2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧

略語（略称）	英語	日本語
αGST	α-glutathione-s-transferase	α-グルタチオン-s-トランスフェラーゼ
ADA	Anti-drug antibodies	抗薬物抗体
ADC	Antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
ALQ	Above limit of quantitation	定量上限値超
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APRIL	A proliferation-inducing ligand	増殖誘導リガンド
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
BAFF	B-cell activating factor	B 細胞活性化因子
BCMA	B-cell maturation antigen	B 細胞成熟抗原
Cmax	Maximum observed plasma drug concentration	最高血漿中濃度
CRP	C-reactive protein	C-反応性蛋白
Cys	Cysteine	システイン
DAR	Drug-antibody ratio	薬物抗体比
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DP	Drug product	製剤
DS	Drug substance	原薬
ECL	Enhanced Chemiluminescence	増強化学発光
ECLIA	Electrochemiluminescent immunoassay	電気化学発光免疫測定法
EIPA	5-(N-Ethyl-N-isopropyl)amiloride	5-(N-エチル-N-イソプロピル)アミロリド
EMH	Extramedullary hematopoiesis	髄外造血
GGT	Gamma-glutamyl transferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GI	Gastrointestinal	胃腸
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
HCEC	Human corneal epithelial cells	ヒト角膜上皮細胞
HNSTD	Highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IFN-γ	Interferon-gamma	インターフェロン-γ
IHC	Immunohistochemistry	免疫組織化学

2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧（続き）

略語（略称）	英語	日本語
IL	Interleukin	インターロイキン
INN	International non-proprietary name	医薬品国際一般名称
IV	Intravenous	静脈内
KC/GRO	Keratinocyte chemoattractant/growth-regulated oncogene	ケラチノサイト化学誘引因子／成長制御がん遺伝子
KIM-1	Kidney injury molecule-1	―
LUC	Large unstained cell	大型非染色細胞
mAb	Monoclonal antibody	モノクローナル抗体
mc	Maleimidocaproyl	マレイミドカプロイル
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1	単球走化性蛋白質-1
M:E ratio	Myeloid:Erythroid ratio	M:E 比 （顆粒球系と赤芽球系細胞の比率）
MEC	Minimum effective concentration	最小有効濃度
MM	Multiple myeloma	多発性骨髄腫
MMAE	Monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン-E
MMAF	Monomethyl auristatin F	モノメチルアウリスタチン-F
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
NAG	N-acetyl-β-D-glucosaminidase	N アセチル-β-D グルコサミニダーゼ
NCE	Normochromatic erythrocytes	正染性赤血球
NF-κB	Nuclear factor-kappaB	核内因子 κB
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済開発協力機構
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
PKC	Protein kinase C	プロテインキナーゼ C
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
RBC(s)	Red blood cell(s)	赤血球
RPA-1	Renal papillary antigen-1	腎乳頭抗原 1
RPTEC	Renal proximal tubule epithelial cells	ヒト腎臓近位尿細管上皮細胞
SD	Sprague Dawley	―
TNF-α	Tumour necrosis factor alpha	腫瘍壊死因子 α
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティック
WBC	White blood cell	白血球

2.6.6. 毒性試験の概要文

2.6.6.1. まとめ

ベランタマブ　マホドチン（遺伝子組換え）（化合物番号：GSK2857916、以下、ベランタマブ　マホドチン）は、B 細胞成熟抗原（BCMA）に特異的に結合するヒト化 IgG1 抗体に微小管阻害剤であるモノメチルアウリスタチン F（MMAF）を結合させた薬物複合体（ADC）である。ベランタマブ　マホドチンは、低フコース化した抗 BCMA 親抗体（GSK2857914、ベランタマブ）を部分的に還元し、鎖間システイン残基に MMAF をプロテアーゼ耐性マレイミドカプロイル（mc）リンカーで結合させている。細胞内で抗体部分が蛋白質分解を受けて活性型細胞傷害性薬物（cys-mcMMAF）が放出されると、微小管が崩壊することにより細胞周期停止及びアポトーシスが誘導され、細胞が殺傷される[Doronina, 2006]。ベランタマブ　マホドチンの平均薬物抗体比（DAR）は約 4 である［3.2.S.1.3（原薬）］。

ベランタマブ　マホドチンは再発又は難治性の多発性骨髄腫の治療を目的とした薬剤である。毒性試験は、ICH S9 ガイドライン及び ICH S9 ガイドライン質疑応答集[ICH, 2016]に従い、ICH S6(R1)ガイドライン及び ADC 治療薬の特性を考慮して計画・実施した。すなわち、低分子医薬品で通常実施する試験のうち、ベランタマブ　マホドチンの開発に適していると考えられる試験を実施した。

ベランタマブ　マホドチンのヒトへの静脈内投与をサポートするため、一連の毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンの Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた静脈内投与による単回投与毒性試験及び最長 13 週間の反復投与毒性試験を実施した。これらの試験では、最長 12 週間の休薬期間を設け回復性を評価した。また、免疫原性についても評価した。更に、ベランタマブ　マホドチンの特性を明らかにするために、GSK2857914 のカニクイザルを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験並びに線形異性体である cys-mcMMAF（SGD-1362）の SD ラット及びカニクイザルを用いた 5 日間反復投与毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンのヒト組織結合能を評価するための ex vivo 組織交差反応性試験、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた in vitro のサイトカイン放出試験、眼毒性の発現機序を検討するための探索的 in vitro 及び in vivo 試験、並びにベランタマブ　マホドチン（in vitro 小核試験）及び cys-mcMMAF の遺伝毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンの局所刺激性並びに適応免疫応答（免疫フェノタイピング）及び雌雄受胎能（組織学的評価のみ）に対する影響については、Wistar Han ラット及びカニクイザルの単回及び反復投与毒性試験成績を基に評価した。ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性については、非臨床及び臨床データ並びに予想される薬理作用に基づき評価した。

ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 の心血管系及び／又は呼吸系に対する影響については、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用した反復投与毒性試験で評価した。詳細については 2.6.2.4 に示す。

市販予定用の原薬／製剤と非臨床試験用ロットの原薬／製剤間の同等性及び不純物に関する考察を 2.6.6.8 に示す。ベランタマブ　マホドチンの合成経路［活性型細胞傷害性薬物である mcMMAF（SGD-1269）を含む］については 2.6.6.4.3 で考察する。

ベランタマブ　マホドチンの開発をサポートするために実施した主要毒性試験の一覧を表 2.6.6.1 に示す。

表 2.6.6.1　ベランタマブ　マホドチンの主要毒性試験一覧

Study Type and Duration	Route of Administration	Species	Compound Administered
Repeat Dose Toxicity 3 weeks plus 12 week off-dose	IV	Rat and Monkey	Belantamab mafodotin
13 weeks plus 12 week off-dose	IV	Rat and Monkey	Belantamab mafodotin
Genotoxicity	In vitro	Human	Belantamab mafodotin[a]
Other Cytokine release assessment	In vitro	Human PBMCs; and NCI-H929 cell line	GSK2857914
Definitive Tissue Cross-Reactivity	Ex vivo	Monkey, Human Human	Belantamab mafodotin

Key:
a = This screening study was not conducted to GLP however it is included as it provides supportive evidence for the potential genotoxic risk of belantamab mafodotin.
GSK2857914 = Unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).
IV = Intravenous; PBMCs = Peripheral blood mononuclear cells.

ベランタマブ　マホドチンの非臨床試験の大半は、市販用製剤（2.6.6 及び 2.6.7 並びに最終報告書では ADC と表記）を用いて実施した。本項では、GSK2857916 をベランタマブ　マホドチンと表記した（試験標題を除く）。試験で使用した種々の抗 BCMA 抗体、ADC 及び関連するその他の被験物質の詳細は 2.6.2 の表 2.6.2.1 に示した。更に、ベランタマブ　マホドチンの非臨床プロファイルを明確にするため、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 を毒性評価に使用した。本項における用量及び濃度は、ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 又は GSK2857914 として表示した。

ベランタマブ　マホドチンの非臨床試験において、被験物質並びに in vitro 及び in vivo 試験で測定した分析対象物の表記は統一されていないため、最終報告書及び本項における被験物質及び分析対象物に関する表記の一覧を Appendix 2 に示した。

GSK2857914 については、国際一般名（INN）である belantamab とは表記せず、読みやすさ及び明確化のため、本項では GSK2857914 と表記した。

ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 の毒性試験で使用した被験物質のロット番号及び媒体に関する情報を、表 2.6.6.3、表 2.6.6.5、表 2.6.6.7 及び表 2.6.6.9 に示す。毒性試験で使用したベランタマブ　マホドチン原薬のすべてのロットの規格は、臨床試験で使用したロット並びに市販予定用原薬及び製剤ロットの規格を代表するものであった。開発期間を通じて実生産に向けて製造工程の頑健性及び拡張性を改善するために

製造工程の変更が行われた。包括的な評価により、実生産工程と変更前工程との同等性が確認されている（3.2）。

毒性試験における投与経路は、予定臨床投与経路である静脈内とした。試験で使用する動物種は、ラット、ウサギ及びサルとした。ベランタマブ　マホドチンはサル BCMA に結合し、サルとヒトの BCMA に対する親和性の差は 2 倍以内であり、親和性はサル［0.692 nM（0.105 μg/mL）］の方がヒト［1.098 nM（0.167 μg/mL）］より高い（2.6.2.2.1）。カニクイザルを用いた単回投与薬理試験において、ベランタマブ　マホドチン投与により BCMA 発現形質細胞の減少及び免疫グロブリン量の低下が認められた（2.6.2.2.5）。このため、ベランタマブ　マホドチンの毒性評価では、薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。ベランタマブ　マホドチンはラットの BCMA には結合せず、ウサギの BCMA に結合する可能性は低い。しかし、アウリスタチン ADC の用量制限毒性はアウリスタチン単独での用量制限毒性と概ね類似しており、抗原結合に依存しないことから[Donaghy, 2016]、ラットを用いた毒性評価、並びにウサギを用いた眼毒性の評価を実施した。試験に使用した動物種及び系統に関しては、病理所見の背景データが豊富に存在しており、また、所見の評価及びヒトへの外挿性の検討に重要な種々の薬剤に対する反応も確認することが可能である。

主要な試験はすべて、経済協力開発機構（OECD）加盟国において OECD 試験ガイドラインに従い GLP 規制を完全に遵守して実施した。用量設定試験は GLP 規制の一般原則に従って実施した。本申請時に最終報告書を添付しなかった試験の一覧を Appendix 1 に示した。

毒性試験で得られた重要な所見の概要を以下に示す。各試験の試験デザイン及び主要所見の詳細を 2.6.6.2～2.6.6.8 及び 2.6.7-Table 5.1～17.10 に示し、すべての毒性データの詳細については 2.6.6.9 に示す。

単回投与毒性試験

- ベランタマブ　マホドチンのラット単回静脈内投与毒性試験では、100 mg/kg 群において試験 9～10 日に一般状態の悪化が認められた。
- ベランタマブ　マホドチンのサル単回静脈内投与毒性試験では、最高用量である 30 mg/kg 群において尿蛋白及び尿中逸脱酵素の増加を伴う糸球体腎炎及び尿細管変性／再生性変化が認められた。病理組織学的検査では複数の器官で出血もみられた。また、軽度のプロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長並びに赤血球量及び血小板数の低値が認められた。

反復投与毒性試験

- サルに 10 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンを反復投与したところ、5 回投与後に雄 1 例で忍容性がみられなかったため、安楽死させた。同群の残りの動物についても早期安楽死させた。これらの安楽死に至る原因として、抗薬物抗体（ADA）に基づく免疫複合体形成が関与している可能性が考えられた。
- ベランタマブ　マホドチンのラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、主な悪影響として、体重／体重増加量低値、腎臓の尿細管変性／再生性変化及び糸球体症並びにこれらに関連する蛋白尿及び尿中逸脱酵素の高値（ラットの試験並びにサルの単回投与

及び 13 週間反復投与毒性試験では用量制限毒性）、複数の器官におけるマクロファージ増加及びそれに関連する炎症性の臨床病理パラメータの変化並びに精細管の変性及び萎縮が認められた。サルでは肝酵素パラメータの高値を伴う肝細胞壊死もみられた。ラットでは、造血系に対する毒性及び適応性変化を伴う骨髄細胞密度低下並びに肺胞腔内好酸性物質（1 例では本所見に関連した好中球性肺胞炎症及び II 型肺胞上皮細胞肥大／過形成）も認められた。ラット及びウサギにおいて、両側性の角膜上皮単細胞壊死を伴った角膜上皮細胞の有糸分裂像増加もみられたが、悪影響ではないと考えられた。

- ラット及びサルで認められた変化のほとんどは、精巣（下垂体の二次的な影響を含む）及び肺で観察された進行性の病理組織学的変化を除き、12 週間の休薬期間終了後に回復又は回復傾向を示した。休薬期間終了後に認められた 10 mg/kg/週群のサル 1 例の血管炎／血管周囲炎は、早期安楽死させた雄でみられた血管の変化（血管フィブリノイド壊死、免疫複合体形成に関連）と比較してその程度は明らかに軽減しており、軽微な慢性炎症像を呈していたことから、休薬による回復性を示す所見と考えられた。

遺伝毒性試験及びがん原性試験

- ベランタマブ　マホドチンは、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験において遺伝毒性を示した。
- Cys-mcMMAF は、細菌を用いる復帰突然変異試験で変異原性を示さず、マウスリンフォーマ TK 試験で遺伝毒性を示さなかった。Cys-mcMMAF はラットを用いる骨髄小核試験で遺伝毒性を示さなかったが、モノメチルアウリスタチン E（MMAE）は遺伝毒性を示すことから、この結果は MMAF の低い細胞透過性を反映したものと考えられる。
- ベランタマブ　マホドチンの主な作用機序は cys-mcMMAF を介した微小管の崩壊であり、特に骨髄における分裂の速い細胞を標的とすることから、哺乳類系では異数性（遺伝毒性）を誘発するリスクがある。
- ICH S9 ガイドラインに従い、がん原性試験は実施していない。

生殖発生毒性試験

- ICH S9 ガイドラインに従い、生殖発生毒性試験は実施していない。
- ラットの反復投与毒性試験成績を基に評価した結果、ベランタマブ　マホドチンは雌雄生殖能及び受胎能に悪影響を及ぼす可能性が考えられた。

局所刺激性試験

- ラット 3 週間反復投与毒性試験並びにラット及びサルの単回投与毒性試験において、局所刺激性を示す投与部位の変化及び炎症反応が、3 mg/kg/週以上の用量（投与液濃度は 0.3 mg/mL 以上；3 週間反復及び単回投与試験で使用したロット番号はそれぞれ [redacted] 及び [redacted]）の投与後に認められた。ラットはサルより感受性が高かった。
- ベランタマブ　マホドチンの溶液用粉末（ロット番号 [redacted]）を溶解し、サルに最大 10 mg/kg/週（投与検体の濃度は最大 2.5 mg/mL）で週 1 回を計 13 回投与、及びラッ

トに最大 30 mg/kg/回（投与検体の濃度は最大 3 mg/mL）を 3 週間間隔で 4 回投与した結果、投与部位に投与に関連する変化は認められなかった。

その他の毒性試験

組織交差反応性

- ベランタマブ　マホドチンの抗原特異的染色が、ヒト脾臓（BCMA を発現する分化段階後期の B 細胞を有する）で認められた。
- 特異的な染色は、概して個々の細胞又細胞群、血管壁／血管周囲組織及び結合組織に認められた。特異的染色のほとんどは細胞質に認められたが、細胞膜が染色されている可能性を完全に否定することはできない。組織結合自体は in vivo での生物活性を示すものではなく、in vivo で抗体が通常到達しない領域（すなわち細胞質）への結合は概して重要ではない。ヒトの眼に対するベランタマブの結合は認められなかった。

サイトカイン放出

- ヒト PBMC を NCI-H929 細胞と共培養して GSK2857914 を処理した結果、インターフェロン γ（IFN-γ）、腫瘍壊死因子 α（TNF-α）及び IL-8 の誘導が濃度依存的にみられた。IFN-γ 及び TNF-α は主に NK 細胞で産生され、IL-8 は単球で産生された。これらのデータから、in vitro での顕著なサイトカイン放出には標的及びエフェクター細胞の存在がいずれも必要であること、また本試験の条件下において、サイトカインはエフェクター細胞から放出されることが示された。
- GSK2857914 単独では認められなかったが、GSK2857914 を抗ヒト IgG 抗体と架橋結合させたところ、NCI-H929 細胞において核内因子 κB（NF-κB）の活性化を指標とする BCMA シグナルの伝達が認められたことから、GSK2857914 は BMCA 陽性細胞に対してアゴニスト作用を有する可能性が示唆された。
- ベランタマブ　マホドチンの単回及び反復投与毒性試験において、サイトカイン［単球走化性蛋白質（MCP）-1、インターロイキン-1β（IL-1β）、IL-6、TNF-α 及び／又はケラチノサイト化学誘因物質／増殖制御がん遺伝子（KC/GRO）］の高値がみられたが、概して関連する体温変化及び一般状態の悪化は認められなかった。サル 13 週間反復投与毒性試験では、投薬に関連した MCP-1 高値に伴い補体フラグメント Bb 及び C3a の高値がみられたが、これらは免疫複合体の存在下で進行中の全身性炎症過程を反映したものと考えられた。

免疫原性

- ラット及びサルの 13 週間反復投与毒性試験において、ADA の有無を評価した。短期反復投与後に、ほとんどのサル及び数例のラットにおいて投薬に関連する免疫原性が認められたが、曝露量及び薬力学的活性に対する影響はほとんどみられなかった。しかし、サルに 10 mg/kg/週を反復投与したところ、病理組織学的検査及び免疫組織化学（IHC）検査において瀕死状態に至る免疫複合体症を示唆する変化が認められた。本所見は ADA と関連する可能性が認められた。

免疫毒性

- 薬理活性、非臨床毒性及び臨床試験データを評価した結果、免疫毒性を示唆する所見として免疫複合体形成による及び／又はベランタマブ　マホドチンの細胞毒性に伴う全身性炎症［数種類の器官における活性化マクロファージ増加、C 反応性蛋白（CRP）、MCP-1、白血球数及び補体の高値、アルブミン、赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットの低値並びに血液塗抹標本の形態学的変化］がみられ、ベランタマブ　マホドチンの薬理作用に一致する NK 細胞及び血清免疫グロブリンの減少も認められた。
- 以上より、ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性は十分に評価されており、患者に対する潜在的なベネフィットを考慮すると、モニタリングを実施することにより、上記のリスクは容認可能と考えられる。

毒性発現機序に関する検討

- ベランタマブ　マホドチンは、細胞膜上の BCMA 受容体発現とは関連のない機序により、全身の細胞内に取り込まれる可能性もある。EIPA の前処理／併用処理によりベランタマブ　マホドチンの取込み及び／又はベランタマブを介したアポトーシスの減少がみられたことから、in vitro でのヒト角膜上皮細胞（HCEC）及び腎近位尿細管上皮細胞（RPTEC）におけるこの非特異的取込みには、マクロピノサイトーシスが関与していることが示された。しかし、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みには複数のエンドサイトーシス経路が関与している可能性も示唆された。
- 蛍光標識ベランタマブ　マホドチンを HCEC 及び RPTEC とともにインキュベートしたところ、リソソーム内に蛍光標識抗体がみられ、また、異化作用による cys-mcMMAF の遊離が認められた（2.6.4）。
- ベランタマブ　マホドチンを介した細胞毒性は、MMAF を介した細胞死の機序と同様に、微小管阻害によるアポトーシスを介して発現した。
- In vitro において、HCEC は、RPTEC と比較して、ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF のアポトーシス作用に対して概ね高い感受性を示した。
- HCEC を過剰なヒト免疫グロブリンにより前処理／併用処理したところ、濃度依存的に HCEC におけるベランタマブ　マホドチンによる細胞毒性を改善した。

同等性及び不純物

- 非臨床試験では、点滴用溶液及び点滴溶液用粉末（市販予定製剤）の 2 種類の製剤を使用した。
- 非臨床試験用ロット、臨床試験用ロット並びに市販予定用の原薬及び製剤間で生物物理学的、生化学的及び機能的完全性の同等性が確認された。
- 単一の不純物含量及び不純物の総量はいずれも ICH Q3A の安全性確認の必要な閾値である 1.0 mg/日未満であること、また、対象となる患者集団や本剤の遺伝毒性を考慮すると、設定した不純物含量は市販用として許容可能なものと考えられる。

2.6.6.2. 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1. 緒言

単回投与毒性試験は、反復投与毒性試験をサポートするために、また、ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF の高用量投与時の影響を評価するために実施した。GSK2857914 の単回投与毒性試験は実施しなかった。投与経路は予定臨床投与経路である静脈内とした。実施した単回投与毒性試験の一覧を表 2.6.6.2 に示す。また、これらの試験成績を 2.6.6.2.2 及び 2.6.6.2.3 に示すとともに、各試験成績の概略を 2.6.7-Table 5.1～5.4 に示す。

本項に記載した試験は、ベランタマブ　マホドチン又は線形異性体の cys-mcMMAF を用いて実施した。これらの試験で使用したベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF のロット一覧及び媒体に関する情報を表 2.6.6.3 に示す。

ベランタマブ　マホドチンをリン酸緩衝生理食塩液（PBS、pH 7.4）で調製し、ラットには 5 mL/kg［0（媒体）、10 及び 30 mg/kg］又は 6 mL/kg（100 mg/kg）、サルには 1.86 mL/kg［0（媒体）及び 30 mg/kg］、0.62 mL/kg（10 mg/kg）又は 0.186 mL/kg（3 mg/kg）の投与容量で静脈内ボーラス投与した。

Cys-mcMMAF は PBS（pH 7.2）を用いて調製し、ラットには 5 mL/kg、サルには 2 mL/kg の投与容量で静脈内ボーラス投与した。

表 2.6.6.2 単回投与毒性試験の一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Dose range finding[c]	Rat (Wistar Han)	4M/4F[a] (3M/3F[TK])	IV (bolus)	ADC	10, 30, 100	Single	No	GSK	2012N134122 (R29778)	m4.2.3.1
Dose range finding[c]	Monkey (cynomolgus)	1M/1F[b]	IV (bolus)	ADC	3, 10, 30	Single	No	GSK	2012N133495 (D11146)	m4.2.3.1
Dose range finding[c]	Rat (Sprague Dawley)	3F (3F[R])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	2.5, 10, 17.5, 25	Single	No	[redacted]	2013N177526 (R-TOX-44)	m4.2.3.1
Dose range finding	Monkey (cynomolgus)	1M/1F	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 3, 6,10	Single	Yes	[redacted]	2013N177529 (1019-008)	m4.2.3.1

Key:
a = Additional 4 animals/sex/group included in control, 30 and 100 mg/kg dose groups for evaluation after off-treatment period
b = Additional 1 animal/sex/group included in control, 3 and 30 mg/kg dose groups for evaluation after off-treatment period.
c = Assessment of local tolerance conducted as part of this study.
IV = Intravenous.
R = Additional animals/group for evaluation after off-treatment period.
TK = Additional rats/sex/group for toxicokinetic investigations only.

ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].

Testing Facility:
GSK = GSK plc, formerly GlaxoSmithKline.
[redacted] = [redacted] (on [redacted] was renamed as [redacted] was acquired by [redacted] in [redacted].

2.6.6.2.2. ベランタマブ マホドチン

2.6.6.2.2.1. ラット

2.6.6.2.2.1.1. 静脈内投与

各群雌雄各 4 匹の Wistar Han ラットに、0（媒体）、10、30 及び 100 mg/kg のベランタマブ マホドチンを尾静脈に単回静脈内ボーラス投与し、試験 8 日に安楽死させた。また、0（媒体）、30 及び 100 mg/kg 群には各群雌雄各 4 匹を追加し、14 日間の休薬期間を設け、所見の回復性を検討した。これらの動物は、休薬 14 日後の試験 22 日に安楽死させた（GLP 非適用、2012N134122、4.2.3.1）。更に、10、30 及び 100 mg/kg 群に各群雌雄各 3 匹を追加し、トキシコキネティクス（TK）を評価した。TK 評価、免疫原性評価、一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査（腎臓の透過電子顕微鏡検査を含む）を実施した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 5.1 に示す。

早期安楽死させた雄の 100 mg/kg 群については、試験 11 日の臨床病理及び器官重量データを試験 22 日の対照群のデータと比較した。対照群並びに 10 及び 30 mg/kg 群については、誤りにより試験 8 日の骨髄検体を採取しなかった。そのため、100 mg/kg 群の試験 8 日のデータは試験 22 日の対照群データと比較した。また、100 mg/kg 群の雄では、試験 11 日の尿検体を採取しなかった。

TK 評価には、投与後 504 時間までの間に採取した血漿検体を用いた。血漿検体は、TK 評価群に加えて、主試験群（投与前及び投与後 168 時間）、休薬群［投与前並びに投与後 168 時間（100 mg/kg のみ）及び 504 時間］からも採取した。ベランタマブ マホドチン（ADC 及び総 mAb）の全身曝露量（Cmax 及び AUC0-t）は、用量に比例して増加し、明らかな性差は認められなかった。これらのデータについては 2.6.4.3.2.1 で考察する。

免疫原性の評価では、試験 1 日の投与開始前並びに試験 8 及び 22 日に血清検体を採取し、ブリッジング電気化学発光免疫測定法（ECLIA）により ADA を測定した。その結果、ADA 陽性の可能性があるラットの発現頻度に明らかな用量反応性が認められた。スクリーニングアッセイにおいて、30 mg/kg 群の 1 例（休薬期間中の試験 22 日）及び 100 mg/kg 群の 7 例（試験 8 日、又は休薬期間中の試験 11 日若しくは 22 日）で陽性と判定された。シグナル強度［範囲：94～110 増強化学発光（ECL）カウント］はカットポイント（93ECL カウント）に極めて近く、これらのシグナルはいずれも抗体価測定において再現性を示さなかったが、投薬群における陽性率は対照群及び試験開始前と比較して高かったことから、少なくともこれらの一部のラットでは ADA 陽性であったことが示唆される。

畜尿（約 16 時間）試料を、主試験群では試験 8 日に、休薬群では試験 8 及び 22 日に採取した。試験 8 日の尿中 cys-mcMMAF 総量は用量に伴って増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.2 で考察する。

全投薬群において、肺（好酸性物質凝集を伴う肺胞マクロファージの顕著な増加）、心臓（心房心外膜の炎症細胞浸潤）、脾臓（リンパ球溶解、髄外造血）及び投与部位（炎症細胞浸潤／炎症）に組織学的変化が認められた。また、体重、血液生化学的検査及び尿検査パラメータの変化も認められた。

100 mg/kg 群では、休薬群の雄 2 例で一般状態の悪化がみられたため、試験 9 及び 10 日に安楽死させ、この用量の残りの雄全例を試験 11 日に安楽死させた。100 mg/kg 群のみで観察されたその他の変化として、組織学的変化が腎臓（尿細管変性／再生、糸球体症、足細胞の細胞質内における球状封入体、足突起の消失を伴う足細胞肥大）、卵巣（卵母細胞の滞留）、脾臓（線維化、うっ血）、下顎及び腸間膜リンパ節（髄質における細胞密度の増加、炎症細胞浸潤）、腕神経／坐骨神経（炎症細胞浸潤）、肝臓（クッパー細胞変性／再生性変化）、脂肪組織（炎症、空胞形成減少）、皮膚（限局性壊死に関連した創傷／痂皮、潰瘍形成及び再生性表皮過形成）及び投与部位（表皮過形成）に認められた。また、脾臓、褐色脂肪組織及び胸腺に肉眼的変化がみられた。また、中等度の関節症に起因する後肢の腫脹も認められた。

30 mg/kg 以上の群では、組織学的変化が肝臓（細胞密度の増加）、精巣（精細管変性、萎縮）、卵巣（卵胞及び黄体変性）、胸骨／骨髄（細胞密度の変化、線維化）、眼（両側性角膜単細胞壊死）、胸腺（細胞密度低下）、精巣上体（無精子）及び投与部位（出血、変性／壊死）に認められた。また、肝重量高値（対照群と比較して絶対重量では最大 1.36 倍、相対重量では最大 1.19 倍）、精巣及び精巣上体の肉眼的変化、摂餌量及び血液学的パラメータの変化並びに痂皮を含む一般状態の変化が認められた。

30 mg/kg 群のみに、腎臓（尿細管上皮の好塩基性変化）、脾臓（色素沈着マクロファージ）及び肺（混合性血管周囲炎）に組織学的変化が認められた。

概して、投与期間終了時及び休薬期間終了時のいずれにおいても組織学的変化がみられたが、精巣上体及び副腎の組織学的変化は休薬群のみに認められた。

30 mg/kg/週群の休薬群の雌でみられた骨髄の脂肪細胞増加及び 10 mg/kg/週群の雄 1 例で試験 8 日に認められた精巣の精子細胞滞留については、ベランタマブ　マホドチンとの関連性は不明であった。

2.6.6.2.2.2. サル

2.6.6.2.2.2.1. 静脈内投与

各群雌雄各 1 匹のカニクイザルに 0（媒体）、3、10 又は 30 mg/kg のベランタマブ　マホドチンを単回静脈内ボーラス投与し、試験 8 日に安楽死させた。また、0（媒体）、3 及び 30 mg/kg 群に各群雌雄各 1 匹を追加し、14 日間の休薬期間を設けて標的器官毒性の回復性を検討した。14 日間の休薬期間終了後、試験 22 日に安楽死させた。なお、記載したパラメータの変動については投与前値との比較結果を示した（GLP 非適用、2012N133495、4.2.3.1）。

TK 評価、免疫原性評価、一般状態観察（定性的な摂餌量評価を含む）、体重・体温測定、血液学的検査、血液生化学的検査（CRP 及び骨格筋トロポニン I を含む）、尿検査［N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ（NAG）及び腎障害分子-1（KIM-1）を含む］、血液凝固検査、サイトカイン分析、フローサイトメトリー解析（血液、脾臓及び骨髄）、剖検及び病理組織学的検査（腎臓の透過電子顕微鏡検査を含む）を実施した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 5.2 に示す。

TK 評価は、試験 1、7、14 及び 21 日の投与後、それぞれ 96、144、312 及び 480 時間まで採取した血漿検体を用いて実施した。ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF の全身曝露量（AUC0-144 及び Cmax 値）に明らかな雌雄差（2 倍超）は認められなかった。概して、雌雄平均全身曝露量は用量増加に伴い増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.2.2 で考察する。

免疫原性を評価するために、投与開始前並びに試験 7 及び 21 日に採取した血清検体について、ブリッジング ECLIA により ADA を測定した。その結果、投薬群で ADA は検出されなかった。

ごく軽度の体重減少が全投薬群で認められ、ほとんどのサルでは休薬期間中に体重の高値がみられた。一般状態観察では、食欲減退及び異常便（3 mg/kg 以上の群）、嘔吐（30 mg/kg 群）並びに投与部位又は投与部位以外の皮膚で退色（3 及び 30 mg/kg 群）がみられた。ほとんどの皮膚退色が、投与期間終了時及び休薬期間終了時に病理組織学的に認められた出血及び／又はメラニン色素沈着の増加に関連した変化であった。

投与期間終了時及び休薬期間終了時の病理組織学的検査では、30 mg/kg 群の腎臓に糸球体や尿細管内の顆粒又は円柱形成、尿細管変性／再生性変化、集合管の肥大と上皮下の炎症を伴う単細胞壊死、出血、並びに近位尿細管における壊死を伴う変性／再生性変化が認められた。糸球体にみられた好酸性顆粒は、足細胞及び壁側上皮細胞に局在するライソゾームと判断された。尿中 NAG の高値が、30 mg/kg 群（最大 107 倍）で試験 7 日に、3 mg/kg 群の 1 例（17 倍）で試験 21 日に認められた。この 3 mg/kg 群の 1 例では、関連する尿中 KIM-1 の高値は認められなかった。30 mg/kg 群では、尿中総蛋白及びアルブミンの高値（雄では最大 5235 倍、雌では最大 51 倍）も試験 7 日にみられ、雄では試験 21 日にも認められた（229 倍）が、雌では投与前値に近い値（アルブミン 2.2 倍）又は同程度（総蛋白質）であった。

30 mg/kg 群では、心臓、皮膚及び胃に病理組織学的に出血がみられ、関連した変化として軽度のプロトロンビン時間（PT）及び APTT の延長並びに赤血球量（最大 0.8 倍）及び血小板数の低値が認められた。投与期間終了時及び休薬期間終了時のその他の病理組織学的所見として、脾臓（10 mg/kg 以上の群：色素沈着マクロファージ、辺縁帯・動脈周囲リンパ鞘・赤脾髄細胞の有糸分裂像増加、赤脾髄の細網細胞及び内皮細胞の顕著な増加；30 mg/kg 群：髄外造血）、肝臓（30 mg/kg 群：肝細胞の有糸分裂像増加及び類洞細胞肥大）、骨髄（30 mg/kg 群：造血細胞減少；3 mg/kg 以上の群：色素沈着マクロファージ増加）、リンパ節（3 mg/kg 以上の群：鼠径、下顎及び腸間膜リンパ節における髄質の有糸分裂像増加）及び胸腺（10 mg/kg 以上の群：細胞密度低下；30 mg/kg 群：壊死）に影響が認められた。30 mg/kg 群では、単球数及び CRP の高値（それぞれ最大 7.4 及び 52 倍）並びに血清総蛋白質及びアルブミンの低値（最大 0.52 倍）が認められた。

3 mg/kg 以上の群では、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST、最大 20 倍）、総ビリルビン（最大 4.4 倍）及び骨格筋トロポニン I（最大 17 倍）の高値が認められた。10 mg/kg 以上の群ではグルタミン酸脱水素酵素（GLDH、最大 13 倍）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT、最大 5.6 倍）の高値が、30 mg/kg 群ではアルカリホスファターゼ（ALP、最大 2.2 倍）及びコレステロール（最大 1.71 倍）の高値が認められた。臨床検査パラメータのほとんどは、休薬期間中に投与前値と同程度又は近い値を示した。また、

3 mg/kg 以上の群では、末梢血中 CD20 陽性 B 細胞の比率及び絶対数の軽度低値がみられたが、休薬期間中に回復性が認められた。

2.6.6.2.3. Cys-mcMMAF

2.6.6.2.3.1. ラット

2.6.6.2.3.1.1. 静脈内投与

各群 6 匹の雌 Sprague-Dawley（SD）ラットに 0（媒体）、2.5、10、17.5 及び 25 mg/kg の cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与し、試験 3 日（各群 3 匹）又は休薬後の試験 14 日（各群 3 匹）に安楽死させた（GLP 非適用、2013N177526、4.2.3.1）。TK 評価、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験成績の概略を 2.6.7.5.3 に示す。

TK 評価用の血液検体については投与後 6 時間まで採取した。検体測定の結果、cys-mcMMAF が検出され、平均薬物濃度の経時的推移から、2.5～25 mg/kg の範囲で曝露量は増加することが示唆された。これらのデータについては 2.6.4.3.2.1 で考察する。

本試験で認められた変化は 17.5 mg/kg 以上の群でみられた軽度～中等度の網状赤血球数低値のみであり、投与後 3 日間に顕著にみられ、投与 14 日後までに回復した。本変化は単発的であり、悪影響ではないと考えられた。死亡はみられず、一般状態観察、体重測定、血液生化学的検査及び病理組織学的検査において影響は認められなかった。

雌 SD ラットに最大 25 mg/kg の cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与したところ、忍容性は良好であった。重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）及び最大耐量（MTD）は、検討した最高用量である 25 mg/kg と推定された。無影響量は、変化が認められなかった 10 mg/kg と推定された。

2.6.6.2.3.2. サル

2.6.6.2.3.2.1. 静脈内投与

各群雌雄各 1 匹のカニクイザルに 1、3、6 及び 10 mg/kg の cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与し、単回投与試験を実施した。全例について投与後 2 週間の観察期間を設けた（GLP 適用、2013N177529、4.2.3.1）。TK 評価、一般状態観察（死亡の有無、定性的な摂餌量評価を含む）、体重測定、血液学的検査、血液凝固検査及び血液生化学的検査を実施した。試験終了時、動物をストックコロニーに戻した。試験成績の概略を 2.6.7.5.4 に示す。

TK 評価用の血液検体を、投与前及び投与後 48 時間まで採取した。Cys-mcMMAF の TK 評価では、雌雄の TK パラメータに顕著な一貫した性差はみられなかった。これらのデータについては 2.6.4.3.2.2 で考察する。

全投薬群において、体重、摂餌量（定性的）及び血液凝固系パラメータに明らかな変化は認められなかった。投与に関連する一般状態変化として、全例で投与部位及び後肢の変色がみられたが、本変化は投与（静脈内）によるものであり、cys-mcMMAF に直接起因した変化ではないと考えられた。軽度～中等度の赤血球量（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の低値がみられたが、採血処置に関連する失血として許容される範囲であり、cys-

mcMMAF による直接的な影響ではないと考えられた。また、赤血球量の変化は一貫した用量反応を示さず、関連する網状赤血球数の低値は認められず、多くの動物では試験 15 日までに投与前値と同程度まで回復した。6 mg/kg 以上の群の雌雄では、軽微かつ一過性の AST 及び／又は総ビリルビンの高値が認められた。これらの変化は被験物質に関連する可能性があるが、軽微かつ一過性の変化であったことから、生物学的意義はなく悪影響ではないと考えられた。軽度から中等度のクレアチンキナーゼの高値も散見されたが、一貫性のある変動はみられず、処置（取扱い）に関連した変化と考えられた。

雌雄カニクイザルに最大 10 mg/kg の cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与した結果、忍容性は良好であった。HNSTD 及び無毒性量は、最高用量である 10 mg/kg と推定された。6 及び 10 mg/kg 群で軽微かつ一過性の AST 及び／又は総ビリルビン高値がみられたことから、無影響量は 3 mg/kg と推定された。

表 2.6.6.3 単回投与毒性試験に用いた被験物質のロット一覧

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (Strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Single dose	Rat (Wistar Han)	ADC	Single	2012N134122 (R29778)	2, 6 and 16.1 mg/mL	PBS
[redacted]	Single dose	Monkey (cynomolgus)	ADC	Single	2012N133495 (D11146)	16.1[a]	PBS
[redacted]	Single dose	Rat (SD)	cys-mcMMAF	Single	2013N177526 (R-TOX-44)	0.5, 2, 3.5 and 5	PBS
[redacted]	Single dose	Monkey (cynomolgus)	cys-mcMMAF	Single	2013N177529 (1019-008)	0.5, 1.5, 3 and 5	PBS

Note:
The material used for nonclinical and clinical batches are representative of each other.
Key:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].
PBS = Phosphate buffered saline; SD = Sprague Dawley
a = Administered as stock solution at the following dose volumes 1.86, 0.62 and 0.186 mg/mL to achieve the different dose levels.

2.6.6.3. 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1. 緒言

ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 の反復投与による影響を評価するために、Wistar Han 及び SD ラット並びにカニクイザルを用いて反復投与毒性試験を実施した。必要に応じて、主要な試験を実施する前に反復投与可能な 1 日最大用量を確認するための予備試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンでの治療時における長期使用をサポートするため、ラット及びカニクイザルを用いた最長 13 週間の反復静脈内投与試験を実施した。意義のあるデータ評価を可能にするため、各試験では十分な例数の動物を使用し、適切な曝露量で実施した。

本項に示す試験は、ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 又は GSK2857914 を用いて実施した。これらの試験で使用したベランタマブ　マホドチン原薬の全ロットの規格は、ベランタマブ　マホドチンの臨床試験で使用したロット並びに市販予定用原薬及び製剤ロットの規格を代表するものであった。

これらの試験で使用したベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 のロット一覧及び媒体に関する情報を表 2.6.6.5 に示す。実施した反復投与毒性試験の一覧を GLP 適用状況及び本申請資料中におけるモジュール番号とともに表 2.6.6.4 に示す。各試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.1～7.8 に示す。ベランタマブ　マホドチンの反復投与時にみられた主要な毒性所見の影響量／無影響量の要約を表 2.6.6.11 に示す。ベランタマブ　マホドチンの静脈内投与時における全身曝露量の比較を表 2.6.6.12（ベランタマブ　マホドチン ADC 及び総 mAb）及び表 2.6.6.13（cys-mcMMAF）に示す。

毒性試験で得られた反復投与時の TK データを 2.6.7-Table 3 に示し、考察については 2.6.4 で詳述する。

表 2.6.6.4 反復投与毒性試験の一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
3 Weeks[d,f]	Rat (Wistar Han)	10M/10F[a] (6M/6F[TK])	IV (infusion)	ADC	**3**, 10, 30	3 Weeks[c] (once weekly)	Yes	GSK	2013N174857 (R30467G)	m4.2.3.2
13 Weeks[f]	Rat (Wistar Han)	12M/12F[h] (6M/6F[TK])	IV (infusion)	ADC	3, 10, 30[j]	13 Weeks[c] (once every 3 weeks)	Yes	[redacted]	2018N374327 (R32025G)	m4.2.3.2
3 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F[b]	IV (bolus)	ADC	**1**, 3, 10	3 Weeks[c] (once weekly)	Yes	GSK	2013N158643 (P70260G)	m4.2.3.2
13 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F[R1])	IV (bolus)	ADC	**1**, 3, 10	13 Weeks[c] (once weekly)	Yes	[redacted]	2018N375127 (P71346G)	m4.2.3.2
5 Days[f]	Rat (Sprague Dawley)	10M/10F (5M/5F[R]) (Up to 12M/12F[TK])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 5, **10** mg/kg/day	5 Days	Yes	[redacted]	2013N177527 (1019-010)	m4.2.3.2
5 Days[f,g]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F[R])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	0.5, 2, **5** mg/kg/day	5 Days	Yes	[redacted]	2013N177530 (1019-009)	m4.2.3.2

表 2.6.6.4 反復投与毒性試験の一覧（続き）

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
4 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F	IV (bolus)	MAB	10, 30, 100	4 Weeks (once weekly)	Yes	GSK	2012N150466 (P70204G)	m4.2.3.2
13 Weeks[f,g]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F, 4M/4F[i] 3M/3F	SC IV (bolus)	MAB	2, 10 40	13 Weeks (once weekly)	Yes	[redacted]	2023N536587 (P73042G)	m4.2.3.2

Key:
Bold = Dose considered to be no observed adverse effect level.
a = Additional 12M/12F included on the control group and 6M/6F on the 3 and 30 mg/kg groups for off-dose investigations.
b = Additional 2M/2F included in control and 3 mg/kg groups for off-dose investigations.
c = Dosing was followed by a 12 week off-dose period.
d = Cardiovascular evaluation conducted as part of this study (cardiac troponin I only).
e = Cardiovascular evaluation conducted as part of this study [electrocardiogram (ECG)].
f = Assessment of local tolerance conducted as part of this study.
g = Cardiovascular and respiratory evaluation conducted as part of this study (ECG, blood pressure, respiratory rate and heart rate).
h = Additional 6M/6F included on the control group and on the 10 and 30 mg/kg/week groups for off-dose investigations.
i = A NOAEL was not established but it is less than 3 mg/kg/dose.
j = Dosing for SC 2 mg/kg/week group only.
IV = intravenous; R = Additional animals/sex/group for evaluation after off-treatment period.
R1 =Additional 2M/2F included on the control group and on the 3 and 10 mg/kg groups for off-dose investigations.
TK = Additional animals/sex/group for toxicokinetic investigations only.

