	0	2	#	#	#	#	#	#	#	#	7	9	2	6
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	2	0	0	5
Total	0	2	#	#	#	#	#	#	#	#	9	9	2	11
Subcutaneous IS 2														
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous														
No examined	12	12	#	#	#	#	#	#	#	#	11	12	12	12
Minimal	0	2	#	#	#	#	#	#	#	#	4	7	2	5
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	5	3	0	6
Total	0	2	#	#	#	#	#	#	#	#	9	10	2	11
Recovery Phase Termination														
Subcutaneous IS 1														
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous														
No examined	6	6	#	#	#	#	#	#	6	6	#	#	6	6
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	0
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	0
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	0
Subcutaneous IS 2														
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous														
No examined	6	6	#	#	#	#	#	#	6	6	#	#	6	6
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	1

Study No. APQ0061 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Twice Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	0
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	0	0	#	#	0	1

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)
-: No noteworthy findings
#: Not sampled
*: $p<0.05$
**: $p<0.01$

表 2.6.7-6　CSL312：カニクイザルを用いた 8 日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（試験番号 APQ0055）

Report Title: CSL312: Short Term Toxicity Study by Intravenous (Bolus) and Subcutaneous Administration to Cynomolgus Monkeys for 8 Days		**Test Article:** garadacimab
Species/Strain: Primate/Cynomolgus Monkey (*Macaca* fascicularis)	**Duration of Dosing:** 8 Days (Dosing on Day 1 and Day 8)	**Study No.** APQ0055
Initial Age: 28 to 29 months	**Duration of Postdose:**NA	**Location:** 4.2.3.2.4
Date of First Dose: [redacted]20[redacted](Males) [redacted]20[redacted](Females)	**Method of Administration:** Intravenous Injection (Groups 1-5) Subcutaneous Injection (Groups 1, 6-7)	**GLP Compliance:** Yes
	Vehicle: 0.9% isotonic saline	
Parameters collected: Toxicokinetics, complement activation marker C3a, D-Dimer, thrombin anti-thrombin complex, clinical condition, body weight, food consumption, ophthalmic examination, hematology (peripheral blood), hematology (bone marrow), blood chemistry, contingency plasma samples, urinalysis, organ weight, macropathology and histopathology.		
Special Features: None		
No Observed Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/occasion (IV) / 200 mg/kg/occasion (SC)		
Brief conclusion: Prolongation of the aPTT irrespective of the route of administration was consistent with the expected pharmacological response to the treatment with garadacimab. There were no other findings of toxicological significance at any dose level tested (up to 100 mg/kg/occasion intravenously and 200 mg/kg/occasion subcutaneously) after single and repetaed administration of garadacimab.		

Daily Dose (mg/kg/ occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Number of Animals	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1	M: 1	F: 1
Toxicokinetics:														
$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	6316.23	3563.22	14777.09	12420.74	36729.22	35572.96	138956.47	92356.68	45425.31[$]	48335.39	207291.80	182038.82
C_{max} (µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	108.97	62.92	254.21	192.68	648.32	595.58	2262.68	1823.95	359.35	412.50	1610.26	1527.88

Study No. APQ0055 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Noteworthy Findings:														
Haematology[a]:														
Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) (sec/ %)														
Pre-treatment	19.5	22.1	18.1	20.6	20.2	19.1	18.2	19.9	18.1	17.8	21.9	17.8	18.2	22.9
Day 1														
Pre-dose	21.1	24.5	-12.3	-10.2	+2.8	-15.9	-6.6	-10.2	-7.1	-21.2	+9.5	-20.8	-7.1	-4.1
0.25 hour	20.0	23.5	+41.5	+39.6	+81.5	+59.1	+108.0	+123.8	+176.0	+130.6	+30.5	-0.4	+3.5	+1.7
1 hour	17.3	23.1	+67.1	+45.5	+124.3	+61.0	+138.2	+119.9	+200.0	+100.9	+51.4	+12.1	+58.4	+38.1
5 hour	19.7	23.5	+35.5	+39.6	+82.2	+54.0	+111.7	+105.1	+151.3	+106.0	+64.0	+25.5	+93.9	+69.8
24 hour	19.9	22.6	+28.1	+35.8	+73.4	+46.5	+97.0	+95.6	+121.6	+84.1	+97.0	+57.5	+168.8	+122.1
48 hour	20.9	24.0	+20.6	+13.8	+62.7	+29.6	+81.8	+67.5	+114.4	+61.3	+117.2	+53.3	+181.3	+112.5
72 hour	19.6	24.0	+18.9	+17.9	+60.7	+29.6	+72.4	+61.7	+110.7	+58.3	+113.3	+49.2	+195.4	+110.8
120 hour	20.3	21.1	+15.8	+21.3	+45.3	+34.6	+59.1	+75.8	+101.5	+68.2	+106.4	+64.0	+149.3	+130.8
168 hour	19.2	24.4	+9.9	+54.9	+51.6	+71.7	+57.3	+148.4	+94.3	+158.2	+97.4	+59.0	+146.4	+144.3
Day 9	19.2	22.3	+33.3	+43.9	+68.2	+56.5	+101.0	+110.8	+171.9	+111.7	+116.1	+82.5	+227.1	+165.9

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)

$: Value to be treated with caution as calculation included result from an undiluted sample which was >500 ng/mL, above the lower limit of quantification level, but <3000 ng/mL level.

a: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown

表 2.6.7-7　CSL312：カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 APQ0058）

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: CSL312: Repeat Dose Toxicity Study by Intravenous (Bolus) and Subcutaneous Administration to Cynomolgus Monkeys for 5 Weeks Followed by an 8 Week Recovery Period</td><td>Test Article: garadacimab</td></tr>
<tr><td>Species/Strain:
Primate/Cynomolgus Monkeys
(Macaca fascicularis)</td><td>Duration of Dosing: 5 Weeks (Dosed on days 1, 8, 15, 22, 29, 36)</td><td>Study No. APQ0058</td></tr>
<tr><td>Initial Age: 27 to 31 months</td><td>Duration of Postdose: 8 Weeks</td><td>Location in CTD: 4.2.3.2.5</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Date of First Dose:
Males ([redacted]20[redacted])
Females ([redacted]20[redacted])</td><td>Method of Administration: Intravenous Injection/Subcutaneous Injection</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vehicle: 0.9% isotonic saline</td></tr>
<tr><td colspan="3">Parameters collected:
Toxicokinetics. anti-drug antibodies (ADA), complement activation marker C3a, D-Dimer, thrombin anti-thrombin complex (TAT), cytokine release, immunophenotyping, prothrombin time (PT) and activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) investigations, clinical condition, body weight, ophthalmic examination, electrocardiography, blood pressure, respiration rate, hematology (peripheral blood), blood chemistry, urinalysis, organ weight, macropathology and histopathology.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special Features: None</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level: 100 mg/kg (IV) / 200 mg/kg (SC)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Brief conclusion:
Prolongation of the activated Partial Thromboplastin Times (aPTT) irrespective of the route of administration was consistent with the expected pharmacological response to the treatment with garadacimab. There were no other findings of toxicological significance at any dose level tested (up to 100 mg/kg/occasion intravenously and 200 mg/kg/occasion subcutaneously) after single and repeated dosing.</td></tr>
</table>

Study No. APQ0058 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Number of Animals														
Main Study:	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery:	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics:														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	1461.84	845.23	3002.39	2947.31	9553.45	9099.43	32819.38	27396.44	3433.52	3802.14	16550.53	11579.73
Day 36	BLLQ	BLLQ	2441.20	2963.43	6440.36	8163.53	17908.71	19588.91	55780.80	58017.79	14686.88	12620.01	35411.61	38343.36
$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	6029.37	4312.02	10929.96	12104.07	33452.84	31453.40	102917.28	90875.03	43450.94	43129.24	185030.22	150526.59
Day 36[a]	BLLQ	BLLQ	9577.31		$		4702.59		192008.53		$		317438.35	
C_{max} (µg/mL)														
Day 1	BLLQ	BLLQ	104.17	55.13	199.60	185.11	647.24	544.58	2142.49	1662.76	308.44	360.33	1664.11	1250.28
Day 36	BLLQ	BLLQ	127.14	169.44	327.64	401.03	987.93	974.69	3927.02	3892.79	701.43	607.14	1939.73	2320.84
Anti-Drug Antibodies (ADA) to Garadacimab (No. of positive animals)														
Pre-treatment	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 8	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Recovery Week 8	0	1	#	#	#	#	#	#	0	1	#	#	0	0

Study No. APQ0058 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Noteworthy findings:														
Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) (sec)														
Day 1														
Pre-dose	20.5	21.3	19.7	22.6	21.1	21.3	19.6	21.1	21.2	20.9	20.0	21.3	21.4	20.0
0.25 hour	20.4	21.4	32.5	34.9	37.2	38.0	48.4	52.6	67.9	70.3	#	#	#	#
5 hour	21.1	21.9	31.1	33.8	38.0	35.4	45.3	46.8	67.3	60.4	33.9	35.9	42.6	38.1
24 hour	20.7	20.4	28.2	30.1	33.9	33.3	41.9	40.4	55.3	48.3	41.0	41.8	53.9	48.4
32 hour	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	41.3	41.9	54.2	49.1
48 hour	20.0	19.3	24.5	28.0	32.2	29.9	37.6	38.5	52.0	50.2	41.1	42.5	56.4	58.5
96 hour	22.0	19.6	24.8	27.2	32.1	29.4	37.9	35.7	49.8	44.9	40.9	40.3	51.3	47.5
168 hour	19.7	20.8	21.8	26.6	29.3	31.0	31.3	35.9	44.5	43.7	38.5	38.8	48.7	48.9
Day 36														
Pre-dose	21.0	21.3	27.4	32.0	33.9	35.1	38.8	41.6	52.5	46.7	43.9	43.4	56.4	51.6
0.25 hour	21.9	21.3	35.5	38.9	44.5	42.5	54.9	68.0	79.8	75.4	#	#	#	#
5 hour	21.0	22.0	33.9	37.3	40.5	39.6	49.9	55.0	63.7	76.0	43.7	44.4	53.4	52.7
24 hour	22.6	20.3	30.4	34.3	37.3	38.3	44.4	49.1	63.2	63.5	46.6	47.8	58.6	61.1
32 hour	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	70.3
48 hour	21.2	19.2	#	#	#	#	#	#	59.9	45.7	#	#	58.9	64.6
72 hour	18.8	18.5	#	#	#	#	#	#	54.6	41.6	#	#	67.6	54.9
240 hour	#	19.8	#	#	#	#	#	#	#	33.3	#	#	#	41.6
Recovery Week 8	17.9	19.5	#	#	#	#	#	#	23.2	19.2	#	#	27.7	22.6
Body Weight Change (kg):														
Week 0-5	0.15	0.09	0.08	0.06	0.04*	0.01	0.05*	0.03	0.10*	0.01	0.06	0.00	0.10*	-0.02*
Blood Chemistry:														
Glucose (mmol/L)														
Pretreatment	2.63	4.71	3.68	3.72	2.66	3.42	3.08	3.82	3.17	3.50	2.56	3.18	3.72	3.41
Week 6	3.00	3.95	4.19*	4.71	3.80	3.20	4.81**	3.84	3.79	4.11	4.29**	4.06	5.21**	3.93

Study No. APQ0058 (Cont)											**Test Article:** garadacimab			
Weekly Dose (mg/kg/ occasion)	0 (Control) (IV/SC)		3 (IV)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Organ Weights (g):														
Thyroids and Parathyroids	0.449	0.308	0.443	0.379	0.248	0.373	0.222	0.425	0.311	0.401	0.309	0.438	0.380	0.383
Histopathology:														
Subcutaneous Injection Site 2														
Haemorrhage, Subcutaneous														
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	1	1
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	0	1
Moderate	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	1	0	0
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	1	1	2
Infiltrate, Inflammatory Cell, Dermal														
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	2	1
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	2	1
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous														
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	2	2	1	1
Slight	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	1	0	1	1
Moderate	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	1	0	0
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	3	3	2	2
Ulceration, Epidermal														
Minimal	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	1	0
Total	0	0	#	#	#	#	#	#	#	#	0	0	1	0

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)
$: Not calculable
#: Not sampled
a: Means calculated using results from male and female animals due to insufficient sample size to calculate a single sex mean.
*: $p<0.05$
**: $p<0.01$

表 2.6.7-8　CSL312：カニクイザルを用いた 26 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験並びに 8 週間回復性試験（試験番号 TH43GT）