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]
(On [redacted] the legal entity [redacted] was renamed as [redacted]. On [redacted] was renamed as [redacted]).
GSK = GSK plc, formerly GlaxoSmithKline.
[redacted] = [redacted]

2.6.6.3.2. ベランタマブ マホドチン

ベランタマブ マホドチンについて、Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験を実施した。3 及び 13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）では、ベランタマブ マホドチンを 0.05 mM エデト酸二ナトリウム二水和物（EDTA）、200 mM トレハロース及び 0.02%ポリソルベート 80（pH 6）添加 25 mM クエン酸緩衝液で調製し、ラットには 10 mL/kg（10 分間で注入）、サルには 4 mL/kg/回（緩やかなボーラス投与）の投与容量で静脈内投与した。投与頻度は、3 週間反復投与毒性試験では週 1 回、13 週間反復投与毒性試験についてはラットで 3 週に 1 回、サルでは週 1 回とした。

標準的な毒性評価に加えて、一部の試験では安全性薬理評価（心血管系のみ）及び免疫毒性評価を実施した。免疫原性については反復投与毒性試験で評価した。

2.6.6.3.2.1. ラット

2.6.6.3.2.1.1. 3 週間（週 1 回）反復静脈内投与毒性試験（休薬期間：12 週間）

各群雌雄各 10 匹の Wistar Han ラットに 0（媒体）、3、10 及び 30 mg/kg/週のベランタマブ マホドチンを 3 週間（試験 1、8 及び 15 日）、点滴静脈内投与した（GLP 適用、2013N174857、4.2.3.2）。また、対照群に雌雄各 12 匹、並びに 3 及び 30 mg/kg 群に各群雌雄各 6 匹を追加し、12 週間の休薬による回復性を評価した。更に、各群雌雄各 6 匹を追加し、TK を評価した。検査／評価項目は、TK 評価、一般状態観察、体重、摂餌量、体温、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、サイトカイン測定、器官重量、剖検及び病理組織学的検査（肺の透過電子顕微鏡検査を含む）とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.1 に示す。

試験 1～8 日及び試験 15～22 日、並びに休薬期間である試験 29～106 日に採取した血漿を用いて TK 評価を行った。ベランタマブ マホドチン（ADC 又は総 mAb）の全身曝露量に顕著な雌雄差は認められなかった。雌雄平均全身曝露量は、用量に比例して増加した。cys-mcMMAF については、3 mg/kg/週群の曝露量は定量下限値を下回っており、全身曝露量を推定することができなかった。10 及び 30 mg/kg/週群では全身曝露量に雌雄間で顕著な差はみられず、用量にほぼ比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.3.1 で考察する。

投与後の各試験日に畜尿を採取し、尿中 cys-mcMMAF 濃度を測定した。Cys-mcMMAF はラット尿中で定量可能であり、尿中に回収された平均総量は、ベランタマブ マホドチンの用量にほぼ比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.6.1.1 で考察する。

ADA 分析のために、投与前（試験-5～-3 日）及び試験 22 日並びに該当する場合は試験 106 日（休薬期間）に血液を採取したが、投与期間中の TK パラメータに変化がみられなかったため、これらの試料に対する分析は実施しなかった。休薬期間中、血漿中濃度の減少が試験 50 日より低頻度（4 例）に認められ、薬物の消失を加速させる ADA 産生による可能性が考えられた。

一般状態観察では、30 mg/kg/週群の雌 1 例が試験 8 日の投与前に保定管内で死亡した。しかし、対照群の 1 例が試験 1 日の投与終了時に保定管から出した直後に死亡したことから、この死亡については被験物質との関連性はないと考えられた。

体重増加量低値（対照群の 0.53 倍）及び摂餌量低値（対照群の 0.91 倍）が、30 mg/kg/週で投与期間中に認められた。休薬期間中に、30 mg/kg/週群の雌雄で体重増加量の高値（対照群の最大 1.21 倍）が休薬 22～39 日にみられ、減少（対照群の最小 0.82 倍）が休薬 39 日以降に認められた。また、雄では引き続き摂餌量低値（対照群の 0.94 倍）が認められた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時、腎臓、肺、精巣／精巣上体、胸骨／骨髄、大腿骨／大腿脛骨関節、下顎及び腸間膜リンパ節、脾臓、雄の乳腺、眼、胸腺並びに卵巣に変化が認められた。12 週間の休薬期間終了後、30 mg/kg/週群では肺及び精巣／精巣上体の変化がみられ、切歯にも変化が認められた。

腎臓では、30 mg/kg/週群において好塩基性変化を特徴とする両側尿細管変性及び単細胞壊死が、ときに硝子円柱形成を伴って認められた。これらの組織学的変化に関連して、30 mg/kg/週群で尿中アルブミン、総蛋白、NAG、αGST、リポカリン-2、KIM-1 及び RPA-1 の高値（それぞれ対照群の最大 384 倍、14 倍、1.33 倍、5.4 倍、58 倍、3.4 倍及び 2.4 倍）並びに血漿中尿素及びカルシウムの高値（それぞれ対照群の最大 1.22 倍及び 1.06 倍）が認められた。10 mg/kg/週群においても尿中リポカリン-2 の高値（対照群の最大 4.5 倍）がみられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。試験 106 日にみられた 30 mg/kg/週群（雄 6 匹中 2 例及び雌 6 匹中 4 例）の尿中アルブミン高値（対照群の最大 40 倍）を除き、組織学的変化及び尿検査パラメータの変化は、いずれも完全に回復した。

肺では、全投薬群の雄全例、3 mg/kg/週群の雌 4 例並びに 10 及び 30 mg/kg/週群の雌全例で肺胞腔内に好酸性物質が認められた。30 mg/kg/週群の電子顕微鏡検査の結果、この好酸性物質は肺胞腔内の管状ミエリン（肺サーファクタント）であると考えられた。この所見に伴い、顕著な肺胞マクロファージが認められた。休薬期間終了後、30 mg/kg/週群の 12 匹中 11 例で、肺胞壁の肥厚を伴う多巣性の肺胞マクロファージ集簇がしばしば胸膜下にみられ、一部の集簇巣では血管周囲の炎症性単核細胞浸潤が認められた。マクロファージは大型で豊富な泡沫状好酸性細胞質を伴っており、コレステロール裂を有する像も認められた。変化がみられた一部の動物では、一部の集簇巣内に好中球もまれに認められた。剖検では、30 mg/kg/週群の休薬動物のほとんどで、肺に多くの蒼白部位が観察された。

精巣に対する影響として、10 mg/kg/週以上の群の雄全例で精細管の変性及び／又は萎縮が認められた。これらの変化に関連した剖検所見として精巣の小型化／軟化がみられ、精巣重量低値（対照群の最小 0.50 倍）も認められた。精巣上体では、30 mg/kg/週群の雄全例で無精子が、10 mg/kg/週群の雄全例で精子減少が認められた。また、10 mg/kg/週以上の群の雄では精巣上体の間質に混合性炎症細胞浸潤がみられた。精巣上体の無精子に関連する剖検所見として、精巣上体の小型化が 30 mg/kg/週群の雄 4 例で認められた。休薬期間終了後、30 mg/kg/週群の雄全例で精巣の精細管萎縮及び精巣上体の無精子がみられた。関連する剖検所見として、精巣及び精巣上体の軟化又は小型化が認められ、精巣重量低値（最小で対照群の 0.68 倍）もみられた。3 mg/kg/週群では、精子形成ステージング検査において変化は認められなかった。10 及び 30 mg/kg/週群では、投与期間終了時の剖検例で被験物質に関連した精巣の組織学的変化がみられたため、精子形成ステージング検査を実施することができなかった。

骨髄（胸骨）では、30 mg/kg/週群の雄全例及び雌 1 例で細胞密度低下（軽微～中等度）がみられ、30 mg/kg/週群のほとんどで単細胞壊死（軽微）が認められた。胸骨に変化がみられたが、骨髄細胞の変化に基づく二次的な影響と考えられた。30 mg/kg/週群の雄 9 例及び 10 mg/kg/週群の雄 1 例で骨芽細胞の肥大／過形成、骨表面の波状化／不均一化、線維化又は早期骨化過剰を特徴とする骨リモデリングが認められた。骨リモデリング（軽微又は軽度）は、30 mg/kg/週群の雄 8 例の大腿骨／大腿脛骨関節においても認められた。30 mg/kg/週群の 4 例及び 10 mg/kg/週群の雄 1 例では、肝臓に髄外造血が認められた。

腸間膜リンパ節では、30 mg/kg/週群の 10 例で髄洞に多核巨細胞がみられ、同じ投薬群の雄 2 例では下顎リンパ節にも認められた（軽微）。

脾臓では、10 mg/kg/週以上の群の雄及び 30 mg/kg/週群の雌で白脾髄及び赤脾髄のリンパ球溶解が認められた。10 mg/kg/週群のほとんどで赤脾髄における色素沈着マクロファージ増加が認められた。10 及び 30 mg/kg/週群では髄外造血の発現頻度／程度の低値も認められた。脾臓のうっ血が 30 mg/kg/週群の多数例及び 10 mg/kg/週群の雄 1 例でみられ、関連する剖検所見として、脾臓の大型化が 30 mg/kg/週群の雄数例で、脾臓重量高値（対照群の最大 1.71 倍）が 30 mg/kg/週群で認められた。脾臓重量高値（対照群の最大 1.23 倍）は休薬期間終了時にも 30 mg/kg/週群の雄でみられたが、それに伴う組織学的変化は認められなかった。

胸腺では、30 mg/kg/週群の全例でリンパ球溶解（軽微～中等度）がみられ、本変化に伴い細胞密度の低下が 19 匹中 5 例で認められた。また、30 mg/kg/週群の雄 8 例及び雌 1 例では間質及び周囲の結合組織の混合性炎症細胞浸潤がみられた。10 mg/kg/週以上の群では、胸腺重量低値（対照群の最小 0.46 倍）が投与期間終了時に認められ、また、休薬期間終了時においても 30 mg/kg/週群で低値（対照群の最小 0.78 倍）がみられたが、関連する病理組織学的所見はみられなかった。

骨髄における細胞産生減少に一致して、30 mg/kg/週群で赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの低値（最小でそれぞれ対照群の 0.81、0.75、0.75、0.92 及び 0.92 倍）が投与期間終了時に認められた。30 mg/kg/週群では、網状赤血球分画の絶対数に変化が認められたが、総網状赤血球数に変動はみられなかった。網状赤血球分画の変化として、高吸収網状赤血球数の高値（対照群の最大 1.97 倍）並びに中及び低吸収網状赤血球数の低値（最小でそれぞれ対照群の 0.54 倍及び 0.45 倍）が認められた。また、30 mg/kg/週群で赤血球分布幅の高値（対照群の最大 1.37 倍）もみられた。10 mg/kg/週以上の群では血小板数高値（対照群の最大 2.1 倍）も認められた。休薬期間後、30 mg/kg/週群では雌雄に高、中及び低吸収網状赤血球数の高値（それぞれ対照群の最大 1.98 倍、1.13 倍及び 1.17 倍）がみられ、雄のみに赤血球分布幅の高値（対照群の 1.14 倍）が認められたが、その他の変化はすべて回復した。投与期間終了後、30 mg/kg/週群では白血球数低値（対照群の最小 0.47 倍）がみられ、本変化を反映して好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数及び好塩基球数の低値（最小でそれぞれ対照群の 0.33 倍、0.45 倍、0.23 倍、0.62 倍及び 0.30 倍）が認められた。一方、10 mg/kg/週群では、雌雄に好中球数高値（対照群の最大 2.5 倍）が、雄で好塩基球数高値（対照群の最大 2.5 倍）が認められた。これらの変化は休薬期間終了時までに回復したが、30 mg/kg/週群では白血球数及びリンパ球数の高値（それぞれ対照群の最大 1.39 倍及び 1.56 倍）が認められた。

乳腺では、30 mg/kg/週群の雄 5 例で上皮単細胞壊死が認められた。

眼球では、30 mg/kg/週群の全例、10 mg/kg/週群の雌全例及び雄 9 例（この群の雄 1 例は片側）並びに 3 mg/kg/週群の雌 2 例で両側性角膜単細胞壊死（軽微）が認められた。眼科学的検査では、いずれの投薬群においても所見はみられなかった。

卵巣では、30 mg/kg/週群の雌 4 例及び 10 mg/kg/週群の雌 1 例に巣状又は多巣性の黄体化未破裂卵胞が認められた。

歯に対する影響として、30 mg/kg/週群の 12 匹中 4 例の上顎切歯において平坦化及び崩壊を特徴とするエナメル芽細胞層の変性が休薬期間終了時にみられ、関連する剖検所見として、上顎切歯の蒼白／白色化が認められた。一般状態観察においても、30 mg/kg/週群の雌雄では休薬期間中である試験 56 日（最終投与の約 5 週間後）以降に歯の異常（上顎、下顎又は両側の切歯の白色化、不規則な／異常な摩耗、長さ又は厚さ等の外観上の変化）が観察された。これらの変化は、残りの休薬期間を通して全例に観察されたが、試験 71 日以降は回復傾向を示した。

サイトカインの変動が、試験 1 日の投与 24 時間後並びに試験 15 日の投与前及び投与 24 時間後に認められ、30 mg/kg/週群で MCP-1、IL-1β、IL-6 及び TNF-α の高値（それぞれ対照群の最大 3.7、1.93、3.9 及び 3.1 倍）、10 mg/kg/週群の雌では IL-6 及び TNF-α の高値（それぞれ対照群の最大 1.92 及び 2.5 倍）がみられた。

血液生化学的パラメータの変動として、30 mg/kg/週群では総蛋白及び IgG・IgA の高値（それぞれ対照群の最大 1.29 及び 1.78 倍）並びに電気泳動における α1-グロブリン及び β-グロブリン分画の高値（それぞれ対照群の最大 1.38 倍及び 2.1 倍）が、10 mg/kg/週以上の群で ALP、α1-酸性糖蛋白及び IgM の高値（それぞれ対照群の最大 3.0、16 及び 2.5 倍）が、3 mg/kg/週以上の群でアルブミン、リポカリン-2 及び α2-マクログロブリンの高値（それぞれ対照群の最大 1.13 倍、7.5 倍及び 1.76 倍）が投与期間終了時に認められた。休薬期間終了時、30 mg/kg/週群の雌ではリポカリン-2 高値（対照群の 1.77 倍）がみられ、3 及び 30 mg/kg/週群の雌では α1-酸性糖蛋白高値（対照群の最大 1.54 倍）及び α2-マクログロブリン低値（対照群の最小 0.80 倍）がみられたが、その他の変化はすべて回復した。

肝臓に対する影響として、投与期間終了時に 30 mg/kg/週群で肝重量高値（対照群の 1.28 倍）がみられ、休薬期間終了時にも雄で引き続き認められた（対照群の 1.14 倍）。30 mg/kg/週群では血漿中ビリルビン低値（対照群の最小 0.59 倍）がみられ、10 mg/kg/週以上の群で血漿中 ALT 及び GLDH 高値（それぞれ対照群の最大 3.5 及び 8.6 倍）が、30 mg/kg/週群の雌では血漿中コレステロール高値（対照群の 1.47 倍）が認められた。コレステロール高値（対照群の 1.27 倍）は、休薬期間の試験 106 日においても 30 mg/kg/週群の雌で認められた。

投与部位では、限局性表皮過形成が、30 mg/kg/週群の 3 例及び 10 mg/kg/週群の雄 1 例で認められた。血管周囲炎の発現頻度高値も全投薬群でみられ、限局性骨格筋変性／壊死が 30 mg/kg/週群の雄 1 例で認められた。AST、アルドラーゼ及びクレアチンキナーゼの高値（それぞれ対照群の 6.8、3.4 及び 2.8 倍）が、10 mg/kg/週以上の群の雌雄で認められた。

そのほかの臨床検査パラメータの変化として、30 mg/kg/週群ではカリウム高値（対照群の1.47 倍）が雌で試験 22 日に、トリグリセリドの変動（試験 22 日に対照群の 0.64 倍、休薬期間である試験 106 日に対照群の 1.48 倍）が雄で認められた。

ベランタマブ　マホドチンとの関連性が不明の所見として、30 mg/kg/週群の雌 1 例で褐色脂肪組織のびまん性空胞減少が投与期間終了時にみられ、30 mg/kg/週群の休薬動物で腎臓の硝子円柱の発現頻度高値が認められた。投与期間終了時にみられた同様の腎臓の変化は投薬に関連する変化と考えられたが、休薬期間終了時の硝子円柱は軽微であり、発現頻度が低かったため、ベランタマブ　マホドチンとの関連性は不明であった。

以上のように、10 mg/kg/週以上の群で精巣に悪影響（精細管の変性及び萎縮）が認められた。30 mg/kg/週では、投与期間終了時に腎臓（尿細管変性）及び胸骨／骨髄（細胞密度低下）に悪影響がみられ、休薬期間終了時に肺（マクロファージ集簇、炎症細胞浸潤及び肺胞壁肥厚）においても変化が認められた。悪影響ではない組織学的変化が、30 mg/kg/週群では下顎及び腸間膜リンパ節、大腿骨／大腿脛骨関節（雄）及び乳腺（雄）に、10 mg/kg/週以上の群で精巣上体、卵巣、脾臓、胸骨／骨髄、肝臓、投与部位及び胸腺に、全投薬群では眼球及び肺に認められた。12 週間の休薬期間終了後、30 mg/kg/週群では肺及び精巣／精巣上体の変化がみられ、更に切歯で組織学的変化も認められたが、その他の変化は回復した。精子形成ステージによる評価では、3 mg/kg/週群でベランタマブ　マホドチン投与に関連する変化は認められなかった。より高用量では、精巣に悪影響がみられたため、精子形成ステージを評価することができなかった。10 mg/kg/週以上の群で精巣に悪影響がみられたことから、無毒性量は 3 mg/kg/週［試験 15 日のベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-168 h は 6100 μg.h/mL（5960～6240 μg.h/mL）、Cmax は 103 μg/mL（101～105 μg/mL）］と推定された。

2.6.6.3.2.1.2. 13 週間（3 週に 1 回）反復静脈内投与毒性試験（休薬期間：12 週間）

各群雌雄各 12 匹の Wistar Han ラットに 0（媒体）、3、10 及び 30 mg/kg/回のベランタマブ　マホドチンを 3 週に 1 回、13 週間（試験 1、4、7 及び 10 週）、尾静脈への点滴静注により投与した（GLP 適用、2018N374327、4.2.3.2）。また、0、10 及び 30 mg/kg/回群にそれぞれ雌雄各 6 匹を追加し、12 週間の休薬による回復性を評価した。更に、各群雌雄各 6 匹を追加し、TK を評価した。検査／評価項目は、TK 評価、免疫原性、投与検体濃度測定、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査（フルオレセイン染色を含む）、血液学的検査（骨髄細胞数を含む）、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査及び尿中腎バイオマーカー分析、骨格筋トロポニン I 及びアルドラーゼ測定、サイトカイン分析、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.2 に示す。

試験 4 及び 10 週に採取した血漿を用いて TK 評価を実施した。更に、休薬 4、8 及び 12（雄）／13（雌）週に、対照群、10 及び 30 mg/kg/回群（各群雌雄各 6 匹）から採取した血漿も評価に供した。ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の全身曝露量に雌雄間で顕著な差は認められなかった。全身曝露量は用量にほぼ比例して増加し、試験 10 週と試験 4 週の間で顕著な差は認められなかった。Cys-mcMMAF については、3 mg/kg/週群の曝露量は定量下限値を下回っており、全身曝露量を推定することができなかった。より高い用量