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: CSL312: Toxicity Study by Intravenous (Bolus) and Subcutaneous Administration to Cynomolgus Monkeys for 26 Weeks Followed by an 8 Week Recovery Period</td><td>Test Article: garadacimab</td></tr>
<tr><td>Species/Strain: Cynomolgus monkey (Macaca fascicularis)</td><td>Duration of Dosing: 26 Weeks (13 Week interim phase)</td><td>Study No. TH43GT</td></tr>
<tr><td>Initial Age: At least 2 years</td><td>Duration of Postdose: 8 Weeks</td><td>Location in CTD 4.2.3.2.6</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Date of First Dose:
Main study males: [redacted]20[redacted]
Main study females: [redacted]20[redacted]
Interim and recovery period: [redacted]20[redacted]</td><td>Method of Administration: Intravenous (bolus) and/or subcutaneous injection</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vehicle/Formulation: 0.9% Isotonic saline</td></tr>
<tr><td colspan="3">Parameters collected: Toxicokinetics, anti-drug antibodies (ADA), pharmacodynamic activity (activated partial thromboplastin time (aPTT)), clinical condition, mortality, body weight, food consumption, ophthalmic examination, safety pharmacology parameters (electrocardiography, blood pressure and pulse rates; and respiration rates), clinical pathology (hematology, blood chemistry and urinalysis), coagulation (prothrombin time (PT), D-Dimer analysis, thrombin anti-thrombin complexes(TAT)), immunotoxicity/modulation markers (complement activation marker C3a, cytokine release and immunophenotyping), organ weights, macropathology and microscopic histopathology</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse-Effect Level:
Main phase: 30 mg/kg/occasion (IV) / 60 mg/kg/occasion (SC)
Interim phase: 100 mg/kg/occasion (IV) / 200 mg/kg/occasion (SC)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Brief conclusion: The intravenous and subcutaneous administration of garadacimab to cynomolgus monkeys at doses up to 100 or 200 mg/kg/occasion, respectively, in a 26 Week study with a 13 Week interim phase, resulted in the expected pharmacological derived prolongation of the activated partial thromboplastin time (aPTT) after single and repeated administration. Two animals in the main phase of the study were euthanized for welfare reasons. The clinical observations and overall pattern of endpoints were consistent with adverse immunogenic type (anti-drug antibody (ADA)) reactions to the repeated administration of the heterologous protein garadacimab. Pathological changes in any other treated animals were confined to the injection sites and consisted of local inflammatory responses and lymphoid aggregates, which were considered to represent a mild local irritant effect of the test item. All of these differences from control showed at least partial recovery after the 8 Week recovery period. Therefore, under the conditions of this study, a total of 27 weekly repeated doses of garadacimab administered via intravenous (bolus) or subcutaneous injection to cynomolgus monkeys resulted in a No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) of 30 mg/kg/occasion (IV) and 60 mg/kg/occasion (SC), respectively. With regards to the interim phase evaluations (i.e., analyses following a total of 14 weekly repeated doses of garadacimab) a NOAEL of 100 mg/kg/occasion (IV) and 200 mg/kg/occasion (SC), respectively could be applied.</td></tr>
</table>

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Number of Animals	M: 4/6[£]	F: 4/6[£]	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4/6[£]	F: 4/6[£]	M: 4	F: 4	M: 4/6[£]	F: 4/6[£]
Toxicokinetics:												
$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*µg/mL)												
Week 1	BLLQ	BLLQ	4840	2540	11644	9072	39742	36523	4221	3893	13365	12534
Week 14	BLLQ	BLLQ	5363	6219	16058	17325	52546	50497	12426	14692	37212	37665
Week 27	BLLQ	BLLQ	6870	7358	17275	19854	58349	56328	9602	15234	30959	33401
$AUC_{0\text{-}168h}$ (h*µg/mL)												
Week 1	BLLQ	BLLQ	17521	10776	41223	37007	142337	127252	41726	44366	140984	135316
Week 14	BLLQ	BLLQ	24939	29509	70191	81141	205735	199884	82159	96630	255718	237917
Week 27	BLLQ	BLLQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C_{max} (µg/mL)												
Week 1	BLLQ	BLLQ	264	158	618	540	2287	2003	322	349	1118	1067
Week 14	BLLQ	BLLQ	290	323	827	951	2862	2825	639	732	2016	2030
Week 27	BLLQ	BLLQ	347	370	1002	1021	3011	3094	463	728	1640	1797
T_{max} (h)												
Week 1	-	-	0.25	0.25	1.44	0.25	0.25	0.84	38.00	44.00	44.00	40.00
Week 14	-	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	28.00	26.00	30.00	33.14
Week 27	-	-	1.44	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	24.00	24.00	29.33	27.20
$t_{1/2}$ (h)												
Week 1	-	-	153	133	140	150	106	125	-	-	-	137
Week 14	-	-	225	180	156	178	255	174	184	231	167	163
Week 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-drug antibodies (ADA) to garadacimab (No. of positive animals)												
Pretreatment	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Week 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 10	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
Week 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 8R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Noteworthy Findings:												
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Coagulation:												
aPTT (sec)												
Day 1												
Pre-dose	22.6	23.4	24.2	21.9	25.5	22.3	23.5	24.4	21.7	23.0	24.2	22.9
0.25 hour	22.9	24.6	46.2	40.3	62.3	51.1	80.7	77.7	-	-	-	-
5 hour	25.2	27.0	51.0	42.9	66.6	52.7	87.8	72.3	41.2	39.1	53.4	51.4
24 hour	23.6	23.9	40.4	36.0	51.3	45.4	64.9	63.7	43.2	44.8	57.6	66.5
32 hour	-	-	-	-	-	-	-	-	32.7	48.6	54.0	72.2
48 hour	22.8	23.2	39.2	35.9	45.2	47.3	58.4	62.9	45.3	51.2	56.1	73.0
96 hour	23.4	24.7	38.4	35.3	48.4	39.9	60.5	53.0	46.4	42.9	58.1	61.3
168 hour	22.6	22.4	36.4	32.3	48.6	42.1	49.0	50.1	42.9	43.1	54.9	51.9
Week 6												
0.25 hour	-	-	52.9	49.1	67.3	58.2	88.9	88.7	-	-	-	-
32 hour	21.7	23.9	-	-	-	-	-	-	51.7	61.4	77.2	80.1
Week 10												
0.25 hour	-	-	54.0	51.8	74.2	64.9	112.8	107.3	-	-	-	-
32 hour	22.6	22.3	-	-	-	-	-	-	58.6	59.2	74.9	80.9
Week 14												
Pre-dose	22.0	24.4	45.1	44.8	56.8	50.4	80.1	63.3	50.4	52.8	75.5	76.1
0.25 hour	23.4	24.7	55.4	52.3	73.1	61.7	91.6	89.6	-	-	-	-
5 hour	21.2	24.4	47.8	54.2	71.8	65.1	93.1	106.2	56.2	59.5	66.9	91.4
24 hour	23.6	25.3	50.4	48.9	60.5	56.4	93.3	83.1	49.5	59.4	88.2	84.3
32 hour	-	-	-	-	-	-	-	-	56.0	70.3	83.3	82.7
48 hour	22.9	23.0	45.5	44.2	51.5	53.6	82.9	71.4	58.4	58.9	91.0	82.0
72 hour	22.9	23.9	41.3	44.4	56.4	52.5	79.2	68.9	54.2	56.2	81.9	90.8
120 hour	24.8	23.9	43.2	43.5	54.4	55.1	64.3	71.1	50.8	58.8	69.0	78.8
168 hour	22.3	23.1	39.3	41.2	47.0	49.7	62.2	63.2	48.4	54.4	65.8	69.8