では、全身曝露量に雌雄間で顕著な差はみられず、ほぼ用量に比例して増加した。試験 10 週の全身曝露量は試験 4 週よりわずかに高値であった。これらのデータについては 2.6.4.3.3.1 で考察する。

免疫原性を評価するために、投与期間中である試験 1 及び 4 週並びに試験 12 週（主試験群、休薬群及び TK 群の全生存例）及び試験 13 週（主試験群の全生存例）に血清を採取した。また、休薬 4、8 及び 12（雄）／13（雌）週にも血清を採取した。採取した血清について、ECLIA による ADA 分析を実施した。投与期間中、ブリッジング電気化学発光法を用いた分析で、548 検体中 4 検体（190 匹中 2 例）に ADA 陽性が確認された。30 mg/kg/回群の 2 例で試験 4 及び 12 週に ADA が検出され、反復投与により抗体価の上昇がみられた。休薬期間中、108 検体中 1 検体（36 匹中 1 例）で陽性が確認された。30 mg/kg/回群の雄 2 例で、スクリーニングにより試験 4 及び 12 週に ADA 陽性が確認され、試験 4 週の抗体価はいずれも 200 だったのに対し、試験 12 週の抗体価はそれぞれ 640000 及び 3200 であったことから、反復投与による免疫原性の増強が示された。これらの動物では、試験 4 及び 10 週の各試験週における測定時点の後半に、血漿中ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）濃度の急速な減少が認められた。いずれの動物も、ベランタマブ　マホドチンの全身曝露量評価のための平均濃度算出に含めなかった。休薬期間中、30 mg/kg/回群の雄 1 例で、スクリーニングにより休薬 8 週に ADA が確認され、抗体価は 200 であった。

一般状態観察では、30 mg/kg/回群まで忍容性がみられたが、組織学的変化が肺、歯／切歯、精巣／精巣上体、腎臓、眼、脾臓、肝臓、雄の乳腺及び下垂体に認められた。投薬に関連する途中死亡例はみられなかった。対照群の 1 例で投与期間中に死亡がみられた。10 mg/kg/回以上の群の雄で、2 及び 4 回目の投与後に体重増加がみられない、あるいはごく軽度の体重減少がみられ、30 mg/kg/回群で毎投与後に摂餌量低値が認められた。

病理組織学的検査では、全投薬群で肺（3 mg/kg/回以上の群で血管周囲炎症細胞浸潤を伴った好酸性物質含有肺胞マクロファージの軽微～中等度の増加、10 mg/kg/回群の雌 1 例で II 型肺胞上皮細胞の肥大／過形成を伴った終末気道周囲の好中球性肺胞炎症）に、10 mg/kg/回以上の群で歯／切歯（歯マトリックスの変化を伴ったエナメル芽細胞及び象牙芽細胞の軽微から中等度の変性）及び精巣（重度の精細管変性／萎縮）に、30 mg/kg/回群で腎臓（軽微～軽度の尿細管変性／再生）に悪影響が認められた。

悪影響ではない病理組織学的所見が、3 mg/kg/回以上の群で眼球／角膜（全投薬群：分裂後期で停止したと思われる数個の基底細胞からなる有糸分裂像の増加、10 mg/kg/回以上の群：単細胞壊死）に、10 mg/kg/回以上の群で雄の乳腺（小葉萎縮）及び脾臓（軽微からごく軽度のうっ血）に、30 mg/kg/回群で肝臓（軽微な髄外造血、雄のみ）に認められた。
10 mg/kg/回以上の群で血液学的パラメータの変化（代償性の網状赤血球数高値を伴った赤血球パラメータの低値、白血球数高値）及び血液凝固パラメータの変化（フィブリノゲン高値）が、10 mg/kg/回以上の群でサイトカイン TNF-α 及び KC/GRO の高値が、30 mg/kg/回群で尿中腎バイオマーカーの変化（アルブミン、総蛋白及び KIM-1 の高値）及び血液生化学的パラメータの変化（ALT、AST、総蛋白、カルシウム及びコレステロールの高値並びにトリグリセリド低値）が認められた。

精巣上体では無精子がみられ、また雄の下垂体では分泌細胞の細胞質空胞の軽微な増加が認められた。これらは、精細管変性／萎縮による二次的な変化と考えられた。

12 週間の休薬期間終了後、組織学的変化の進行を示唆する変化が 10 mg/kg/回群以上の群で肺に、30 mg/kg/回群で精巣にみられ、精巣／精巣上体及び雄の下垂体の変化が 10 mg/kg/回以上の群で認められた。眼／角膜、歯／切歯、脾臓、腎臓、肝臓及び雄の乳腺の組織学的変化は完全に回復した。

全投薬群の肺において悪影響と考えられる組織学的変化がみられたことから、無毒性量は推定できず、3 mg/kg/回［試験 10 週におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-504 及び Cmax はそれぞれ 10500 µg.hr/mL 及び 131 µg/mL、ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の雌雄平均 AUC0-504 及び Cmax はそれぞれ 12700 µg.hr/mL 及び 133 µg/mL］未満であった。

2.6.6.3.2.2. サル

2.6.6.3.2.2.1. 3 週間（週 1 回）反復静脈内投与毒性試験（休薬期間：12 週間）

各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに 0（媒体）、1、3 及び 10 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンを週 1 回、3 週間静脈内投与（伏在静脈及び／又は上腕静脈への緩やかなボーラス単回及び／又は反復投与）した（GLP 適用、2013N158643、4.2.3.2）。また、0（媒体）及び 3 mg/kg/週群に各群雌雄各 2 匹を追加し、12 週間の休薬による回復性を評価した。検査／評価項目は、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査（CRP、IgG、IgM 及び骨格筋トロポニン I 測定を含む）、尿検査（アルブミン：クレアチニン比、NAG：クレアチニン比及び KIM-1：クレアチニン比を含む）、眼科学的検査、心電図検査（雄における 24 時間の定性的及び定量的評価を含む）、末梢血の免疫フェノタイピング［B 細胞、T 細胞（CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞を含む）、NK 細胞及び NKT 細胞］、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査（性的未成熟のため精子形成ステージの評価は実施しなかった）とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.3 に示す。本試験で実施した心電図検査のデータについては 2.6.2.4 で考察するとともに、その概要を 2.6.3-Table 4.1 に示す。

TK 評価（連続的検体採取）を実施するために、試験 1 及び 15 日（それぞれ試験 1 及び 3 週）に全例から血漿を採取した。また、休薬群については、試験 5、6、7、8、10、12、14 及び 16 週にも血漿を採取した。ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の全身曝露量に顕著な雌雄差はみられず、雌雄平均の全身曝露量は用量にほぼ比例して増加した。ADC 及び総 mAb の全身曝露量は同程度であったことから、循環血中における抗体薬物複合体の安定性が示唆された。Cys-mcMMAF の雌雄平均全身曝露量は用量に比例して増加し、雌雄間及び試験 1 週と試験 3 週の間で特筆すべき全身曝露量の差は認められなかった。これらのデータについては 2.6.4.3.3.3 で考察する。

脾臓及び骨髄では、病理組織学的検査において炎症性変化が認められた。3 mg/kg/週以上の群の赤脾髄（軽微～中等度）及び 10 mg/kg/週群の骨髄（軽度～中等度）で、マクロファージの増加（様々な量の褐色色素、貪食された細胞及び／又は核残屑を含有する空胞化マクロファージの数的増加を特徴とする）が認められた。3 mg/kg/週以上の群でみられた脾臓及

び骨髄の変化は、用量の増加に伴う全身性炎症反応を反映しており、休薬期間終了時には認められなかった。投与期間終了時に認められた脾臓及び骨髄の炎症性変化と一致して、試験22日の臨床病理学的検査において、3 mg/kg/週以上の群でCRP-1の用量に応じた高値（投与前値の最大36倍）、3 mg/kg/週以上の群の各個体で血清中アルブミン低値、10 mg/kg/週群で総白血球数（主に好中球数、単球数及び大型非染色細胞数）の高値が認められた。全身性炎症反応に関連して、赤血球量パラメータ（投与前値の最大0.82倍）及び血小板数（投与前値の最大0.70倍）の軽度低値もみられ、10 mg/kg/週群の個々のサルではそれに伴う網状赤血球数高値及び有核赤血球の放出等の再生性の反応がみられた。これらの変化は、脾臓及び骨髄のマクロファージの組織学的変化とともにみられ、骨髄塗抹標本の細胞学的評価では血球貪食がみられた。3 mg/kg/週群でみられたこれらの臨床病理学的パラメータの変動は、休薬期間終了時には認められなかった。

肝臓では、3 mg/kg/週以上の群においてクッパー細胞の増加がみられ、時折有糸分裂像を伴って認められた。

腎臓では、10 mg/kg/週群で腎糸球体におけるメサンギウム細胞の有糸分裂像の軽微な増加が認められた。また、変化がみられた一部の腎臓では、腎皮質の間質組織球内の有糸分裂像増加が認められた。10 mg/kg/週群の雄1例では、均質な好酸性マトリックスによるメサンギウム領域の拡大を特徴とする軽度の糸球体症が組織学的にみられた。同個体では、拡張した好塩基性細胞質及び真正染色質の核を伴い、拡張した遠位尿細管を特徴とする遠位ネフロンの軽度の変性／再生もみられた。集合管上皮の単細胞壊死が認められた。まれに蛋白質様液体又は血液を含有する尿細管が認められた。これらの所見に関連して、この動物では試験22日に尿中アルブミン及び総蛋白排泄量の顕著な高値がみられ、ベランタマブ　マホドチンによる影響と考えられた。一連の臨床病理学的及び組織学的変化は、投薬に関連した一次的な糸球体に対する傷害と、それに続発する尿細管／集合管の傷害に一致した。

胸腺皮質では、3 mg/kg/週以上の群において細胞質内に貪食された細胞片及び核の残屑（リンパ球溶解）又は皮質菲薄化を伴う可染小体マクロファージの増加が認められた。また、10 mg/kg/週群の一部の動物では可染小体マクロファージを伴う胸腺皮質の細胞密度低下がみられ、同群では胸腺重量のばらつきが認められた。これらの変化は悪影響ではないと考えられた。

NK細胞の絶対数及び比率の低値が試験22日に10 mg/kg/週群でみられ、3 mg/kg/週群の数例においても認められた。休薬期間終了時、3 mg/kg/週群では回復性がみられた。更に、10 mg/kg/週群では、試験22日に活性化（CD69+）B細胞の絶対数及び比率の軽微高値がみられたが、活性化B細胞が総B細胞に占める割合は低く（CD69+の平均比率は雄で0.6%、雌で1.1%）、総B細胞の絶対数及び比率に変化は認められなかった。ベランタマブ　マホドチン投与後のT細胞、CD4及びCD8 T細胞サブセット並びにNKT細胞の絶対数及び比率に、投薬に関連した変化はみられなかった。

IgMの低値（投与前値の0.77～0.48倍）が、試験22日に3 mg/kg/週以上の群の雄及び1 mg/kg/週以上の群の雌で認められ、休薬期間終了時にも低値（投与前値の0.54～0.66倍）がみられた。10 mg/kg/週群の一部の雌で、試験22日にIgG低値（投与前値の0.78倍）が認

められた。これらの IgM 及び IgG 低値は、形質細胞に対するベランタマブ　マホドチンの薬理活性に一致して予想される変化であった。

AST（投与前値の最大 13 倍）、GLDH（投与前値の最大 3.3 倍）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT、投与前値の最大 2.0 倍）、総ビリルビン（投与前値の最大 1.7 倍）及び／又は ALT（投与前値の最大 2.2 倍）の高値が試験 22 日に 10 mg/kg/週群でみられたが、関連する肝細胞及び胆道系の病理組織学的所見は認められなかった。

10 mg/kg/週群では、試験 22 日に雄でコレステロールの高値（投与前値の 1.52 倍）、雌でトリグリセリドの高値（投与前値の 2.2 倍）がみられた。

APTT の延長が 10 mg/kg/週群で認められた。投薬に関連した変化と考えられたが、変化の程度は軽度であり、関連する一般状態変化が認められなかったことから、悪影響ではないと考えられた。

食欲減退が投与期間を通して 10 mg/kg/週群で散見され（1 日に与えた餌の半分以上残存）、3 mg/kg/週以上の群の雌では柑橘類の摂取の減少がみられた。最終投与 4 日後、各投薬群の雌各 1 例（非絶食）で体重減少が認められた。これらの動物においては、剖検前（最終投与 8 日後）の絶食後最終体重は、1 mg/kg/週群の雌では前回測定時と比較して軽度の増加がみられたが、10 mg/kg/週群の雌では変化はみられなかった。一方、3 mg/kg/週群の雌では、依然、体重の低値が休薬期間初期にみられたが、残りの休薬期間を通して概ね増加し、休薬期間終了時までに試験 1 日の値と同程度まで回復した。

本試験では、ADA に関する特別な分析は実施しなかったが、ベランタマブ　マホドチンの TK に対する ADA に起因する影響は認められなかった。

精巣の精子形成ステージに基づいた定性評価は、雄サルの精巣が未成熟であったため実施しなかった。

以上のように、3 mg/kg/週以上の群で全身炎症性反応を伴う投薬に関連した組織学的変化が脾臓（赤脾髄のマクロファージ増加）及び骨髄（マクロファージ増加、10 mg/kg/週のみ）で認められた。これらの変化に関連する臨床病理パラメータの変化として、3 mg/kg/週以上の群で CRP 高値及び血清中アルブミン低値、10 mg/kg/週群で総白血球数（好中球、単球及び大型非染色細胞）の高値が認められた。また、赤血球量及び血小板数の低値もみられ、10 mg/kg/週群の一部の動物では再生性変化を伴って認められた。10 mg/kg/週群では、肝臓のクッパー細胞及び腎臓のメサンギウム細胞において有糸分裂像の増加が認められた。10 mg/kg/週群の 1 例では、尿中アルブミン及び総蛋白排泄量の高値を伴う糸球体症及び遠位ネフロンの変性／再生性変化が認められた。胸腺皮質では、3 mg/kg/週以上の群でマクロファージの増加がみられ、10 mg/kg/週群の一部の動物では細胞密度低下を伴っていた。1 mg/kg/週以上の群でみられた IgM 低値及び 10 mg/kg/週で認められた IgG 低値は、ベランタマブ　マホドチンの予想される薬理作用に一致していた。3 mg/kg/週以上の群では NK 細胞の絶対数及び比率の低値がみられ、10 mg/kg/週群で活性化 B 細胞の絶対数及び比率の軽微高値が認められた。10 mg/kg/週群では、上記の臨床病理パラメータの変化のほかに、AST、GLDH、GGT、ALT、総ビリルビン、コレステロール及びトリグリセリドの高値も認められた。10 mg/kg/週群では食欲減退が認められた。1 mg/kg/週以上の群の各 1 例で、最終投与後

に体重低値がみられたが、1 mg/kg/週群では剖検時までに回復した。IgM 低値を除くすべての変化は、休薬期間終了時までに回復した。

10 mg/kg/週群の雄の腎臓でみられた糸球体症及び遠位ネフロンの変性／再生性変化に基づき、HNSTD は 3 mg/kg/週と推定された。

1 mg/kg/週群でみられた体重変化は一過性であったこと、また、3 mg/kg/週以上の群で悪影響が認められたことから、無毒性量は 1 mg/kg/週［試験 3 週におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-167 h 及び Cmax はそれぞれ 1240 µg.h/mL（範囲：893～1470 µg.h/mL）及び 27.5 µg/mL（範囲：22.7～32.9 µg/mL）、ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の雌雄平均 AUC0-167 h 及び Cmax はそれぞれ 1520 µg.h/mL（範囲：1210～1700 µg.h/mL）及び 27.3 µg/mL（範囲：22.4～31.7 µg/mL）並びに cys-mcMMAF の雌雄平均 AUC0-167 h 及び Cmax はそれぞれ 12.1 ng.h/mL（範囲：6.01～23.1 ng.h/mL）及び 0.499 ng/mL（範囲：0.341～1.03 ng/mL）］と推定された。

2.6.6.3.2.2.2. 13 週間（週 1 回）反復静脈内投与毒性試験（休薬期間：12 週間）

各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに 0（媒体）、1、3 及び 10 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンを週 1 回、13 週間静脈内ボーラス投与した（GLP 適用、2018N375127、4.2.3.2）。また、0（媒体）、3 及び 10 mg/kg/週群に各群雌雄各 2 匹を追加し、12 週間の休薬による回復性を評価した。検査／評価項目は、TK 評価、一般状態、体重、摂餌量、獣医師による身体検査、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、尿中腎バイオマーカー、CRP、IgG 及び IgM、免疫原性、サイトカイン、免疫フェノタイピング、補体 C3a、Bb 及び C5a（0 及び 1 mg/kg/週群のみ）、IHC 検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7、Table 7.4 に示す。本試験で実施した心電図検査データについては 2.6.2.4 で考察し、2.6.3、Table 4.1 に詳細を示す。

TK 評価は、試験 4 及び 13 週（それぞれ試験 22 及び 85 日）に採取した血漿試料を用いて実施した。ADC 及び総 mAb のいずれにおいても、全身曝露量に顕著な雌雄差はみられなかった。全身曝露量は用量にほぼ比例して増加し、試験 13 週と試験 4 週の間で顕著な差は認められなかった。Cys-mcMMAF については、低用量群である 1 mg/kg/週の血漿中濃度は極めて低く、高用量群の 10 mg/kg/週については、試験 4 週のデータは除外しなければならず、試験 13 週のデータは得られなかったことから、TK の評価は困難であった。定量可能なサンプルから得た全身曝露量に顕著な雌雄差はみられず、全身曝露量は用量に伴い増加し、試験 13 週と試験 4 週で同程度であった。これらのデータについては 2.6.4.3.3.3 において考察する。

免疫原性を評価するため、投与期間中である試験 1 日の投与前並びに試験 4、6、7、9 及び 13 週の投与前及び投与後、また、休薬期間中である試験 17、21 及び 25 週に血清試料を採取し、3 種類のバリデートされた ECLIA により分析した。

10 mg/kg/週群では、5 回投与後（試験 5 週；試験 29 日）に投与中止を必要とする一般状態の悪化及び赤血球量／形態の変化等の重度の変化が認められたため、試験 33 日に雄 1 例を早期に安楽死させ、10 mg/kg/週群の残りの主試験例は試験 7 週に剖検した。10 mg/kg/週群の雄（計 5 回投与）で認められた心拍数高値（0.16 倍）は、これらの動物でみられた一般状態悪化に関連した変化と考えられた。雌では心拍数の変化は認められなかった。試験 33

日に安楽死させた雄では重度の一般状態変化が急速に発現し、活動性低下、衰弱、筋緊張度低下、円背位、腹部触診時に認められたガス及び不快症状を伴う腹部膨満、皮膚蒼白、部分閉眼、食欲減退、液状便、流涎増加、鼻口部の透明分泌液、脱水症状及び体温低下（35.4°C）等が認められた。この雄では腎臓に重度の尿細管変性／再生性変化及び顕著な糸球体腎炎が認められ、これらは安楽死に至る原因となった組織学的変化と考えられた。しかし、消化管における二次的出血（食道及び腸管の 1 つ又は複数の血管並びに腸間膜リンパ節における軽微～軽度の出血、並びに食道、空腸、回腸及び肺の 1 つ又は複数の血管における軽微な血栓形成）を伴う急性の血管変化（フィブリノイド血管壊死）及び腹腔内の体液貯留（剖検でみられた腹水）は、安楽死数時間前にみられた重度の一般状態悪化に起因した変化である可能性がある。本例の死因とは関連がないと考えられるが、胸腺の血管壊死並びに心臓及び副腎における出血も観察された。この動物では、腎臓の糸球体係蹄、胃腸管の血管壁中膜内並びに肝臓のクッパー細胞及び／又は類洞内皮細胞の細胞質にサル IgG 及び／又は IgM を含有する顆粒沈着が認められた。本例で認められた膜増殖性糸球体腎炎及び血管フィブリノイド壊死の発現並びに組織内顆粒沈着は、免疫複合体病を示唆するものであった。この動物で認められたベランタマブ　マホドチン関連の変化は、10 mg/kg/週群の他の動物でみられた変化とおおむね類似していた（血管変化を除く）が、より重度であった。この雄が早期安楽死に至ったことを考慮し、10 mg/kg/週群の投与を中止した（最終投与は試験 29 日；試験 5 週）。また、試験 34 日以降に一般状態悪化（筋緊張及び／又は活動性の低下、冷感、軽度の振戦、円背姿勢、削痩／背骨の顕在化、皮膚蒼白及び／又は脱水症状並びに食欲減退）が認められたこと、また、試験 6 又は 5 週（雄：試験 37 日、雌：試験 35 日）にみられた赤血球量／形態の変化等の程度に基づき、10 mg/kg/週群の残りの主試験例については試験 7 週（雄：試験 45 日、雌：試験 43 日）に安楽死させた。

10 mg/kg/週群では、悪影響と考えられる組織学的変化が腎臓（尿細管変性／再生及び／又は膜増殖性糸球体腎炎並びに腎尿路上皮の壊死）において尿中アルブミン及び総蛋白排泄量高値を伴って認められ、更に食道、腸管、腸間膜リンパ節及び胸腺（1 つ及び複数の血管の軽微～中等度のフィブリノイド壊死、出血及び／又は血栓形成）並びに脾臓、種々のリンパ節及び胸腺（リンパ組織壊死を伴う又は伴わないリンパ系細胞密度低下）にも認められた。軽微な肝細胞壊死は、肝酵素パラメータの高値を伴っていたことから悪影響と考えられた。12 週間の休薬期間終了後、10 mg/kg/週群でみられた組織学的変化及び腎バイオマーカーの変化は認められなかったが、1 例において腸管の複数の血管に軽微な慢性血管／血管周囲炎症が認められた。本変化は回復傾向を示していると考えられる。10 mg/kg/週群の他の動物と同様に、本例でみられた血管病変は免疫複合体に関連していると考えられ、この種の血管傷害が完全に回復するには 12 週間より長い期間を要することが予想される[Frazier, 2015]。

3 mg/kg/週群で認められたベランタマブ　マホドチン関連の組織学的変化は、肝胆道系酵素パラメータ（ALT、ALP、GGT、GLDH 及び AST）の高値を伴っていたことから悪影響と考えられたが、所見は軽微な肝細胞壊死のみであった。その他の関連する血液生化学的変化として、コレステロール及びリンの高値が認められた。これらの変化は休薬期間終了時にはみられなかった。

前述の変化のほか、悪影響ではないと考えられる組織学的な炎症性変化として、骨髄、脾臓の赤脾髄、胸腺及び脳（脈絡叢のみ）におけるマクロファージの増加（有糸分裂像の増加をときに伴う）、肝臓のクッパー細胞肥大／過形成（有糸分裂像及び／又は単細胞壊死が散見される）及び髄外造血、腎間質組織及び／又はメサンギウム（10 mg/kg/週のみ）の有糸分像裂増加、腎臓及び／又は膀胱の尿路上皮の軽微な単細胞壊死、骨髄の顆粒球系細胞密度増加、種々のリンパ節における有糸分裂像増加（髄質）並びに髄外造血が、3 mg/kg/週以上の群で認められた。これらの変化は回復性を示した。3 mg/kg/週以上の群でみられた全身性炎症の特徴として、MCP-1 高値（1 mg/kg/週以上）、好中球数、単球数及び大型非染色細胞数の高値（10 mg/kg/週のみ）、CRP（10 mg/kg/週のみ）及びフィブリノゲンの高値、並びに赤血球量パラメータ（血小板数及び網状赤血球数を含む）の低値（10 mg/kg/週のみ）がみられた。また、補体成分 Bb 及び C3a の軽度高値が 1 mg/kg/週群（評価した唯一の用量）で認められた。10 mg/kg/週群では、赤血球量パラメータの低値に関連して、血液塗抹検査において赤血球膜損傷を示唆する赤血球の形態学的変化（軽微～軽度の破砕赤血球、球状赤血球及び／又は中央淡明）が最終投与の 2 週間後にみられた。これらの変化に伴い赤血球分布幅高値及び軽度の網状赤血球数高値等の再生性変化が認められた。休薬期間終了時、血液学的変化は認められなかった。骨髄の変化に関連して、3 mg/kg/週以上の群では、顆粒球系：赤芽球系（M：E）比の軽微な高値、軽度の活性化マクロファージ増加、赤芽球系細胞の成熟過程に対する影響（軽度の左方移動）及び不規則な形態の核を伴った正染性赤芽球の軽度の増加が認められた。12 週間の休薬期間後、10 mg/kg/週群で有糸分裂像を伴う二核性の正染性赤芽球の軽度増加が認められ、変化がみられた 1 例の雌では、初期の前駆細胞（主に正赤芽球）の割合がわずかに増加していた。3 mg/kg/週群では、M：E 比の軽微な低値が認められた。ベランタマブ　マホドチン関連の NK 細胞の絶対数及び比率の低値が 3 mg/kg/週以上の群でみられ、12 週間の休薬期間終了後に 10 mg/kg/週群では完全又は一部回復性がみられたが、3 mg/kg/週群では回復が認められなかった。また、10 mg/kg/週群で認められた精巣の精細管変性は、12 週間の休薬期間終了後に完全に回復した。

10 mg/kg/週群では、間接及び／又は直接ビリルビンの軽微高値もみられたが、肝臓の組織学的変化又は溶血と関連する可能性がある総ビリルビンの高値を伴わなかった。休薬期間終了後、10 mg/kg/週群の一部の動物では間接及び／又は直接ビリルビンの軽微な高値が認められた。

採血による二次的な変化として、鼠径部に皮膚の青色化／赤色化を伴う硬い腫脹／腫瘤が認められた。また、それに関連する鼠径部骨格筋の中等度～重度の出血（被嚢性血腫と一致）がみられ、ときにその範囲は鼠径リンパ節又は坐骨神経周囲の組織まで及んでいた。3 mg/kg/週群の雄 1 例では、鼠径部の脂肪組織にフィブリン、線維化及び好中球浸潤を伴った軽度の出血がみられ、組織学的には被包性血腫を一致していた。血腫は高用量群のみでみられたことから、ベランタマブ　マホドチン投与に関連した局所炎症反応の増悪の可能性は否定できないと考えられた。

10 mg/kg/週群で IgM の低値（最小で投与前値の 0.33 倍）がみられたが、休薬期間中に回復した。この変化はベランタマブ　マホドチンの薬理作用に一致していた。

1 mg/kg/週群の雄 1 例でベランタマブ　マホドチンに対する強固かつ特異的な免疫原性がみられ、ADA 抗体価の経時的増加及び循環免疫複合体（CIC）、全身曝露量の減少、薬力学活性（IgM）の低下、一般状態変化（投与時の過度の流涎；注入反応の徴候）、MCP-1 高値、並びに Bb 及び C3a 高値が認められた。投与期間中、低抗体価の ADA は 3 mg/kg/週以上の群の全例でも検出されたが、それに伴う曝露量減少（雌 1 例を除く）は認められなかった。1 mg/kg/週群の 2 例及び 3 mg/kg/週群の 3 例では、様々な時点で免疫複合体が検出された。これらの動物では、免疫原性反応に基づく血漿中 ADC 及び mAb 濃度の減少は認められなかった。休薬期間中に、5 例（3 mg/kg/週群の 3 例及び 10 mg/kg/週群の 2 例）において持続的な免疫原性反応が認められた。高用量群の数例における免疫複合体病に一致する所見（糸球体腎炎、血管炎、IHC 検査による免疫複合体沈着、赤血球形態の変化及びそれに続く一般状態の悪化）及び低用量群の雄 1 例で観察された注入反応は、ADA 産生に関連する可能性がある。

肝臓において悪影響（肝酵素パラメータの高値を伴う肝細胞壊死）が 3 mg/kg/週群で認められたたことから、本試験の無毒性量は 1 mg/kg/週［試験 13 週におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 1130 µg.hr/mL（範囲：882～1370）及び 27.3 µg/mL（範囲：25.0～30.4)、ベランタマブ　マホドチン（mAb）の雌雄平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 1500 µg.hr/mL（範囲：1120～1810）及び 29.0 µg/mL（範囲：26.2～32.5）］と推定された。

2.6.6.3.3. Cys-mcMMAF

2.6.6.3.3.1. ラット

2.6.6.3.3.1.1. 5 日間反復静脈内投与毒性試験（休薬期間：2 週間）

雌雄 SD ラットに 0（媒体）、1、5 又は 10 mg/kg/日の Cys-mcMMAF（pH 7.2 の PBS 溶液で調製）を、1 日 1 回 5 日間静脈内ボーラス投与した。投与容量は 5 mL/kg とした。各群雌雄各 10 又は 5 匹の動物をそれぞれ 8 又は 14 日間の休薬期間終了後に安楽死させた。更に、TK 用サテライト動物として各群雌雄各 12 匹を追加した（GLP 適用、2013N177527、4.2.3.2）。検査／評価項目は、TK 評価、一般状態（瀕死状態及び死亡の有無の確認を含む）、体重、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固検査及び尿検査）、眼科学的検査、骨髄評価、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.5 に示す。

各投与後の複数の時点で採取した血漿試料を用いて TK 評価を実施した。全身曝露量に雌雄差はみられず、試験 1 日と試験 5 日の間で一貫した差は認められなかった。AUC が用量比を上回って増加したのに対し、Cmax は概して用量に比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.3.1 で考察する。

一般状態観察、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び病理組織学的検査において変化が認められた。体重及び摂餌量測定、血液凝固検査、尿検査並びに骨髄評価では cys-mcMMAF 投与に関連した影響は認められなかった。

5 及び 10 mg/kg/日群では、眼瞼及び鼻口部周囲に黒色／茶褐色／赤色物質の付着が観察された。本変化は用量に応じて認められ、雄でより多く観察された。5 mg/kg/日以上の群の雄

では角膜混濁の発現頻度の高値が認められ、本試験で用いた系統及び週齢のラットで一般的にみられるばらつきの範囲内であったが、cys-mcMMAF 投与に関連する変化と考えられた。角膜混濁は対照ラット（同時対照を含む）で観察されることが知られていること[Hayakawa, 2013;Bellhorn, 1988]、また、当該試験では関連する組織学的変化は認められなかったことから、悪影響ではないと考えられた。10 mg/kg/日群の雄では好中球数の軽度の高値がみられ、cys-mcMMAF に関連する可能性がある典型的な炎症反応及び／又はストレス反応と考えられた。10 mg/kg/日群では血小板分布幅の高値がみられ、cys-mcMMAF 投与に関連する可能性が考えられたが、その他の血小板関連のパラメータに変化がみられなかったことから、生物学的意義はないと考えられた。10 mg/kg/日群では AST 及び ALT の軽微高値が認められたが、関連する肝臓の組織学的変化はみられなかった。認められたすべての臨床病理パラメータの変化は、休薬期間終了時（試験 19 日）にはおおむね消失した。

投与期間終了時剖検（最終投与 3 日後）では、5 mg/kg/日以上の群で肺重量高値のみが認められた。関連する肺の組織学的所見として、1 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の肺胞組織球の増加が、10 mg/kg/日以上の群の雄及び 5 mg/kg/日以上の群の雌で軽微～軽度の亜急性炎症が認められた。休薬群では、肺における肺胞組織球の軽微な増加が 5 mg/kg/日以上の群でみられたが、1 mg/kg/日群では認められなかった。肺重量の変化は認められなかったことから、回復性が示唆された。肺の組織学的変化は対照群にも認められ、また、投薬群における所見の程度は軽度であった。これらの変化は肺機能及び試験動物に悪影響を及ぼさないと考えられたため、悪影響ではない[Palazzi, 2016; Kerlin, 2016]と判断した。

以上より、雌雄ラットに最大 10 mg/kg/日の cys-mcMMAF を 5 日間反復静脈内投与した結果、忍容性が認められた。5 mg/kg/日以上の群の雄で認められた角膜混濁の発現頻度高値は、投薬に関連した影響と考えられた。肺における器官重量の変化及び組織学的変化は cys-mcMMAF に関連する可能性が考えられたが、明らかな悪影響ではないと判断された。雌雄のラットにおける HNSTD 及び無毒性量は、最高用量である 10 mg/kg/日［雌雄平均 AUC0-24 h は 126500 ng.h/mL、Cmax は定量上限超（ALQ）］と推定された。全投薬群で肺に肺胞組織球の増加がみられたことから、無影響量は 1 mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.3.3.2. サル

2.6.6.3.3.2.1. 5 日間反復静脈内投与毒性試験（2 週間休薬期間）

雌雄カニクイザルに 0（媒体）、0.5 及び 2 又は 5 mg/kg/日の Cys-mcMMAF（pH 7.2 の PBS 溶液で調製）を 1 日 1 回 5 日間静脈内ボーラス投与した。投与容量は 2 mL/kg とした。各群雌雄各 3 又は 2 匹の動物をそれぞれ 8 又は 14 日間の休薬期間終了後に安楽死させた（GLP 適用、2013N177530、4.2.3.2）。評価／検査項目は TK 評価、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.6 に示す。本試験では心電図、血圧、呼吸数及び心拍数の評価を実施した。これらのデータについては 2.6.2.4 で考察するとともに 2.6.3-Table 4.1 に詳細を示す。

各投与後の複数の時点で採取（全例からの連続的な検体採取）した血漿試料を用いて TK 評価を実施した。全身曝露量に雌雄差は認められず、試験 1 日と試験 5 日の間で一貫した差

はみられず、ほぼ用量に比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.3.3 で考察する。

試験の結果、一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液凝固検査、尿検査、眼科学的検査、心電図検査（血圧・心拍数・呼吸数）、剖検及び病理組織学的検査において変化はみられず、認められた影響は血液学的及び血液生化学的変化のみであった。全投薬群の雌でリンパ球数及び単球数の高値、雄で単球数の高値が認められ、2 mg/kg/日以上の群では非染色大型細胞等のその他の細胞の高値がみられた。これらの変化は、軽度の免疫応答／炎症反応、あるいは白血球動態に係るその他の変化を示唆している。好中球及び炎症のその他の指標（フィブリノゲン等）には意味のある変化がみられず、関連する組織学的変化（骨髄細胞検査での被験物質関連の所見を含む）が認められなかったことから、これらの変化は有害な又は生物学的意義のある炎症反応である可能性は低いと考えられた。したがって、これらの血液学的変化は悪影響ではないと考えられた。5 mg/kg/日群では、試験 8 日に対照群と比較してクレアチニンキナーゼの軽度高値（最大 5.9 倍）が認められた。雌雄のいずれにおいても、すべての変化は休薬期間である試験 12 又は 19 日までに消失した。

最大 5 mg/kg/日の cys-mcMMAF を雌雄カニクイザルに 5 日間反復静脈内投与した結果、忍容性は良好であった。本試験の HNSTD 及び無毒性量は、検討した最高用量である 5 mg/kg/日［雌雄平均 AUC0-24 h 及び Cmax はそれぞれ 6195 ng.h/mL（範囲：5090～7760 ng.h/mL）及び 43050 ng/mL（範囲：39500～50700 ng/mL）］と推定された。全投薬群において、悪影響ではないが雌雄で単球数高値及び雌でリンパ球数高値が認められたことから、無影響量は 0.5 mg/kg/日未満であった。

2.6.6.3.4. GSK2857914

2.6.6.3.4.1. サル

2.6.6.3.4.1.1. 4 週間（週 1 回）反復静脈内投与毒性試験

各群雌雄各 3 匹のカニクイザルに 0（媒体）、10、30 及び 100 mg/kg/週の GSK2857914 を週 1 回、4 週間静脈内ボーラス投与し、4 週間反復投与毒性試験を実施した（GLP 適用、2012N150466、4.2.3.2）。媒体には、50 mM 酢酸ナトリウム三水和物、0.05 mM EDTA、1%（w/v）L-アルギニン、51 mM 塩化ナトリウム、0.02%ポリソルベート 80 添加注射用水（USP）（pH 5.5 ± 0.2）を使用し、4 mL/kg/回の投与容量で GSK2857914 を静脈内投与（緩やかなボーラス投与）した。検査／評価項目は TK 評価、一般状態、体重、体温、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査（CRP、IgG 及び IgM を含む）、尿検査、眼科学的検査、心電図検査、ADA、サイトカイン（IL-6、IL-8、TNF-α 及び MCP-1）、免疫フェノタイピング、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.7 に示す。本試験では投与開始前及び試験 15 日に心電図検査を実施したが、これらのデータについては 2.6.2.4 で考察するとともに 2.6.3-Table 4.1 に詳細を示す。

試験 1 日（試験 1 週）、試験 15 日（試験 3 週）及び試験 22 日（試験 4 週）に対照群及び投薬群の動物から採取した血漿試料を用いて TK 評価を実施した。全身曝露量に特筆すべき雌雄差はみられず、試験 1 及び 4 週における雌雄平均の全身曝露量は、用量に比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.3.3 で考察する。

免疫原性を評価するために、投与前（試験-6 日）及び試験 29 日に血清試料を採取し、ブリッジング ECLIA により ADA を測定した。その結果、投薬群の動物において ADA は検出されなかった。

一般状態観察では、30 及び 100 mg/kg/週群の数例で試験 22 日より皮膚発赤又は痂皮が認められた。これらの動物及び 10 mg/kg/週以上の群の別の動物で、剖検で類似した皮膚所見が認められ、痂皮形成を伴う単発性又は多発性の限局的に隆起した変色／赤色化病変が観察された。これらの変化に関連して、皮膚において軽度～中等度の限局性表皮変性及び壊死、軽微～軽度の限局性表皮過形成並びに軽微～軽度の限局性皮膚血管周囲リンパ組織球性炎症を特徴とする組織学的変化がみられた。10 mg/kg/週以上の群で観察された所属リンパ節腫脹は、皮膚所見と関連しており、主に脾柱及び髄洞のマクロファージ、組織球及び好中球の中等度の細胞密度増加を特徴としていた。

炎症性変化が複数の組織で認められた。脾臓では、10 mg/kg/週以上の群で、主に単核細胞及び好中球からなる軽微又は軽度の細胞密度増加が赤脾髄に認められた。肝臓では、10 及び 30 mg/kg/週群でびまん性かつ軽微～軽度のクッパー細胞肥大／過形成がみられた。
30 mg/kg/週群の雌では、クッパー細胞の肥大に関連して髄外造血の増加及び軽微な多巣性混合性炎症細胞浸潤が認められた。10 mg/kg/週以上の群では、軽微な骨髄細胞密度増加（主に顆粒球系細胞）が認められた。腎臓では、100 mg/kg/週群の雄 1 例で多巣性の間質単核細胞炎症細胞浸潤の程度の増大（中等度）がみられた。

これらの組織学的変化に関連して、10 mg/kg/週以上の群の一部の動物では、CRP 及びアルブミン、炎症性サイトカインの高値、血液学的パラメータの変動等の全身性炎症反応と一致する変化がみられた。30 mg/kg/週以上の群では、試験 1 日（試験 1 週）の投与 24 時間後及び試験 5 週（投与前値の最大）に CRP 高値（それぞれ投与前値の最大 6.8 及び 15 倍）がみられたが、試験 2 週には認められなかった。10 mg/kg/週群の雌 1 例においても試験 5 週に CRP 高値（投与前値の 35 倍）が認められた。10 mg/kg/週以上の群でみられたアルブミン低値（投与前値の 0.76 倍）は、試験 5 週に 100 mg/kg/週群の雄 1 例で認められた総蛋白低値（投与前値の 0.73 倍）に関連した変化であった。

血液学的検査では、10 mg/kg/週以上の群の数例で試験 5 週に総白血球数、好中球数及び／又は単球数の低値又は大型非染色細胞数及び／又は単球数の高値が認められた。10 mg/kg/週以上の群の一部の動物では、試験 5 週にみられた大型非染色細胞数及び／又は単球数高値に一致して、慢性炎症反応が認められた。10 mg/kg/週以上の群の一部の動物では、赤血球量パラメータ、血小板数、総白血球数、好中球数及び／又は単球数の低値並びに網状赤血球数の高値も認められた。これらの血液学的変化は、脾臓、肝臓及び／又は骨髄で観察された組織学的変化に関連していた。

サイトカイン測定では、10 mg/kg/週以上の群の一部の動物で IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値が試験 1 日の投与 6 時間後に認められた。10 mg/kg/週以上の群の一部の動物では、試験 15 日（投与前）又は 29 日に IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値（投与前値及び対照群との比較）が認められた。2 回目又は 4 回目の投与後 1 週までの時点で検出されたサイトカインは、進行中の全身性炎症反応の過程に関与している可能性が高く、サイトカイン上昇時にみられるような体温上昇又は一般状態変化は認められなかった。

10 及び 100 mg/kg/週群の雄各 1 例において IgG 高値（投与前値の 2.5 倍まで）がみられ、投与部位の反応（10 mg/kg/週群）及び中等度（本試験における最高値）の皮膚変性／壊死（100 mg/kg/週群）に関連した変化と考えられる。

10 mg/kg/週以上の群の全例では、脾臓辺縁帯の内層及び外層において投薬に関連する軽微～中等度のリンパ系細胞密度の減少が認められた。10 mg/kg/週以上の群では、試験 5 週に IgM 低値（投与前値の最大 0.33 倍）が認められた。B 細胞絶対数の低値が 100 mg/kg/週群の雌全例及び雄 1 例並びに 10 mg/kg/週群の雌 1 例でみられ、B 細胞比率においても同様の変化が認められた。また、30 mg/kg/週以上の群では、試験 29 日に NK 細胞の絶対数高値及び比率低値が認められた。