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Coagulation:												
aPTT (sec)												
Week 18												
0.25 hour	-	-	60.0	52.4	78.8	63.7	114.5	95.7	-	-	-	-
32 hour	22.9	22.9	-	-	-	-	-	-	72.6	63.2	82.1	94.1
Week 22												
0.25 hour	-	-	61.4	56.2	94.5	76.6	115.1	108.3	-	-	-	-
32 hour	22.4	21.5	-	-	-	-	-	-	95.9	60.3	108.6	93.8
Week 27												
Pre-dose	21.6	25.0	43.7	45.7	55.2	53.0	70.5	71.7	58.1	56.4	80.6	87.6
0.25 hour	22.2	23.1	57.6	58.5	59.5	69.0	99.6	104.4	-	-	-	-
5 hour	26.9	24.3	60.8	52.6	83.5	63.6	113.1	85.1	63.8	58.2	107.7	84.2
24 hour	22.9	23.2	52.3	50.9	60.7	57.8	88.2	78.8	57.4	60.2	79.3	82.4
32 hour	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	66.9	81.9
48 hour	22.1	23.3	-	-	-	-	106.4	106.0	-	-	112.4	126.4
72 hour	22.5	24.2	-	-	-	-	57.3	67.3	-	-	60.9	82.8
120 hour	22.9	24.5	-	-	-	-	64.9	68.5	-	-	95.9	111.5
168 hour	20.7	23.1	-	-	-	-	62.6	65.4	-	-	81.4	90.4
240 hour	23.0	21.5	-	-	-	-	68.8	64.3	-	-	73.7	68.5
Recovery												
Week 3[$]	22.1	23.5	-	-	-	-	47.6	55.6	-	-	59.5	69.4
Week 4[$]	22.6	24.4	-	-	-	-	45.7	51.0	-	-	55.6	62.0
Week 5[$]	22.2	23.8	-	-	-	-	35.6	45.3	-	-	43.7	55.5
Week 6[$]	19.2	23.3	-	-	-	-	30.6	40.2	-	-	41.1	51.1
Week 7[$]	21.9	24.0	-	-	-	-	32.4	36.6	-	-	36.5	45.6
Blood Chemistry:												
Alanine-amino transferase (U/L)												
Week 27	44	38	34	44	33	34	28*	43	21**	37	29**	36
Potassium concentration (mmol/L)												
Week 27	3.9	3.7	3.9	4.1	4.3	4.0	3.9	4.3	4.1	4.7*	3.9	4.2*

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Histopathology:												
Week 13												
No. of animals/sex	2/M	2/F	-	-	-	-	2/M	2/F	-	-	2/M	2/F
Subcutaneous IS 1 – Left Dorsal Thoracic												
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Total	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Subcutaneous IS 2 – Right Dorsal Thoracic												
Haemorrhage, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Total	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Total	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Venous IS, Saphenous, Left												
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Total	0	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Venous IS, Saphenous, Right												
Haemorrhage, Subcutaneous												
Minimal	1	0	-	-	-	-	0	2	-	-	-	-
Slight	1	1	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Moderate	0	0	-	-	-	-	2	0	-	-	-	-
Total	2	1	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	0	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
Slight	1	0	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
Total	1	1	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-
Infiltrate, Inflammatory Cell, Dermal												
Minimal	0	1	-	-	-	-	0	2	-	-	-	-
Total	0	1	-	-	-	-	0	2	-	-	-	-

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
SCab(s)												
Minimal	0	0	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-
Total	0	0	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-
Week 27												
No. of animals/sex	4/M	4/F	-	-	-	-	-	-	4/M	4/F	4/M	3/F
Subcutaneous IS 1 – Left Dorsal Thoracic												
Haemorrhage, Subcutaneous												
Minimal	1	1	-	-	-	-	-	-	2	1	1	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	1	1
Total	1	1	-	-	-	-	-	-	3	1	2	2
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	2	2	3	2
Slight	0	1	-	-	-	-	-	-	1	0	0	1
Total	0	1	-	-	-	-	-	-	3	2	3	3
Aggregates, Lymphoid, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	3	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	1	0
Total	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	4	1
Subcutaneous IS 2 – Right Dorsal Thoracic												
Haemorrhage, Subcutaneous												
Minimal	1	2	-	-	-	-	-	-	0	0	1	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	1	0
Total	1	2	-	-	-	-	-	-	0	0	2	1
Infiltrate, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	1	3	-	-	-	-	-	-	0	0	4	3
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Total	1	3	-	-	-	-	-	-	0	0	4	3
Aggregates, Lymphoid, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	3	2
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	1	0
Total	0	0	-	-	-	-	-	-	1	0	4	2
No. of animals/sex	4/M	4/F	4/M	4/F	4/M	4/F	4/M	4/F	-	-	-	-
Venous IS, Saphenous, Left												
Haemorrhage, Subcutaneous												
Minimal	1	2	0	2	3	1	1	0	-	-	-	-

Study No. TH43GT (Cont)									**Test Article:** garadacimab			
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control, IV/SC)		10 (IV)		30 (IV)		100 (IV)		60 (SC)		200 (SC)	
Slight	1	1	1	1	0	1	0	4	-	-	-	-
Total	2	3	1	3	3	2	1	4	-	-	-	-
Infiltration, Inflammatory Cell, Subcutaneous												
Minimal	1	2	1	3	3	1	1	2	-	-	-	-
Slight	1	1	0	0	0	1	0	2	-	-	-	-
Total	2	3	1	3	3	2	1	4	-	-	-	-
Infiltration, Inflammatory Cell, Dermal												
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2	-	-	-	-
Total	0	0	0	0	0	0	0	2	-	-	-	-
Recovery Week 8												
No. of animals/sex	2/M	2/F	-	-	-	-	-	-	-	-	2/M	2/F
Subcutaneous IS 1 – Left Dorsal Thoracic												
Aggregates, Lymphoid, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Total	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Subcutaneous IS 2 – Right Dorsal Thoracic												
Aggregates, Lymphoid, Subcutaneous												
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Total	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL); IS = Injection site
-: Not applicable/No noteworthy findings
$: Mean is generated from 2 individual animals
£: During Weeks 1 and 14, the number of animals included the Interim Phase animals.
*: $p<0.05$
**: $p<0.01$