摂餌量の減少（残量が半分超）が、30 mg/kg/週群の雌及び 100 mg/kg/週群の雄で散見された。軽度の体重低値が、試験 26 日に 30 又は 100 mg/kg/週群の一部のサルで認められた。

精子形成ステージング評価は、数例の雄が性的に未成熟と判断されたため実施しなかった。

本試験では、全投薬群で皮膚所見、複数の組織における組織学的変化、全身性炎症反応に一致する炎症性サイトカイン及び CRP の変動並びにその他の臨床病理パラメータの変化が認められたことから、本試験の無毒性量を推定することはできなかった。低用量である 10 mg/kg/週群の試験 4 週における雌雄平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 20.8 mg.h/mL（範囲：14.4～28.5 mg.h/mL）及び 0.362 mg/mL（範囲：0.289～0.393 mg/mL）であった。

2.6.6.3.4.1.2. 13 週間（週 1 回）反復静脈内及び皮下投与毒性試験

各群雌雄各 3 又は 4 匹のカニクイザルに 0（媒体）、2、10 及び 40 mg/kg/週の GSK2857914 を週 1 回、13 週間投与した（GLP 適用、2023N536587、4.2.3.2）。GSK2857914 は、4 mL/kg の投与容量で 40 mg/kg/週を静脈内ボーラス低速投与、又は 2 mL/kg の投与容量で 2 及び 10 mg/kg/週の GSK2857914 を週 1 回皮下投与した。媒体には、50 mM 酢酸ナトリウム三水和物、0.05 mM EDTA、1%（w/v）L-アルギニン、51 mM 塩化ナトリウム、0.02%ポリソルベート 80 添加注射用水（USP）（pH 5.5 ± 0.2）を使用した。検査／評価項目は TK 評価、一般状態、体重、体温、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、臨床病理学的検査［血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査（CRP、IgG 及び IgM を含む）、尿検査］、ADA、サイトカイン（IL-6、IL-8、TNF-α 及び MCP-1）、免疫フェノタイピング、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。なお、性的に未成熟な動物を用いたため、精子形成ステージに応じた評価は実施しなかった。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.8 に示す。本試験では各動物について投与開始前及び試験 12 週に心電図検査を実施したが、これらのデータについては 2.6.2.4 で考察するとともに 2.6.3-Table 4.1 に詳細を示す。

TK 評価では、試験 22 日（試験 4 週）、試験 57 日（試験 9 週：0 時間のみ）及び試験 85 日（試験 13 週）に対照群及び投薬群から採取した血漿試料を用いて検討した。その結果、静脈内投与群のいずれの用量においても、全身曝露量に顕著な性差は認められなかった。皮下投与群の全身曝露量（雌雄平均 AUC 及び Cmax）は、2～10 mg/kg/週の範囲において用量に比例して増加した。これらのデータについては、2.6.4.3.3.3 で詳細に考察する。

免疫原性を評価するために、投与前、試験 5 及び 14 週に採取した試料を用いてブリッジング ECLIA 法により ADA を測定した。全投薬群において、試験 5 週に半数以上の動物で

ADA が検出された。試験 14 週に影響がみられた動物数は概して少なかった。2 mg/kg/週皮下投与群の雌全例において、試験 4 週から曝露量の減少がみられ、試験 5 週（最初の評価時点）に ADA が検出されたことから、ADA がこれらの雌における毒性評価に影響を及ぼしたと考えられた。2 mg/kg/週皮下投与群以外の群においても数例で ADA による曝露量の減少がみられたが、その他の動物では十分な曝露量が得られ、また、投薬に関連する変化がみられた動物数が十分であったことから、これらの群の毒性評価に際しては ADA による影響はみられなかったと考えられる。

途中死亡は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的所見、心電図（定性及び定量）所見、尿検査パラメータ、サイトカイン、免疫フェノタイピング、器官重量及び剖検所見に投薬に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、皮下投与部位に投薬に関連した変化がみられ、2 mg/kg/週以上の皮下投与群で軽微なマクロファージ空胞化、並びに 10 mg/kg/週皮下投与群の雄及び 2 mg/kg/週皮下投与群の雌で軽微～軽度の血管周囲単核細胞浸潤が認められた。

臨床病理学的検査では、試験 5 週及び／又は試験 8 週に 2 又は 10 mg/kg/週皮下投与群又は 40 mg/kg/週静脈内投与群の各動物において好中球数の低値（投与前値の 0.14 倍）、並びに 10 mg/kg/週皮下投与群の雌 1 例で単球数の高値（投与前値の 14.0 倍）がみられ、また、試験 5 週に 10 mg/kg/週皮下投与群又は 40 mg/kg/週静脈内投与群の各動物においてフィブリノゲンの高値（投与前値の 2.0 倍）、C-反応性蛋白の高値（投与前値の 25 倍）及び／又はアルブミンの低値（投与前値の 0.65 倍）が認められた。単球数、フィブリノゲン及び C-反応性蛋白の高値、並びにアルブミンの低値は炎症反応と一致し、試験 14 週では、いずれの用量及び投与経路においてもこれらの変化は認められなかった。また、試験 5 週に IgG の高値がみられ、その値は基準範囲上限値と比較して、2 mg/kg/週皮下投与群では 1.1～1.4 倍、10 mg/kg/週皮下投与群では 1.2～1.5 倍及び 40 mg/kg/週静脈内投与群では 1.2～2.1 倍であった。試験 5 及び 14 週には IgM の低値がみられ、その値は各動物における投与前値と比較して、試験 5 及び 14 週に 2 mg/kg/週皮下投与群の雄ではそれぞれ 0.3～0.7 倍及び 0.1～0.6 倍、10 mg/kg/週皮下投与群ではそれぞれ 0.1～0.9 倍及び 0.2～0.8 倍、40 mg/kg/週静脈内投与群ではそれぞれ 0.2～0.8 倍及び 0.1～0.4 倍であった。

上記の GSK2857914 に関連したすべての影響は、程度は弱くかつ一過性であり、全身性炎症と一致する病理組織学的変化を伴っていなかったことから、悪影響ではないと考えられた。これらの結果に基づき、無毒性量は皮下投与で 10 mg/kg/週（試験 13 週における GSK2857914 の雌雄合算平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 11.2 mg.h/mL 及び 0.0933 mg/mL）、静脈内投与では 40 mg/kg/週（試験 13 週における GSK2857914 の雌雄合算平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 75.5 mg.h/mL 及び 1.17 mg/mL）と推定された。

表 2.6.6.5 反復投与毒性試験に用いた被験物質のロット一覧

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (Strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Repeat Dose	Rat (Wistar Han)	ADC	3 Weeks (once weekly)	2013N174857 (R30467G)	0.3, 1, 3	A
[redacted]	Repeat Dose	Monkey (cynomolgus)	ADC	3 Weeks (once weekly)	2013N158643 (P70260G)	0.25, 0.75, 2.5	A
[redacted]	Repeat Dose	Rat (Wistar Han)	ADC	13 Weeks (once every 3 weeks)	2018N374327 (R32025G)	0.3, 1, 3	C
[redacted]	Repeat Dose	Monkey (cynomolgus)	ADC	13 Weeks (once weekly)	2018N375127 (P71346G)	0.25, 0.75, 2.5	C
[redacted]	Repeat Dose	Rat (Sprague Dawley)	cys-mcMMAF	5 Days	2013N177527 (1019-010)	0.2, 1.0, 2.0	PBS pH 7.2
[redacted]	Repeat Dose	Monkey (cynomolgus)	cys-mcMMAF	5 Days	2013N177530 (1019-009)	0.25, 1.0, 2.5	PBS pH 7.2
[redacted]	Repeat Dose	Monkey (cynomolgus)	MAB	4 Weeks (once weekly)	2012N150466 (P70204G)	2.5, 7.5, 25	B
[redacted]	Repeat Dose	Monkey (cynomolgus)	MAB	13 Weeks (once weekly)	2023N536587 P73042G	1, 5, 10	B

Note:
The material used for nonclinical and clinical batches are representative of each other.

Key:
EDTA = Edetate disodium dihydrate.
PBS = Phosphate Buffered Saline.

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

A: 25 mM Citrate Buffer containing 0.05 mM EDTA, 200 mM Trehalose, 0.02% Polysorbate 80 in water (pH 6).
B: [redacted]
C: 25 mM Citrate Buffer containing 0.05 mM EDTA, 200 mM Trehalose, 0.02% Polysorbate 80 in water (pH 6.2).

2.6.6.4. 遺伝毒性試験

ベランタマブ　マホドチンは、その作用機序から遺伝毒性を示すことが予想されるため標準的な一連の遺伝毒性試験を実施しなかったが、染色体構造異常／異数性の誘発能の有無を評価するためにヒトリンパ球を用いた in vitro 小核試験を実施した。また、cys-mcMMAF の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験を実施した。In vitro 試験では、標準的な細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）により変異原性の有無を評価し、哺乳類細胞を用いるマウスリンフォーマ TK 試験により遺伝毒性を評価した。これらの試験は、代謝活性化系（ラット肝 S9-mix）の存在下及び非存在下で適切な陰性対照（媒体）及び陽性対照を用いて実施した。In vivo 試験については、ラットを用いた静脈内投与による小核試験を実施し、染色体構造異常／数的異常誘発能を評価した。更に、ベランタマブ　マホドチン［ベランタマブ　マホドチンの活性部分である mcMMAF（SGD-1269）を含む］の合成経路を基に遺伝毒性不純物が原薬又は製剤に含まれる可能性について評価した。

主要な試験は、GLP を遵守して実施した。実施した遺伝毒性試験の一覧を GLP 適用状況及び本申請資料内におけるモジュール番号とともに表 2.6.6.6 に示す。各試験成績の概略表を 2.6.7-Table 8.1～8.3 及び Table 9.1 に示す。

すべての試験は、国際的に認められバリデートされた方法を使用し、英国環境変異原学会（UKEMS）変異原性試験ガイドライン小委員会の一般原則（パート 1、1983；パート I 改訂、1990 及び／又はパート II、1984）に従って実施した。

本項に記載した試験では、ベランタマブ　マホドチン又は cys-mcMMAF を用いて実施した。これらの試験で使用したベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF のロット一覧及び媒体に関する情報を表 2.6.6.7 に示す。

表 2.6.6.6 遺伝毒性試験の一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Bacterial Mutation (Ames) assay	S. typhimurium E. coli	NA	In vitro	cys-mcMMAF	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	[redacted]	2019N406489 (AE01BX.502ICH.BTL)	m4.2.3.3.1
Mouse lymphoma assay	L5178Y TK$^{\pm}$ cells	NA	In vitro	cys-mcMMAF	0.475 to 16.9 µg/mL[b]	NA	Yes	[redacted]	2019N406496 (AE01BX.704ICH.BTL)	m4.2.3.3.1
In vitro micronucleus	Human. peripheral blood lymphocytes	NA	In vitro	ADC	577 µg/mL[c]	NA	No	GSK	2019N416146 (hVMNT56)	m4.2.3.3.1
Micronucleus test	Rat (SD)	5M[a]	IV (bolus)	cys-mcMMAF	10, 17.5 and 25	Single	Yes	[redacted]	2019N406497 (AE01BX.125M012ICH.BTL)	m4.2.3.3.2

Key:
a = 5 animals/group were sampled 24 hours following a single dose, an additional 5 animals (control and 25 mg/kg groups only) were sampled 48 hours following a single dose.
b = Concentration range specified includes only those analyzed for mutation frequency.
c = Concentration range specified includes only those analyzed for induction of micronuclei.
IV = Intravenous; NA = Not applicable; SD = Sprague-Dawley

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GSK plc, formerly GlaxoSmithKline.

2.6.6.4.1. In vitro 試験

2.6.6.4.1.1. 非哺乳類細胞系

2.6.6.4.1.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株）及び大腸菌（WP2 *uvrA* 株）を用いて、S9-mix の存在下及び非存在下で cys-mcMMAF の復帰突然変異誘発能の有無を検討した（GLP 適用、2019N406489、4.2.3.3.1）。試験では、適切な陰性対照（媒体）及び陽性対照（既知の変異原物質）群を設けた。いずれの検討においても陽性対照群で復帰変異コロニー数の明らかな増加が認められたことから、当該試験の妥当性が確認された。被験物質の調製及び希釈には、ジメチルスルホキシド（DMSO）を使用した。DMSO 中で cys-mcMMAF は 0.50～5.0 mg/mL の濃度で澄明な溶液を呈し、15～50 mg/mL の濃度では懸濁液として使用可能であった。適切な濃度範囲を設定するために予備検討を実施して細胞毒性を評価した後、標準的なプレート法を用いて試験を実施した結果、被験物質の沈殿及び細胞毒性は認められなかった。試験成績の概略を 2.6.7-Table 8.1～8.3 及び Table 9.1 に示す。

いずれの菌株においても、S9-mix の有無にかかわらず、cys-mcMMAF は 5000 µg/プレートまでの濃度で変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.1.2. 哺乳類細胞系

2.6.6.4.1.2.1. マウスリンフォーマ TK 試験

マウスリンパ腫培養細胞（LY5178Y $tk^{+/-}$）を用いて、96 ウェルのマイクロタイタープレートにより tk 遺伝子座に対する cys-mcMMAF の遺伝子突然変異誘発能を検討した（GLP 適用、2019N406496、4.2.3.3.1）。確立された in vitro 遺伝子突然変異試験法を用いて実施した。試験では、cys-mcMMAF を DMSO に溶解させ希釈した溶液を使用した。適切な濃度範囲を確認するために予備検討を実施して細胞毒性を評価した。主試験では、S9-mix の非存在下及び存在下で 4 時間処理並びに S9-mix の非存在下で 24 時間処理を行った。すべての検討に適切な媒体対照及び陽性対照を設けた。すべての陽性対照及び媒体対照の値は許容範囲内であり、当該試験の妥当性が確認された。試験成績の概略を 2.6.7-Table 8.2 に示す。

突然変異頻度（MF）評価における濃度は、5.34、9.49、12.7 及び 16.9 µg/mL（S9-mix 存在下の 4 時間処理）、4.0、7.12、12.7 及び 16.9 µg/mL（S9-mix 非存在下の 4 時間処理）並びに 0.475、1.27、1.69、2.25 及び 3 µg/mL（S9-mix 非存在下の 24 時間処理）とした。相対総増殖率（RTG）は、22%～79%（S9 存在下の 4 時間処理）、14%～85%（S9 非存在下の 4 時間処理）及び 14%～95%（S9 非存在下の 24 時間処理）であった。いずれの処理条件下においても、10^6 個のクローン細胞あたりの突然変異体の出現頻度が 90 以上の MF 増加は認められなかった。

本試験の条件下において、cys-mcMMAF は遺伝毒性を示さなかった。Cys-mcMMAF は、5.34～16.9 µg/mL（S9 存在下の 4 時間処理）、4～16.9 µg/mL（S9-mix 非存在下の 4 時間処理）及び 0.475～3 µg/mL（S9-mix 非存在下の 24 時間処理）の濃度で、用量依存的な MF 増加及びクローン細胞 10^6 個あたり 90 以上の突然変異体の増加を誘発しなかった。

2.6.6.4.1.2.2. 培養ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験

ベランタマブ　マホドチンの染色体構造異常／異数性の誘発能を評価するために、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 小核試験を実施した（GLP 非適用、2019N416146、4.2.3.3.1）。本試験は、確立された in vitro のほ乳類細胞を用いる小核試験法に基づき実施した。本試験では、サイトカラシン B で処理して生じる二核細胞を観察対象とした。被験物質は、ベランタマブ　マホドチン（最大 577 µg/mL）を、0.05 mM EDTA、200 mM トレハロース及び 0.02%ポリソルベート 80（pH 6.2）添加 25 mM 水性クエン酸緩衝液を用いて調製した。検討では、細胞を S9-mix 非存在下で 24 時間処理した後に回復期間を設けない試験と 24 時間の回復期間を設ける試験をそれぞれ独立して実施した。すべての検討に適切な媒体対照及び陽性対照を設定した。すべての陽性対照及び媒体対照の値は許容範囲内であり、当該試験の妥当性が確認された。試験成績の概略を 2.6.7-Table 8.3 に示す。

S9-mix 非存在下でベランタマブ　マホドチンを 24 時間処理した結果、24 時間の回復期間の有無にかかわらず、577 µg/mL の濃度で細胞毒性（サイトカラシン B 増殖指数を指標とする）が認められなかったことから、小核の解析ではこの濃度を選択した。S9-mix 非存在下 24 時間処理後に 24 時間回復期間を設けた試験では、577 µg/mL の濃度で、小核を有する二核細胞の統計学的に有意な増加（$p<0.05$）がみられ、発現頻度は試験施設の背景データの範囲（95%信頼区間 0.26%～0.75%）を上回っていたことから、本試験結果は陽性と判断された。

S9-mix 非存在下 24 時間処理後に回復期間を設けなかった試験では、小核を有する二核細胞の統計学的に有意（$p<0.05$）な増加がみられたが、発現頻度は試験施設の背景データの範囲（95%信頼区間 0.08%～1.26%）内であった。評価基準に従い、本試験結果は陰性と判断された。

ベランタマブ　マホドチンは、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験において、S9-mix 非存在下の 24 時間処理及び 24 時間回復期間後に遺伝毒性を示した。

2.6.6.4.2. In vivo 試験

2.6.6.4.2.1. ラットを用いる in vivo 小核試験

雄の SD ラットに 0（媒体：PBS）、10、17.5 又は 25 mg/kg の cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与し、多染性赤血球（PCE）に染色体構造異常及び／又は異数性を誘発する可能性について評価した（GLP 適用、2019N406497、4.2.3.3.2）。本試験の用量は、先に実施した一般毒性試験成績（cys-mcMMAF 単回投与による HNSTD は 25 mg/kg）に基づいて設定した。最高用量の設定については、約 5 mg/mL（5 mL/kg の投与容量で 25 mg/kg の投与が可能となる濃度）の濃度で認められた pH 低下により制限を受けた。Cys-mcMMAF の一般毒性試験で性差はみられなかったことから、本試験では雄のみを使用した。媒体対照群及び 25 mg/kg 群（各時点各群 5 匹）では投与 24 及び 48 時間後、10 及び 17.5 mg/kg 群（各群 5 匹）では投与 24 時間後、シクロホスファミドを単回経口投与した陽性対照群（5 匹）では投与 24 時間後、動物を安楽死させた。その後、採取した大腿骨より骨髄塗抹標本を作製し、各個体 PCE1000 個あたりの正染性赤血球（NCE）を計数し、PCE：NCE 比を算出した。ま

た、各個体 2000 個以上の PCE について小核の有無を観察した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 9.1 に示す。

Cys-mcMMAF 群では媒体対照群と比較して PCE：総赤血球比の明らかな低下はみられなかったことから、cys-mcMMAF には骨髄細胞毒性はないことが示された。検討したいずれの用量においても、ラット骨髄で観察された小核を有する PCE の発現頻度に統計学的に有意な増加はみられなかった。

本試験の条件下において、最大 25 mg/kg の cys-mcMMAF をラットに投与した結果、陰性と判断された。

2.6.6.4.3. 遺伝毒性不純物の経路評価

ICH M7 及び ICH S9 の原則に従い、原薬及び製剤中に変異原性不純物が存在する可能性についてベランタマブ　マホドチンの合成経路をもとに評価した［評価の対象には、mcMMAF（SGD-1269）の製造、結合プロセス及び製剤の医薬品添加物と低分子不純物との相互作用の可能性も含む］。その結果、ベネフィット／リスクを考慮した場合に、対象患者集団において許容されない濃度で最終原薬中に存在する可能性がある既知又は潜在的な変異原性不純物（Ames 試験、Derek 及び／又は Leadscope モデルにより評価）は認められなかった。

製造工程におけるその他の工程関連及び製剤関連の不純物については、2.6.6.8 で考察する。

表 2.6.6.7 遺伝毒性試験に用いた被験物質のロット一覧

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Bacterial Mutation (Ames) assay	S. typhimurium E. coli	cys-mcMMAF	NA	2019N406489 (AE01BX.502ICH.BTL)	0.5 to 50	DMSO
[redacted]	Mouse lymphoma assay	L5178Y TK$^{+/-}$ cells	cys-mcMMAF	NA	2019N406496 (AE01BX.704ICH.BTL)	0.0475 to 3.0	DMSO
[redacted]	In vitro micronucleus	Human, peripheral blood lymphocytes	ADC	NA	2019N416146 (hVMNT56)	1 to 57.7	Buffer[a]
[redacted]	Micronucleus test	Rat (SD)	cys-mcMMAF	Single	2019N406497 (AE01BX.125M012ICH.BTL)	2.0, 3.5, 5.0	PBS

Note: The material used for nonclinical and clinical batches are representative of each other.

Key:
a = 25 mM aqueous citrate buffer containing 0.05 mM EDTA, 200 mM Trehalose and 0.02% Polysorbate 80 (pH 6.2).
DMSO = Dimethyl sulfoxide; NA = Not applicable; PBS = Phosphate Buffered Saline; SD = Sprague-Dawley.