2.6.7.8 遺伝毒性試験 In Vitro

独立した試験は実施していない。

2.6.7.9 遺伝毒性試験: In Vivo

独立した試験は実施していない。

2.6.7.10 がん原性試験

独立した試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性：重要な試験以外の試験

表 2.6.7-9 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験のための予備試験（試験番号 MN80HQ）

Report Title: CSL312: Preliminary Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the New Zealand White Rabbit by Intravenous (Bolus) Administration		**Test Article:** garadacimab
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White	**Duration of Dosing:** Once every three days, on Days 6, 9, 12, 15 and 18 after mating at approximately the same time each day.	**Study No.** MN80HQ
Design similar to ICH S5(R2) Paragraph 4.1.3: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.1
Gender and No. per Group: Pregnant Female, 8 per group (6 on main study, 2 on satellite study)	**Day of Mating:** Day 0	
Initial Age: Approximately 18 to 24 weeks old.	**Day of C-Section:** Day 29	**GLP Compliance:** No
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Intravenous (Bolus) Injection	
	Formulation buffer: [redacted] mM L-Histidine, [redacted] mM L-Arginine Monohydrochloride, [redacted] mM L-Proline, [redacted]% w/v Polysorbate 80, pH[redacted] **Vehicle/Placebo:** Isotonic (Physiological) Saline (0.9% NaCl)	
Parameters collected: Dams: Activated partial thromboplastin time (aPTT), toxicokinetics, fetal exposure, anti-drug antibody (ADA) analysis, clinical observations, mortality, necropsy observations, gravid uterine weight, body weight, food consumption, reproductive assessment via macropathology including mean No. corpora lutea, mean No. implantations, mean % preimplantation loss Litters: Mean % postimplantation loss, mean fetal body weight (g), fetal sex ratios, fetal abnormalities, gross external, total affected fetuses (litters), live young		
Special Features: None		
No Observed Adverse-Effect Level: F0 Females: 100 mg/kg/day F1 Litters: 100 mg/kg/day		
Brief conclusion: Intravenous administration of garadacimab, to pregnant New Zealand White rabbits at dose levels of 1, 30 or 100 mg/kg/occasion during the period of organogenesis was associated with an expected prolongation of the activated partial thromboplastin time (aPTT) at all dose levels which is considered to be consistent with the pharmacological mode of action of the test item. Analysis of pooled fetal blood samples indicated that garadacimab crossed the placenta at all dose levels. Overall, garadacimab dose levels up to 100 mg/kg/occasion were well tolerated with no effect on body weight or general condition of the animals.		

Study No. MN80HQ (Cont)	**Test Article:** garadacimab
At scheduled termination, embryo-fetal survival, litter size, fetal and placenta weight was unaffected by treatment and macroscopic examination of fetuses on Day 29 of gestation did not reveal any abnormality. It was therefore concluded that a high dose of 100 mg/kg/occasion would be suitable for use in the main embryo-fetal development study in the New Zealand White rabbit. Based on the results obtained in this study, the No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) for maternal and fetal toxicity was concluded to be 100 mg/kg/occasion.	

2.6.7.12 生殖発生毒性：受胎能及び着床までの初期胚発生

表 2.6.7-10 CSL312：雌ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8408860）

Report Title: Intravenous Injection Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study with CSL312 in Rabbits		**Test Article:** garadacimab
Design similar to ICH S5(R2) Paragraph 4.1.1 and ICH S5(R3) Annex 1: Yes	**Duration of Dosing:** **M:** Not dosed, **F:** Pre-Mating Days 0, 3, 6, 9, and 12; Pairing Days 1 and 4; and on GD 1, 4, and 7.	**Study No.** 8408860
Species/Strain: Rabbit / Hra:(NZW)SPF	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1.1
Initial Age:6-8 months at dosing	**Day of C-Section:** GD 14	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Intravenous injection	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.9% sodium chloride for injection	
No Observed Adverse Effect Level:		
F0 Males: NA		
F0 Females: 100 mg/kg/dose		
F1 Litters: 100 mg/kg/dose		

Study No. 8408860 (Cont)			**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10	30	100
Females				
Toxicokinetics:				
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL) / C_{max} (µg/mL) PM 0	BLLQ	7290 / 186	15900 / 515	49100 / 1880
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL) / C_{max} (µg/mL) PM 6	BLLQ	11600 / 287	26900 / 662	75500 / 2150
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL) / C_{max} (µg/mL) PM 12	BLLQ	12100 / 280	31200 / 1430	85200 / 2530
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL) / C_{max} (µg/mL) GD 7	BLLQ	13500 / 309	30500 / 798	85200 / 2430
No. Evaluated	25	26	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	1	0	0	0
No. Unscheduled Non-Moribund Sacrifice	0	1[b]	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Ovarian weights	-	-	-	-
Premating Body Weight[a] (Day 0 to 12)	113 g	+11.5	-5.3	-6.2
Gestation Body Weight[a] (Day 1 to 14)	169 g	+11.2	+36.1+H	+7.1
Premating Food Consumption[a] (Day 0 to 14)	135.6 g	+5.2	-1.8	+4.1
Gestation Food Consumption[a] (0 to 14)	136.9 g	+2.8	+2.0	+2.0
Mean No. Days Prior to Mating	0.1	0.1	0.2	0.4
No. of Females Cohabited	24	25	25	25
No. of Females with Confirmation of Mating	24	24	25	25
Mating Index (%)	100	96	100	100
No. of Pregnant Females	23	23	24	23
Fecundity Index (%)	96	96	96	92
Fertility Index (%)	96	92	96	92
Anti-Drug Antibody Positive (%[c]) on Day 1 of Dosing	0	0	4.00	0
Anti-Drug Antibody Positive (%[c]) on Pre-Mating Day 12	8.33	0	0	48.0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	9.7	10.1	9.8	10.0
Mean No. Implantation Sites	8.2	9.6*r	9.1	9.2*r
Mean % Pre-implantation Loss	14.6	5.4+r	6.3	8.3
Mean No. Early Resorptions	0.2	0.2	0.3	0.4
Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	3.0	1.9	3.5	4.6
Mean No. Live Embryos	8.0	9.3	8.8	8.7

PM = Pre-Mating day; GD = Gestation day; BLLQ = Below the lower limit of quantitation (<500 ng/mL), NA = Not applicable

Mating index % = Mated females / Females cohabited x 100
Fecundity index % = Pregnant females / Mated females x 100
Fertility index % = Pregnant females / Females cohabited x 100
-: No noteworthy findings
a: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b: This animal (B0512) was removed due to administration of a partial dose.
c: Percentage of animals that tested positive for anti-drug antibodies.
+H: Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.01 level
*r: Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level
+r: Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level