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].

2.6.6.5. がん原性試験

ベランタマブ　マホドチンは再発又は難治性の多発性骨髄腫患者の治療を目的としており、進行がん患者に対する治療を目的とする医薬品についてはがん原性試験の実施は必須ではないとされている[ICH, 1995; ICH, 2009]ことから、ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF のがん原性を評価するための試験は実施しなかった。また、非臨床動物モデルにおいて、GSK2857914 はサルのみに薬理活性を示すが、cys-mcMMAF はげっ歯類でのみ薬理活性を示すため、抗薬物複合体であるベランタマブ　マホドチンのがん原性を評価するための適切なモデルは存在しない。

13 週間反復投与毒性試験（12 週間の休薬期間を含む）では、ラット及びサルのいずれにおいても増殖性変化及び前腫瘍病変は認められなかった（2.6.6.3.2.1.2 及び 2.6.6.3.2.2.2）。これらの試験の概要表を、それぞれ 2.6.7-Table 7.2 及び Table 7.4 に示す。

2.6.6.6. 生殖発生毒性試験

ベランタマブ　マホドチンは進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍薬であり、分裂の速い細胞、特に骨髄細胞を標的としている。そのため、胚・胎児発生への影響や催奇形性が予想されることから、ベランタマブ　マホドチンを用いた生殖発生毒性試験は実施しなかった[ICH, 2009]。

ベランタマブ　マホドチンの雌雄生殖器に対する影響（組織学的評価）をラット及びサルの反復投与毒性試験（2.6.6.3.2.1 及び 2.6.6.3.2.2）において評価した。各試験の概略を、それぞれ 2.6.7-Table 7.1、Table 7.2 及び Table 7.4 に示す。

ラットを用いた反復投与毒性試験結果から、ベランタマブ　マホドチン投与により雌雄の生殖機能及び受胎能に影響を及ぼす可能性が示唆された。13 週間（3 週間に 1 回）反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/回以上の群の雄全例の精巣において、重度の精細管変性／萎縮及び精巣上体の無精子が認められた。関連する剖検所見として精巣の軟化、変色及び小型化がみられ、精巣重量低値も認められた。休薬期間終了後、30 mg/kg/回群では投与期間終了時よりも顕著な精細管変性／萎縮がみられ、無精子も引き続き認められ、30 mg/kg/回群で観察された所見に回復性は認められなかった。10 mg/kg/回群でも、精細管変性／萎縮の程度は投与期間終了時と同程度であり、無精子が継続して認められた。しかし、1 例においては、精細管変性の程度が中等度に軽減しており、明らかな精子形成がみられ、精巣上体に精子が観察された。このことから、10 mg/kg/回群で観察された所見については、回復性が示唆された。3 週間（週 1 回）反復静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg/週群を対象に実施した精子形成ステージング評価において、投薬に関連する変化は認められなかった。3 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/週群の雄ラットの乳腺でみられた上皮単細胞壊死は、13 週間反復投与毒性試験では小葉萎縮に進行しており、本所見は小葉の小型化及び小葉数の減少並びに小葉上皮細胞の大きさの減少を特徴とする所見として 10 mg/kg/回以上の群の雄で観察された。また、3 週間（週 1 回）投与試験では、30 mg/kg/週群の雌数例及び 10 mg/kg/週群の雌 1 例において、卵巣の巣状又は多巣性の黄体化未破裂卵胞が認められた。サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（性的に未成熟のサルを使用）においても、10 mg/kg/週のベランタマブ　マ

ホドチンの週 1 回、計 5 回投与により、軽微～軽度の精細管変性がみられたが、12 週間の休薬により本所見は完全に回復した。

2.6.6.7. 局所刺激性試験

2.6.6.7.1. ベランタマブ　マホドチン

ベランタマブ　マホドチンの局所刺激性を評価するための独立した試験は実施しなかったが、ラット及びサルの一般毒性試験における投与部位の一般状態観察及び病理組織学的検査の結果を基に評価した（2.6.6.2.2 及び 2.6.6.3.2）。各試験成績の概略を、それぞれ 2.6.7-Table 5.1 及び Table 5.2 並びに Table 7.1～Table 7.4 に示す。

ラット単回静脈内投与毒性試験では、30 mg/kg 以上のベランタマブ　マホドチンを 5 又は 6 mL/kg の投与容量（濃度は 6 及び 16.1 mg/mL）で静脈内ボーラス投与したところ、投与部位に単細胞壊死を伴う軽度の表皮過形成及び炎症細胞浸潤を伴う軽度の骨格筋変性／壊死が認められた（2.6.6.2.2.1）。10 mg/kg 群（濃度は 2 mg/mL）では雌雄各 1 例で軽微な炎症細胞浸潤も認められた。ラット 3 週間静脈内反復投与毒性試験では、10 mg/kg/週以上のベランタマブ　マホドチンを 10 mL/kg の投与容量（濃度は 1 及び 3 mg/mL）で尾静脈内に 10 分間点滴静注（生理食塩液によるカテーテルの洗浄なし）したところ、投与部位に限局性の表皮過形成がみられたが、本所見に関連した一般状態の変化は認められなかった（2.6.6.3.2.1.1）。30 mg/kg/週群の雄 1 例では骨格筋の巣状変性／壊死も認められた。また、3 mg/kg/週以上（投与液濃度 0.3 mg/mL）の群では、投与部位における血管周囲炎症の発現頻度の高値がみられた。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、3 週間隔で 4 回、1 mL/kg/分の速度で尾静脈へ 10 分間点滴静注（濃度は 0.3、1 及び 3 mg/mL）し、投与後にカテーテルを 0.3 mL の生理食塩液でフラッシングしたところ、投与部位に投薬に関連した変化は認められなかった（2.6.6.3.2.1.2）。

サル単回静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg 以上のベランタマブ　マホドチンを 0.186～1.86 mL/kg の種々の投与容量（濃度は 16.1 mg/mL）で静脈内ボーラス投与したところ、投与部位に皮膚の青あざ及び／又は発赤並びに軽微～中等度の皮下炎症を伴う軽微～軽度の出血がみられ、皮下炎症は、壊死、多核化及び有糸分裂像が散見されるリンパ球及び大型組織球／線維芽細胞を含む混合性炎症細胞浸潤並びに／又は線維化を特徴としていた（2.6.6.2.2.2.1）。30 mg/kg 群の雌では表皮扁平上皮過形成も認められた。サルの 3 週間及び 13 週間反復静脈内投与毒性試験において、1、3 及び 10 mg/kg のベランタマブ　マホドチンを 4 mL/kg の一定の投与容量（濃度はそれぞれ 0.25、0.75 及び 2.5 mg/mL）で伏在静脈、上腕静脈及び／又は尾静脈内に反復ボーラス投与したところ、投与部位に投薬に関連した変化は認められなかった（2.6.6.3.2.2.1 及び 2.6.6.3.2.2.2）。

2.6.6.7.2. Cys-mcMMAF

Cys-mcMMAF の局所刺激性を評価するための独立した試験は実施しなかったが、ラット及びサルの反復投与毒性試験において cys-mcMMAF の局所刺激性を評価した（2.6.6.3.3.1.1 及び 2.6.6.3.3.2.1）。各試験成績の概略を、それぞれ 2.6.7-Table 7.5 及び Table 7.6 に示す。

サルでは、全投薬群の投与部位／後肢に皮膚の退色が認められたが、処置（静脈内投与）に関連するものであり、cys-mcMMAF によるものではないと考えられた。投与部位に投薬に関連した影響は認められなかった。

2.6.6.7.3. GSK2857914（ベランタマブ）

GSK2857914 の局所刺激性を評価するための独立した試験は実施しなかったが、サルの 4 及び 13 週間反復投与毒性試験における投与部位の一般状態観察及び病理組織学的検査の結果を基に評価した（2.6.6.3.4.1.1 及び 2.6.6.3.4.1.2）。試験成績の概略を 2.6.7-Table 7.7 及び 7.8 に示す。

サル 4 週間反復静脈内投与試験では、10 mg/kg/週群の雄 1 例で、投与部位に限局性の硬い皮下肥厚が認められた。病理組織学的検査では、当該部位にフィブリン及び線維芽細胞増殖を伴う中等度の限局性貫壁性炎症を伴った中等度の血管内静脈血栓が認められた。
本所見と対照群を含む全群で数例に認められた軽微～中等度の限局性貫壁性線維化並びに 100 mg/kg/週群の雄 1 例でみられた慢性静脈血栓等の投与部位に観察されたその他の変化は、処置に関連するものであり、GSK2857914 との直接的な関連はないと考えられた。サル 13 週間反復静脈内投与試験では、高用量の 40 mg/kg/週群において投与部位に投薬に関連した組織学的変化は認められなかった。

2.6.6.8. その他の毒性試験

2.6.6.8.1. 緒言

ベランタマブ　マホドチンの毒性プロファイルをより詳細に検討するため、更なる毒性試験を実施した。GSK2857914 を用いた in vitro 及び ex vivo 試験を実施して免疫毒性を評価し、ex vivo 試験によりベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の組織交差反応性を検討した。また、臨床で認められた角膜事象の発現機序の理解を深めるために、ウサギを用いたベランタマブの静脈内投与による忍容性及び眼毒性試験を実施した。

本項には、市販予定製剤と非臨床試験で使用した製剤の同等性及び不純物に関する考察も含む（2.6.6.8.9 及び 2.6.6.8.10）。免疫毒性の可能性についても詳述する（2.6.6.8.3）。免疫原性は種々の毒性試験により評価し、考察した（2.6.6.8.2）。

主要な試験は、いずれも GLP を完全に遵守して実施した。

ベランタマブ　マホドチン、GSK2857914、cys-mcMMAF 及び MMAE のロット一覧を媒体に関する情報と共に表 2.6.6.9 に示す。実施した試験の一覧を GLP 適用状況及び本申請資料におけるモジュール番号とともに表 2.6.6.8 に示す。各試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.1～17.15 に示す。

表 2.6.6.8 その他の毒性試験の一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/week) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Cytokine release assessment	Human PBMCs; and NCI-H929 cell line	NA	Ex vivo/in vitro	MAB	0.1 to 10 µg/mL	NA	No	GSK	2013N173704 (V70385N)	m4.2.3.7.2
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 577 µg/mL	NA	No	GSK	2019N410330 (N70517-1)	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2020N437131	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 5 donors	In vitro	cys-mcMMAF	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2021N478152	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 6 donors	In vitro	cys-mcMMAF, MMAE	Up to 50 µg/mL	NA	No	GSK	2022N506460	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2022N507716	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 5 donors	In vitro	ADC	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2023N528622	m4.2.3.7.3
Concentration range finding	Human HCEC and RPTEC	Up to 6 donors	In vitro	MAB	Up to 10 mg/mL	NA	No	GSK	2022N508021	m4.2.3.7.3
Transcriptomics	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2022N502360	m4.2.3.7.3

表 2.6.6.8 その他の毒性試験の一覧（続き）

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/week) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (NZW)	3F	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 4 weeks[a]	No	GSK	2018N385412[c] (L32295N)	m4.2.3.2
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (DB)	6F	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 7 weeks[b]	No	GSK	2021N465838[c] (L71822N)	m4.2.3.2
Tissue Cross Reactivity	Human cell lines and human/ cynomolgus monkey tissues	NA	Ex vivo	ADC, MAB	Up to 10 µg/mL	NA	No	GSK	2013N169796 (V29775)	m4.2.3.7.7
Tissue Cross Reactivity	Human, tissues	3 donors/ tissue	Ex vivo	ADC	2.5, 5 and 10 µg/mL	NA	Yes	[redacted]	2013N176627 (V30497G)	m4.2.3.7.7

Key:
a = Animals were dosed once weekly for either two (0 or 30 mg/kg/week) or four weeks (0, 15 or 30 mg/kg/week).
b = Animals received a dose of 30 mg/kg once weekly for the first four doses and 15 mg/kg once weekly thereafter (total 7 doses).
c = The report for this study has been placed in m4.2.3.2 rather than m4.2.3.7.3 for administrative purposes only.
DB = Dutch Belted; HCEC = Human corneal epithelial cells; IV = Intravenous; NA = Not applicable; NZW = New Zealand White; PBMC = Peripheral blood mononuclear cells; RPTEC = Renal proximal tubule epithelial cells.

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GSK plc, formerly GlaxoSmithKline.

2.6.6.8.2. 免疫原性

抗ベランタマブ　マホドチン抗体の非臨床評価は、ヒトにおける潜在的な免疫原性の可能性を予測することを目的としたものではない[Bugelski, 2004]。バイオ医薬品のヒト化抗体はヒト以外の動物種にとって異種であるため、ヒト以外の動物種において免疫原性を示す可能性が高い。ベランタマブ　マホドチンの毒性プログラムの一部として免疫原性を評価し、ベランタマブ　マホドチンの毒性試験における曝露量評価を行い、悪影響が発現する可能性について検討した。ADA の検出法については 2.6.4.2 及び 2.6.4 の Appendix 1 に示す。ラット及びサルにおける免疫原性の比率に関する考察を、それぞれ 2.6.6.2.2、2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.4 に示す。

サルの 13 週間反復投与毒性試験において、1 mg/kg/週群の雄 1 例でベランタマブ　マホドチンに対する強力かつ特異的な抗体反応が認められた。本例では、高い抗体価（最大 12800）の ADA 及び免疫複合体が検出され、その結果、全身曝露量が減少し、薬力学的（IgM）活性が低下した。また、試験 11 及び 12 週の投与時の一般状態観察で過度の流涎が認められ、MCP-1 並びに補体フラグメント Bb 及び C3a の高値（試験 13 週の投与 1 時間後）がみられた。全例で低抗体価の ADA も検出され、3 又は 10 mg/kg/週群の一部の動物では免疫複合体も認められたが、曝露量及び薬力学的活性への影響は認められなかった。休薬期間中、3 及び 10 mg/kg/週群の各 2 例で遊離型 ADA 及び／又は免疫複合体が検出され、高い抗体価（800～8000）を示したが、休薬期間中に血中から薬物が消失するにつれて薬物-ADA 複合体が減少し、遊離型 ADA が検出されたことに起因するものと考えられた。ラット 13 週間反復投与毒性試験では、30 mg/kg/回群の雄 2 例で ADA 陽性が確認され、反復投与により免疫原性の増強が認められた。これらの動物では血漿中濃度の急速な減少が認められた。この用量では、別の雄 1 例においても休薬期間中に ADA 陽性が確認された。

ADA の存在による投与期間中の曝露量減少はみられず、ADA の発現例数が少なかったことから、3 及び 13 週間反復投与毒性試験では適切な毒性評価が行われたと考えられた。

2.6.6.8.3. 免疫毒性

2.6.6.8.3.1. In vitro ヒト末梢血単核細胞アッセイにおけるサイトカイン放出の評価

ヒト PBMC における GSK2857914 のサイトカイン放出能を評価するために、BCMA を発現するヒト多発性骨髄腫（MM）細胞株（NCI-H929）の存在下及び非存在下で in vitro 試験を実施した。別のアッセイでは、NCI-H929 細胞を用いて、GSK2857914 を抗ヒト IgG で架橋結合させて処理したときの BCMA を介した GSK2857914 のアゴニスト作用について、細胞内 NF-κB シグナルの活性化を測定することにより評価した（2013N173704、4.2.3.7.2）。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.1 に示す。

アッセイ対照：

抗ヒト CD3 抗体及び抗ヒト CD28 抗体を、サイトカイン誘導の陽性対照として使用した。Fc エフェクター機能を無効化したヒト化抗 BCMA 抗体（BCMA に結合したときの影響のみを評価するための比較対照として使用）及び BCMA に対する特異性のない脱フコシル化抗体（脱フコシル化には Potelligent 技術を使用、BCMA には結合しないがエフェクター細胞上

の FcγRIIIa に結合したときの影響のみを評価するための比較対照として使用）を陰性対照として使用した。可溶型遺伝子組換えヒト（rh）APRIL（増殖誘導リガンド）及び可溶型 rhBAFF1（B 細胞活性化因子）を、NCI-H929 細胞において NF-κB シグナル伝達を誘導するための陽性対照として使用した。

サイトカイン放出アッセイ：

ヒト全血から密度勾配遠心分離により PBMC を分離して、自家血漿を含有する培地中に 1.5 x 10^6 cells/mL となるよう再懸濁し、同等の細胞数の NCI-H929 標的細胞（エフェクター細胞：標的細胞＝1：1）の存在下及び非存在下で 96 ウェルプレートに添加した。細胞を GSK2857914（濃度は 0.1～10 μg/mL）、陰性対照の抗 BCMA Fc 無効化抗体若しくは非特異的 Potelligent 抗体（濃度は約 1 μg/mL）、又は抗 CD3 及び／若しくは抗 CD28 抗体（濃度は 10 μg/mL）により刺激した。24 時間インキュベート後、マルチプレックスビーズを用いるアッセイにより培養上清中 IL-6、IL-8、IL-10、IFN γ、TNF-α 及び MCP-1 濃度を測定した。

細胞内サイトカイン分析：

サイトカイン放出アッセイと同じ方法を用いてヒト PBMC を分離・培養した。単一濃度（1 μg/mL）の GSK2857914、又は Fc 無効化抗 BCMA 抗体若しくは非特異的 Potelligent 抗体を含む対照抗体で細胞を刺激した。約 10 μg/mL の抗 CD3 抗体を陽性対照として使用した。培養細胞を 6 時間又は 24 時間インキュベートした。培養開始時（6 時間刺激）又は約 18 時間培養後（24 時間刺激）のいずれかに、モネンシン（最終濃度は 2 μM）含有の BD GolgiStop™蛋白輸送阻害剤を添加して合計 6 時間培養した。培養後、IFN-γ、TNF-α 又は IL-8 を発現する NK 細胞、CD4 及び CD8 リンパ球、単球並びに NCI-H929 細胞の割合を、細胞内サイトカイン染色及びフローサイトメトリーにより解析した。

サイトカイン放出アッセイ及び細胞内サイトカイン分析のいずれにおいても、NCI-H929 細胞のみを GSK2857914 及び適切な対照抗体とともにインキュベートした。Luminex によるサイトカイン誘導の評価及びフローサイトメトリーによる NCI-H929 細胞枯渇の評価に際しては、NCI H929 細胞を並行培養した。

アゴニスト作用アッセイ：

NCI-H929 細胞を用いて BCMA を介した GSK2857914 のアゴニスト作用の有無について、GSK2857914 を単独又は抗ヒト IgG と架橋結合させて処理したときの NF-κB シグナルの活性化を測定することにより評価した（Phospho-NF-kB（Ser536）Assay Whole Cell Lysate Kit を使用）。0.1～10 μg/mL の GSK2857914 又は対照抗体（Fc 無効化抗 BCMA 抗体；非特異的 Potelligent 抗体）で細胞を 1 時間インキュベートした。可溶型 rhAPRIL（0.3 μg/mL）及び可溶型 rhBAFF（0.6 μg/mL）を陽性対照として使用した。インキュベーション後、細胞を溶解して得られた全細胞溶解物を NF-κB シグナルの活性化の測定に供した。

GSK2857914（最大 10 μg/mL）は、NCI-H929 細胞非存在下においてヒト PBMC からのサイトカイン放出を誘導しなかった。また、PBMC 非存在下で NCI-H929 細胞を GSK2857914

で刺激したところ、IL-10 のわずかな高値を除いてサイトカイン放出は認められなかった。一方、PBMC を NCI-H929 細胞と共培養したところ、GSK2857914 の 0.1 μg/mL 以上の濃度で IL-8、IFN-γ 及び TNF-α の誘導がみられた（非刺激対照と比較してそれぞれ 21.5 倍、39.5 倍及び 23.8 倍）。GSK2857014 刺激培養細胞の細胞内サイトカイン染色の結果から、IFN-γ 及び TNF-α は主に NK 細胞及び一部は CD8+細胞より産生され、IL-8 は単球により産生されることが示された。これらのデータから、in vitro での顕著なサイトカイン放出には標的細胞及びエフェクター細胞のいずれも必要であること、また、本アッセイの条件下では、エフェクター細胞からサイトカインが放出されることが示された。しかし、NF-κB 活性化の増加を指標とした評価において、GSK2857914 を抗ヒト IgG 抗体と架橋結合させたところ、NCI-H929 細胞内の BMCA シグナルの増強がみられたことから、GSK2857914 は BCMA 陽性標的細胞に対するアゴニスト活性にも影響を及ぼす可能性があると考えられる。

2.6.6.8.3.2. 免疫フェノタイピング及び in vivo サイトカイン変化

免疫フェノタイピング：

免疫機能に対する影響を、ベランタマブ　マホドチンのサルを用いた単回投与薬理試験（2.6.2.2.5）及びサルの反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.4）において評価した。NK 細胞の絶対数及び／又は相対比率低値が 3 mg/kg/週以上の群でみられ、10 mg/kg/週群では完全又は一部回復したが、3 mg/kg/週では回復が認められなかった。このことはベランタマブ マホドチンの殺細胞作用に一致している。サル 3 週間反復投与毒性試験でのみ、10 mg/kg/週において総 B 細胞の小集団である活性化 B 細胞の絶対数及び比率の軽微高値（最大 0.01 倍）が認められた。ベランタマブ　マホドチン投与後の T 細胞、CD4 及び CD8 T 細胞サブセット並びに NK T 細胞の絶対数及び比率には、投薬に関連した変化は認められなかった。