表 2.6.7-11　CSL312：雄ウサギを用いた静脈内投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8399537）

Report Title: Intravenous Injection Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study with CSL312 in Rabbits		**Test Article:** garadacimab
Design similar to ICH S5(R2) Paragraph 4.1.1 and ICH S5(R3) Annex 1: Yes	**Duration of Dosing:** **M:** Pre-Pairing Days 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, and 27; Pairing Days 2 and 5; and on Post-Pairing Days 2, 5, and 8 **F:** Not dosed	**Study No.** 8399537
Species/Strain: Rabbit / Hra:(NZW)SPF	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1.2
Initial Age: 7 to 8 months old	**Day of C-Section:** GD 14	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Intravenous injection	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.9% sodium chloride for injection	
No Observed Adverse Effect Level:		
F0 Males: 100 mg/kg/dose		
F0 Females: NA		
F1 Litters: NA		

Study No. 8399537 (Cont)			**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10	30	100
Males				
Toxicokinetics:				
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*ng/mL) Day 1 of dosing	BLLQ	5350000	16200000	62200000
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*ng/mL) PM 15	BLLQ	10400000	34300000	120000000
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*ng/mL) PM 27	BLLQ	11200000	35800000	106000000
C_{max} (ng/mL) Day 1 of dosing	BLLQ	198000	630000	2090000
C_{max} (ng/mL) PM 15	BLLQ	206000	1680000	2780000
C_{max} (ng/mL) PM 27	BLLQ	281000	1190000	2930000
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	4	2	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
No. of Males Cohabitated	25	21	24	25
No. of Males that Mated	23	20	22	23
Mating Index (%)	92	95	92	92
No. of Fertile Males	22	16	21	22
Fecundity Index (%)	96	80	95	96
Male Fertility Index (%)	88	76	88	88
Microscopic Observations	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-
Sperm Data - Caudal Epididymal Weight	-	-	-	-
Sperm Data - Sperm Motility	-	-	-	-
Sperm Data - Total Sperm Count	-	-	-	-
Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) (sec):				
PM 0 (Predose)	22.20	21.94	21.23	21.95
PM 0 (1 hour postdose)	22.63	70.73+r	109.45x	84.31#r
PM 15 (Predose)	22.60	50.02#r	73.66#r	78.53#r
PM 15 (1 hour postdose)	21.51	44.95x	62.60+r	74.02#r
PM 27 (Predose)	20.29	51.06*r	74.58+r	98.46#r
PM 27 (1 hour postdose)	19.99	62.87+r	74.37#r	66.09#r
Anti-Drug Antibody Positive (%[a])	28	32	16	72
Females				

Study No. 8399537 (Cont)			**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10	30	100
No. of Females Cohabited	30	24	28	28
No. of Pregnant Females	23	17	22	23
Female Fertility Index (%)	77	71	79	82

PM= Pre-mating day; NA = Not applicable; BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL)
Mating index % = (Number of males mating with at least 1 female / Number of males cohabitated with at least 1 female) x 100
Fecundity index % = (Number of males impregnating at least 1 female / Number of males mating with at least 1 female) x 100
Male fertility index % = (Number of males impregnating at least 1 female / Number of males cohabitated with at least 1 female) x 100
Female fertility index % = (Pregnant females / Females cohabited) x 100
-: No garadacimab-related findings
x: Sample size too small for analysis
a: Percentage of animals that tested positive for anti-drug antibodies.
+r: Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level
#r: Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.001 level
*r: Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level

2.6.7.13 生殖発生毒性：胚・胎児発生

表 2.6.7-12 CSL312：ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（試験番号 VK47BJ）

Report Title: CSL312: Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the New Zealand White Rabbit by Intravenous (Bolus) Administration		**Test Article:** garadacimab
Design similar to ICH S5(R2) Paragraph 4.1.3: Yes	**Duration of Dosing:** F: Once every three days, on Days 6, 9, 12, 15 and 18 after mating at approximately the same time each day.	**Study No.** VK47BJ
	Day of Mating: Day 0	
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White	**Day of C-Section:** Day 29	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.2
Initial Age: Approximately 18 to 24 weeks old.	**Method of Administration:** Intravenous injection	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** [redacted] mM L-Histidine, [redacted] mM L-Arginine Monohydrochloride, [redacted] mM L-Proline, [redacted]% w/v Polysorbate 80, pH[redacted] **Vehicle/Placebo:** Isotonic (Physiological) Saline (0.9% NaCl)	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level:		
F0 Females: 100 mg/kg/dose		
F1 Litters: 100 mg/kg/dose		

Study No. VK47BJ (Cont)			**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10	30	100
Toxicokinetics; Mean plasma values of garadacimab (µg/mL):				
Day 6: Pre-Dose	BLLQ	BLLQ	BLLQ	BLLQ
Day 6: 0.08 hours after dosing	BLLQ	230.31	877.80	3012.89
Day 6: 1 hours after dosing	BLLQ	257.66	767.66	2642.11
Day 6: 6 hours after dosing	BLLQ	189.27	653.52	1935.90
Day 6: 24 hours after dosing	BLLQ	130.64	371.00	1210.40
Day 6: 48 hours after dosing	BLLQ	88.22	246.24	685.95
Day 18: Pre-Dose	BLLQ	132.37	413.00	849.99
Day 18: 0.08 hours after dosing	BLLQ	438.91	1129.28	3597.46
Day 18: 1 hours after dosing	BLLQ	390.82	982.62	3308.06
Day 18: 6 hours after dosing	BLLQ	315.66	877.63	2319.92
Day 18: 24 hours after dosing	BLLQ	207.07	613.35	1600.98
Day 18: 48 hours after dosing	BLLQ	146.54	414.04	1108.00
Day 29	BLLQ	6.94	39.94	84.62
Toxicokinetics; (Mean)				
$AUC_{0\text{-}48h}$ (h*µg/mL) Day 6	blq	6878	21008	65362
Day 18	blq	11131	31461	85332
$AUC_{0\text{-}72h}$ (h*µg/mL) Day 6	blq	8509	25411	77696
Day 18	blq	13911	39602	106828
C_{max} (µg/mL) Day 6	blq	267	883	3058
Day 18	blq	439	1133	3677
Antibody Analysis (garadacimab ADA)				
Day 19: No. of positive animals	4	0	0	6
Day 29: No. of positive animals	4	3	1	0
Activated Partial Thromboplastin Time (sec)[a]				
Day 6: after first dose (Wi)	28.7	x3.31**	x3.82**	x3.33**
Day 12: after two doses (Wi)	30.6	x3.74**	x3.77**	x3.23**
Day 18: after five doses (Wi)	30.1	x4.81**	x5.20**	x3.96**
Day 29: eleven days after last dose (Sh)	22.8	x3.80**	x6.36**	x5.79**
No. at scheduled sacrifice on Day 29 after mating	22	22	22	20
No. Pregnant	21	21	19	19
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	2
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	1
Clinical Observations (Days 0 – 29)	-	-	-	-

Study No. VK47BJ (Cont)			**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10	30	100
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight change[b]				
Days 0-6 (Av)	0.09	0.07	0.08	0.11
Days 6-9 (Wi)	-0.03	-0.03	-0.04	-0.03
Days 9-12 (Wi)	0.02	0.03	0.03	0.01
Days 12-15 (Wi)	0.09	0.08	0.06	0.06
Days 15-18 (Wi)	-0.03	-0.01	0.00	0.00
Days 18-29 (Sh)	0.22	0.21	0.21	0.23
Days 6-18 (Wi)	0.05	0.06	0.06	0.05
Days 6-29 (Sh)	0.28	0.27	0.27	0.28
Gravid uterine weight[c]	0.50 kg	-4.0	-14.0	-4.0
Adjusted Body Weight Change Days 6-29[c]	-0.23 kg	-4.3	-21.7	-4.3
Food Consumption[c]				
Days 1-5	125 g/animal/day	+5.0	-9.1	-4.5
Days 6-11	105 g/animal/day	+6.1	-10.7	-2.2
Days 12-17	102 g/animal/day	+3.1	-6.5	-9.7
Days 18-22	95 g/animal/day	+1.7	+0.4	-1.1
Days 23-28	92 g/animal/day	+5.8	+7.6	+0.2
Mean No. Corpora Lutea (Sh)	9.8	9.5	9.7	10.1
Mean No. Implantations (Wi)	8.7	8.8	8.1	9.4
Mean % Preimplantation Loss (Wa)	13.1	9.5	17.9	8.9
Litters:				
No. Litters Evaluated	21	21	19	17
No. Live Fetuses (Wi)	8.0	7.9	7.2	8.4
Mean No. Resorptions (Wc)	0.7	1.0	0.9	0.9
Mean % Postimplantation Loss (Wa)	8.2	10.2	11.6	10.0
Mean Fetal Body Weight (g) (Wi)	40.2	40.3	40.8	38.8
Fetal Sex Ratios(%M) (Wa)	54.2	44.5	46.9	44.6
Fetal Anomalies:				
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-
Total Affected Fetuses (Litters)	-	-	-	-

BLLQ = Below the lower limit of quantitation (< 500 ng/mL), M = Male
blq = below limit of quantification (<100.726 ng/mL)

a: For controls, group mean values are shown. For treated groups, magnifications from controls are shown.
b: For controls and treated groups actual values (kg) are shown.
c: For controls, group mean values are shown. For treated groups, percentage differences from controls are shown
-: No noteworthy findings
*: $p<0.05$
**: $p<0.01$
Av: = Analysis of variance, Wi = Williams' test, Sh = Shirley's test, Wc = Wilcoxon rank sum test, Wa = Wald's test

2.6.7.14 生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能

表 2.6.7-13 CSL312：ウサギを用いた皮下及び静脈内投与による出生前及び出生後の発生並びにトキシコキネティクス試験（試験番号 8410864）

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: CSL312: A Pre- and Postnatal Development Study including Toxicokinetics following a Subcutaneous or Intravenous Injection in Rabbits</td><td>Test Article: garadacimab</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Design similar to ICH S5(R2) Paragraph 4.1.2 and ICH S5(R3) Annex 1: Yes</td><td>Duration of Dosing: F0 toxicity animals: GD 7, 12, 17, 22, and 27, and LD 3, 8, 13, 18, 23, 28, 33, and 38
F0 placental transfer animals: GD 7, 12, 17, 22, and 27</td><td>Study No. 8410864</td></tr>
<tr><td colspan="2">Day of Mating: GD 0</td></tr>
<tr><td>Species/Strain: Rabbit/ HsdHra:(NZW)SPF</td><td>Method of Administration: Groups 1 through 4: subcutaneous injection
Group 5: intravenous (bolus) injection</td><td>Location in CTD: 4.2.3.5.3.1</td></tr>
<tr><td>Initial Age: 8 months at initiation of dosing</td><td colspan="2">Vehicle/Formulation: 0.9% Sodium chloride for injection</td></tr>
<tr><td>Date of First Dose: [redacted]20[redacted]</td><td>Litters Culled/Not Culled: Culled</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="3">Special Features: None</td></tr>
<tr><td colspan="3">No Observed Adverse Effect Level:</td></tr>
<tr><td colspan="3">F0 Females: 100 mg/kg/dose IV/SC</td></tr>
<tr><td colspan="3">F1 Males: 100 mg/kg/dose IV/SC</td></tr>
<tr><td colspan="3">F1 Females: 100 mg/kg/dose IV/SC</td></tr>
</table>

Study No. 8410864 (Cont)				**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10 SC	30 SC	100 SC	100 IV
F0 Females					
Toxicokinetics:					
$AUC_{0\text{-}120h}$ (h*µg/mL) (GD 7)	BLLQ	5740	13800	39900	103000
C_{max} ± SE (µg/mL) (GD 7)	BLLQ	61.2 ± 4.76	172 ± 25.3	456 ± 17.6	3010 ± 226
$AUC_{0\text{-}120h}$ (h*µg/mL) (LD 18)	BLLQ	11900	23100	59100	97700
C_{max} ± SE (µg/mL) (LD 18)	BLLQ	181 ± 85.0	242 ± 34.9	626 ± 57.6	2150 ± 90.1
$AUC_{0\text{-}120h}$ (h*µg/mL) (LD 38)	BLLQ	16800	35100	91800	131000
C_{max} ± SE (µg/mL) (LD 38)	BLLQ	154 ± 6.44	360 ± 73.9	927 ± 157	2600 ± 203
No. Pregnant	25	25	25	25	25
Antibody Analysis (garadacimab ADA)					
Positive Incidence (%)	0	48	18	17	11
Activated Partial Thromboplastin Time (sec)					
GD 7 at 24 hours post-dose (AT)	19.5	76.6***	69.2***	66.5***	NE
No. Died or Sacrificed Moribund	1	0	1	0	5[a]
Removed due to Total Litter Loss	1	0	1	2	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-
Mean Duration of Gestation (days)	32.0	32.1	32.1	32.0	31.8
Abnormal Parturition	-	-	-	-	-
F1 Litters (Preweaning)					
No. Litters Evaluated	24	25	24	25	24
Mean No. of Implantation Sites	9.84	8.72	8.88	9.60	9.68
Mean No. Pups Delivered	9.04	8.04	8.29	9.32	9.29
Mean No. Pups Alive Day 4 (Before Cull)	7.70	6.92	7.09	7.43	7.88
Mean No. Pups Alive Day 4 (After Cull)	7.70	6.92	7.09	7.39	7.88
Mean No. Pups Alive Day 35	7.52	6.88	6.96	7.22	7.79
No. of Total Litter Deaths	1	0	1	2	0
Pup Body Weights	-	-	-	-	-
Mean % Male Pups Day 4 (Precull)	51	50	57	51	53
Pup Clinical Observations	-	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Mean Age of Eye Opening (days)	11.4	11.2	11.0	11.5	11.4

Study No. 8410864 (Cont)				**Test Article:** garadacimab	
Daily Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	10 SC	30 SC	100 SC	100 IV
Mean Age of Pinna Unfolding (days)	11.9	11.7	11.3	11.8	11.9
Mean % Day 4 Viability Index	92	97	93	87	98
Mean % Weaning Index	94	99	94	90	99
F1 Males (Postweaning)					
No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-
Functional Observation Battery/ Eye Blink Response	-	-	-	-	-
No. of Males that Mated	24	23	22	24	24
No. of Fertile Males	19	22	20	20	20
F1 Females (Postweaning)					
No. Evaluated Postweaning	25	25	24	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	1	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-
Functional Observation Battery/Eye Blink Response	-	-	-	-	-
No. of Females with Confirmation of Mating	24	25	23	25	25
No. of Pregnant Females	19	23	20	20	21
Mean No. Corpora Lutea	10.7	9.8	11.2	10.8	10.8
Mean No. Implantation Sites	9.0	9.0	10.5	9.2	9.4
Mean % Pre-implantation Loss	16.63	7.57	5.84	13.84	12.70
F2 Litters					
Mean No. Early Resorptions	0.3	0.4	0.4	0.3	0.2
Mean No. Late Resorptions	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	4.11	4.14	3.25	2.55	2.34
Mean No. Live Embryos	8.6	8.7	10.1	8.9	9.2

GD = Gestation day; LD = Lactation day; SC = Subcutaneous injection; IV = Intraveneous injection
BLLQ = Below lower limit of quantitation (500 ng/mL); NE = Not evaluated
-: No noteworthy findings
a: 3 animals inadvertently were removed from study 1 day early.

**: p<0.01
***: p<0.001
A= ANOVA and Dunnett's, T = Rank-Transformed data

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

独立した試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

表 2.6.7-14 CSL312：ウサギ皮下投与局所刺激性及び生物学的同等性試験（試験番号 37761）

Report Title: Local Tolerance and Bioequivalence Study of Two CSL312 Formulations following Subcutaneous Administration in Rabbits				**Test Article**: garadacimab	
Species/Strain	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Rabbit / New Zealand White (NZW)	SC injections **right side of each animal (test item):** SC injection under the dorsal skin **left side of each animal (control item):** was accordingly treated with 0.9% NaCl solution per animal The application areas were shaved and disinfected with 70% ethanol before administration. The injection sites were marked with indelible ink. Time of sacrifice: 11 days after administration (72 hours after last application)	20 mg/kg on day 1 and day 8-	M/3, F/3	Repeated subcutaneous administration of two formulations of garadacimab (batch no. [redacted] and batch no. [redacted]) caused neither macroscopically nor microscopically signs of any test item-related changes. No signs of systemic toxicity and no influence on body weight was observed. Maximum plasma concentrations of garadacimab were generally observed at 24 or 48 hours post dosing. C_{max} and AUC for group 1 and group 2, increased approximately to the same extent on test day 1. The mean terminal plasma elimination half-life ($t_{½}$) of garadacimab was comparable across all treatments. No noteworthy gender differences were noted for any pharmacokinetic parameter.	37761

Further Local tolerability investigations were performed as part of the repeat-dose toxicity studies in mice and monkeys.

2.6.7.17 その他の毒性試験

表 2.6.7-15 CSL312：ヒト及びカニクイザルの組織を用いた組織反応性試験（試験番号 APQ0057）

Report Title: Cross-Reactivity Study in Human Tissues and Selective Cynomolgus Monkey Tissues					**Test Article:** garadacimab	
Species/Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (µg/mL)**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Human, Cynomolgus monkey	In vitro	N/A	Concentration: 5, 2.5 and 1.25 µg/mL	3 human donors / 3 monkey donors	Liver was used as the positive control and optimal staining was achieved at 5, 2.5 and 1.25 µg/mL of the test item. Isotype negative control was negative on the control sections which confirmed the specificity of the test item. Consistent specific staining was observed in the central and peripheral nervous system tissues, adrenal gland and liver, where staining was generally of greater intensity, was seen in all donors from both species and was generally observed across garadacimab antibody concentrations. In general, specific staining in Cynomolgus monkeys was predictive of staining in human tissues, with the exception of parathyroid, where only specific staining was observed in human tissues.	APQ00057

Study No. APQ00057 (Cont)		**Test Article:** garadacimab
Tissues	**Human**	**Cynomolgus Monkey**
Adrenal	+/++	+ to +++
Urinary Bladder	+	+/++
Endothelium	-	NE
Bone Marrow	++/+++	++/+++
Breast	+/++ (only at 5 µg/mL)	NE
Cerebellum	++	++/+++
Cerebral cortex	+ to +++	++/+++
Colon	-	NE
Blood	+/++	NE
Eye	+++ (1 donor only)	NE
Fallopian Tube	+	NE
Cardiac Muscle	+/++	NE
Ileum	-	NE
Kidney	+/++	NE
Liver	++/+++	++
Lung	++/+++	+ (only at 5 µg/mL)
Lymph node	+/++	+/++
Ovary	+ (one donor only at 5 µg/mL)	+/++
Pancreas	+	+ (one donor only at 5 µg/mL)
Parathyroid	+/++	-
Placenta	+	NE
Pituitary	+/++	+ (only at 5 µg/mL)
Prostate	+ (1 donor only)	+
Skin	+	NE
Spinal cord	+++	++/+++
Spleen	+/++	+/++
Stomach	++	NE
Striated Muscle	-	-
Testis	+/++	+/++
Thymus	++ (only at 5 µg/mL)	NE
Thyroid	-	NE
Ureter	+/++	+
Cervix	+ (one donor only at 5 µg/mL)	NE
Endometrium	+ (one donor only)	NE

Study No. APQ00057 (Cont)		**Test Article:** garadacimab
Tissues	**Human**	**Cynomolgus Monkey**
Tonsil	-	+/++
Parotid	+/++	+
Peripheral nerve	+/++	+/++

Staining: + = weak; ++ = moderate; +++ = strong; - = negative; NE = Not evaluated.