サイトカインの変化：

ベランタマブ　マホドチンのサル単回投与毒性試験では、30 mg/kg までの用量でサイトカイン変化及び体温への影響は認められなかった。ラットでは、10 mg/kg 以上の用量での単回投与後に、MCP-1、IL1β、IL-6 及び TNF-α 濃度の高値がみられたが、関連する体温変化及び一般状態の悪影響は認められなかった（2.6.6.2.2.2）。

ラット 13 週間反復投与毒性試験では、試験 13 週に 30 mg/kg/回群で TNF-α の高値（最大で 2.5 倍）、10 mg/kg/回以上の群で KC/GRO 高値（最大で 2.0 倍）が認められた（2.6.6.3.2.1）。サル 13 週間反復投与毒性試験では、10 mg/kg/週群において投薬に関連した MCP-1 の高値（最大で 4.4 倍）が、試験 4 週から試験 7 週の安楽殺時まで認められた（2.6.6.3.2.2）。MCP-1 の高値は試験 13 週にも 1 又は 3 mg/kg/週群の雄各 1 例でみられ（それぞれ最大 4.2 倍及び 1.5 倍）、補体フラグメント Bb 及び C3a の軽度の高値（1.2～1.9 倍）が 1 mg/kg/週群で認められた（3 mg/kg/週以上では測定せず）。

GSK2857914 の 4 週間反復投与毒性試験では、GSK2857914 の単回投与により、10 mg/kg 以上の群の一部のサルで、投与 6 時間後に血漿中 IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値が認められた。10 mg/kg/週以上の群の一部の動物において試験 15 日（投与前）及び 29 日に投与前値及び同時媒体対照群と比較して血漿中 IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値が認められ

た。2 回目及び 4 回目の投与後 1 週間までの時点で検出されたサイトカインの変動は、進行中の全身炎症反応の過程に関連している可能性が高く、体温上昇及び一般状態の変化を伴わなかった（2.6.6.3.4.1.1）。GSK2857914 の 2 及び 10 mg/kg/週を皮下投与並びに 40 mg/kg/週を静脈内投与した 13 週間反復投与毒性試験では、試験 5 週及び 14 週に全身炎症反応の減弱がみられ、サイトカインに対する影響は認められなかった（2.6.6.3.4.1.2）。

2.6.6.8.4. 毒性発現の機序に関する試験

2.6.6.8.4.1. In vitro 眼毒性試験

ベランタマブ　マホドチンがヒト角膜上皮細胞において細胞毒性を誘発する可能性を検討するため、3 種類の初代培養ヒト角膜上皮細胞（HCEC）株の特性評価（増殖、継代培養条件、遺伝子発現、IHC 検査及び電子顕微鏡検査）を行い、毒性発現の機序に関する試験に用いる細胞としての適切性について検証した。対照上皮細胞種として、初代培養ヒト腎近位腎尿細管上皮細胞（RPTEC）に対する限定的な特性評価も実施した（2019N410329、4.2.3.7.3）。特性解析により、毒性発現機序試験には角膜の前駆細胞に富む角膜辺縁領域由来及び角膜強膜辺縁由来の HCEC（それぞれ異なる供給業者から入手、サイトケラチン 3、ケラチン 12 及びサイトケラチン 19 に関する IHC 染色プロファイルにより確認）が適していると考えられた。また、定量的ポリメラーゼ連鎖反応分析により、BCMA が HCEC 及び RPTEC にほとんど、あるいは全く発現していないことを確認した。これらの結果を受け、HCEC 及び RPTEC を用いたベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を検討する in vitro 試験の実施に際し、最適な細胞の供給業者及び培養条件を選択することが可能となった。

HCEC におけるベランタマブ　マホドチンの細胞傷害誘発能及びそのために必要な取込み機序を検討するために、単離培養した初代培養 HCEC を用いて in vitro 試験を実施した（2019N410330、4.2.3.7.3）。対照上皮細胞種として、初代培養正常 RPTEC を使用した。抗体単独では細胞毒性を誘発しないことを示すために、陰性対照として GSK2857914 を使用した。比較対照とするチューブリン重合阻害薬としては、特性が明らかなビンカアルカロイドであるビンブラスチン硫酸塩[Fong, 2019]を用いた。また、ベランタマブ　マホドチンを介した細胞傷害作用におけるマクロピノサイトーシスの役割を検討するために、両細胞において非特異的な取込み経路を阻害する 5-(N-エチル-N-イソプロピル)アミロリド（EIPA）を用いた（2019N410330 及び 2020N437131、いずれも 4.2.3.7.3）。細胞毒性については、HCEC（3 例のドナー、48 及び 72 時間時点）及び RPTEC（1 例のドナーで 24 時間時点、3 例のドナーで 48 時間時点）において、MMAF の細胞死誘導経路であるアポトーシス（Caspase 3/7）及び細胞生存率（CellTiter-Blue）に対する影響をモニタリングすることにより評価した。更に、HCEC（1 例のドナー）及び RPTEC（3 例のドナー）を EIPA により 48 時間処理し、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性の発現に必要な取込み経路の機序を検討した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.2 に示す。

単離培養した初代培養 HCEC 及び RPTEC を用いた検討では、ベランタマブ　マホドチン処理により、濃度依存的にアポトーシスの顕著な増加が認められた（図 2.6.6.1）。このことは、mcMMAF が誘導すると考えられている細胞死の機序に一致している[Waight, 2016]。これらの影響は HCEC 及び RPTEC における複数のドナーのサンプルで認められ、48 時間処

理後に媒体対照群と比較してアポトーシスの著しい増加を誘導した最低濃度（GSK2857916 は HCEC で 30 µg/mL、RPTEC で 100 µg/mL）を評価したところ、HCEC は RPTEC よりも感受性が高い傾向がみられた。しかし、細胞生存率においては HCEC ではドナー間でのばらつきがより高く、HCEC 及び RPTEC に対する最小有効濃度（MEC）の差はわずかであった。また、いずれの細胞も信頼区間は重複していた［HCEC 及び RPTEC の MEC はそれぞれ 50.4 µg/mL（95% CI 16.0～202.0）及び 70.7 µg/mL（95% CI 32.2～100.3）］。

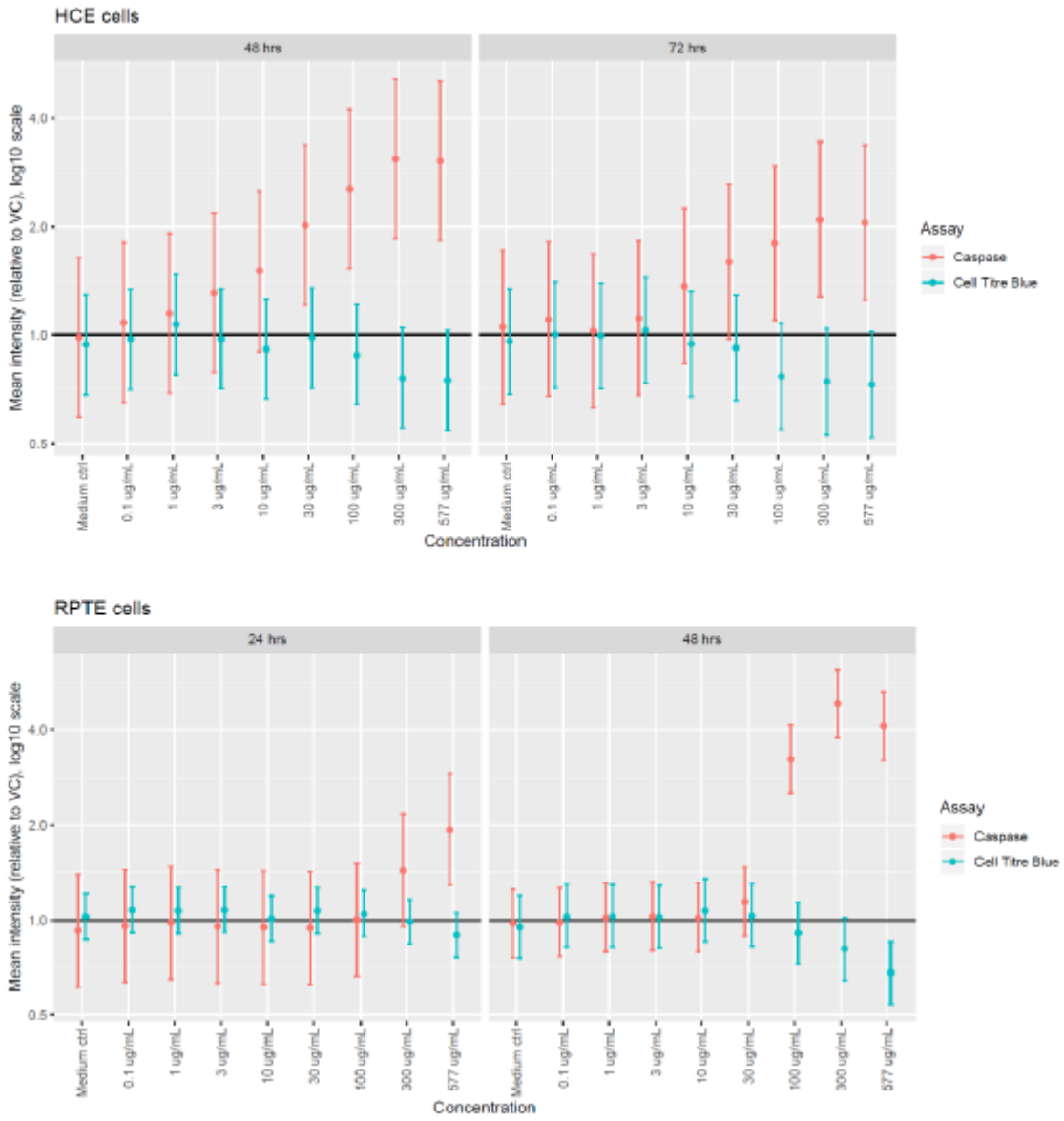


図 2.6.6.1　ベランタマブ　マホドチン処理後の HCEC 及び RPTEC における アポトーシス反応と細胞生存率の変化を示す相対平均強度プロット

マクロピノサイトーシス阻害剤である EIPA の存在下で実施した検討では、EIPA の前処理／併用処理により、RPTEC（3 例のドナー）においてベランタマブ　マホドチンによるア

ポトーシスの明らかな減少が認められ、HCEC（1 例のドナーで 3 回評価）でも同様の傾向がみられた（図 2.6.6.2）。GSK2857914 処理では、いずれの細胞種においても 48 時間後に明らかな細胞毒性（アポトーシス又は細胞生存率）は認められなかった。ビンブラスチン硫酸塩による処理では、アポトーシスへの影響はみられなかったが、HCEC（1 例のドナー）で細胞生存率の減少傾向が認められた。

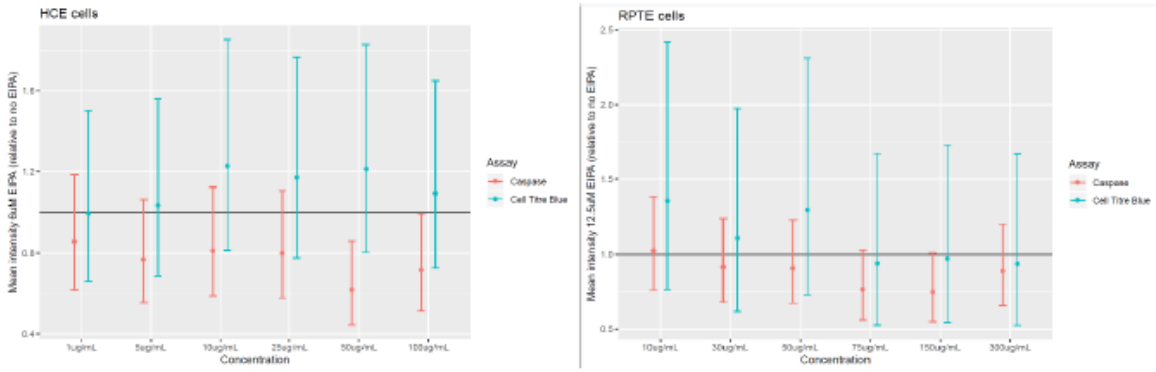


図 2.6.6.2　EIPA 前処理後にベランタマブ　マホドチンと併用処理した場合の HCEC 及び RPTEC におけるアポトーシス反応及び細胞生存率の変化を示す相対的平均強度プロット

以上、本試験でみられた影響は、微小管阻害後に生じるアポトーシスによる、ベランタマブ　マホドチンを介した細胞毒性と一致する。HCEC は RPTEC より感受性がわずかに高い傾向がみられたが、ドナー間にばらつきがみられることから、真の差であるか否かを判断するには更なる検討が必要と考えられた。HCEC 及び RPTEC に明らかな BCMA の発現は認められないことから（2019N410329、4.2.3.7.3）、この細胞毒性にはベランタマブ　マホドチンの非特異的な取込み経路が関与している可能性があると考えられた。EIPA の前処理／併用処理により、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシス誘導の明らかな減弱傾向がみられたことから、in vitro での HCEC 及び RPTEC におけるこの非特異的な取込みには、マクロピノサイトーシスが関与していることが示唆された。

マクロピノサイトーシス阻害剤である EIPA が、HCEC におけるベランタマブ　マホドチン（100 µg/mL までの濃度）を介した細胞毒性に及ぼす影響を確認するために、ドナーを追加し（3 例のドナーと 1 例のドナーでの評価を合わせた複合評価）、更なる試験を実施した（2020N437131、4.2.3.7.3）。検討に際しては、陰性対照として GSK2857914 及び比較対照のチューブリン重合阻害薬としてビンブラスチン硫酸塩を用いた。MMAF が細胞死を誘導する経路であるアポトーシスへの影響（Caspase 3/7）及び細胞生存率（CellTiter-Blue）を確認することにより、細胞毒性を評価した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.3 に示す。

EIPA の前処理／併用処理により、HCEC（4 例のドナー全例で 3 回目の継代時に 1 回評価）におけるベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの著しい減少が認められた。HCEC には BCMA の明らかな発現はみられていないことから、ベランタマブ　マホドチンの非特異的な取込み経路がこの細胞毒性に関与している可能性がある。EIPA の前処理／併

用処理によりベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの明らかな減少傾向が認められたことから、in vitro での HCEC におけるこの非特異的な取込みには、マクロピノサイトーシスが関与することが強く示唆される。

当該試験の結果は、先に実施した試験（2019N410329 及び 2019N410330、4.2.3.7.3）で得られた結果と一致しており、アポトーシスによるベランタマブ　マホドチンを介した細胞毒性が認められた。また、これらの試験では、マクロピノサイトーシス阻害剤である EIPA（12.5 µM 以上）の前処理／併用処理により、数例のドナーの HCEC において、10 µg/mL 以上のベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの明らかな減少が認められた。

バイオイメージング手法を用いた in vitro 試験（経時変化）により、ヒト細胞に蛍光標識したベランタマブ　マホドチンが取り込まれ、cys-mcMMAF が放出されていることを確認し、ナノ液体クロマトグラフィー／質量分析（nano-LC/MS）法を用いて生細胞の細胞質分画中の遊離型 cys-mcMMAF 量を測定した（2019N409936、4.2.2.3）。また、被験物質の存在下でマクロピノサイトーシスを遮断し、非特異的な取込み機構について検討した。これらのデータについては 2.6.4.4.1 で包括的に考察し、試験成績の概略を 2.6.5-Table 8.1 に示す。

HCEC 及び RPTEC に対して、マクロピノサイトーシスを介した取込みを含む、異なる取込み経路を阻害することが報告されている 5 種類の化合物［ワートマニン（400 nM）、イミプラミン（10 µM）及びフェノザイベンザミン（10 µM）；マクロピノサイトーシス阻害、ナイスタチン（100 µM）；カベオリン介在性エンドサイトーシス阻害並びにクロルプロマジン（10 µM）；クラスリン介在性エンドサイトーシス阻害］[Lin, 2018]を、ベランタマブ　マホドチンと併用処理した（2021N483916、4.2.2.3）。HCEC では、ナイスタチンとの併用処理により、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性（核の計数により測定）の減少がみられ、ベランタマブ　マホドチン対照群（109.8%）と比較して細胞数の高値が認められた。いずれの化合物も RPTEC におけるベランタマブ　マホドチンの細胞毒性に対して明らかな影響を及ぼさなかった。本検討に引き続き、これらの化合物のうち、クロルプロマジン（5 µM）、ナイスタチン（50 µM）及びイミプラミン（5 µM）の 3 種の化合物を併用処理した結果、HCEC では細胞生存率の増加（43%）が認められた（2022N506651、4.2.2.3）。RPTEC では、核の計数データから、複数の阻害剤を併用処理することにより細胞毒性が示された。更に、取り込み阻害薬の添加により、ベランタマブ　マホドチン処理後の細胞生存率に統計学的に有意な影響はみられなかった。これらのデータから、HCEC におけるベランタマブ　マホドチンの取り込みは複数のエンドサイトーシス経路が関与している可能性が示唆された。薬物動態に関する詳細は 2.6.4.4.1.2 に示す。

HCEC を過剰な免疫グロブリンで前処理／併用処理することにより、ベランタマブ　マホドチンの取り込みを競合的に減少させ、関連する細胞毒性を改善する作用についても検討した（2022N507716、4.2.3.7.3 及び 2023N528252、4.2.2.3）。

15 及び 20 mg/mL の IVIG（ドライアイ患者を対象に臨床的に検討された濃度[Jain, 2019]）の 48 時間以上の前処理／併用処理により、HCEC（3 例のドナー）ではベランタマブ　マホドチンの 50 µg/mL 以上の処理群においてアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少がみられた。HCEC では、EIPA の前処理／併用処理によって、IVIG 処理と比較して細胞毒性の軽減がみられた。しかし、それらの作用を示す機序は異なる。HCEC において最大 20 mg/mL

の濃度で IVIG を 72 時間処理しても細胞毒性はみられなかったが、GSK2857914 では 48 及び 72 時間処理により 2 mg/mL 以上の濃度で細胞毒性（細胞生存率及び細胞数の減少）がみられたため、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を改善するための競合的遮断薬として GSK2857914 の意義のある前処理／併用処理濃度について評価することはできなかった（2.6.7-Table 17.8、2022N508021、4.2.3.7.3）。また、HCEC では、100 µg/mL のベランタマブ　マホドチンを単独処理した HCEC と比較して、IVIG との併用処理によりベランタブマホドチンの細胞内取込みは最大 36%減少し（併用処理した Vivotag-680 標識ベランタマブマホドチンの細胞内蛍光シグナル強度を指標として）、細胞数は 23%増加した（2.6.7-Table 17.9、2023N528252、4.2.2.3）。

HCEC は、不均一な細胞集団から構成される（採取方法に基づく）。ベランタマブ　マホドチンにより最も影響される細胞種を特定するため、特にベランタマブ　マホドチンの細胞毒性に対する角膜輪部幹細胞の感受性を明らかにするために遺伝子発現解析（GeneChip 解析、Affymetrix）を実施した。しかし、この試験で実施した解析では、増殖性の小型の細胞集団と大型の扁平上皮細胞集団との間にトランスクリプトーム上の違いは特定されず、33 種類の角膜輪部幹細胞様マーカー[Gonzalez, 2018]を選択的に発現する細胞集団はみられなかった。また、ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 で処理した細胞集団では、3 ドナーすべてにおいて、両被験物質ともに最低濃度である 30 µg/mL を処理したときにみられた CTNNB1 のダウンレギュレーション及びベランタマブ　マホドチンの 30 µg/mL 以上を処理したときにみられた WDR74 のアップレギュレーションを除き、角膜輪部幹細胞様マーカー又はその他の遺伝子の発現に一貫した変化は認められなかった。更に、GSK2857914 で処理した HCEC と比較して、ベランタマブ　マホドチンで処理したほとんどの細胞集団において微小管関連遺伝子 TUBA1A のダウンレギュレーションが認められた（2.6.7-Table 17.11、2022N502360、4.2.3.7.3）。

HCEC 及び RPTEC を用いた in vitro 試験では、ベランタマブ　マホドチンが細胞膜上の BCMA 受容体発現とは関連性のない機序で細胞内に取り込まれることが示されたが、cys-mcMMAF の取り込みについては不明である。cys-mcMMAF による細胞毒性について、最大 6 例のドナーから採取された HCEC 及び RPTEC を用いた独立した 2 つの試験において評価した（2.6.7-Table 17.5、2021N478152、4.2.3.7.3 及び 2.6.7-Table 17.6、2022N506460、4.2.3.7.3）。HCEC 及び RPTEC における cys-mcMMAF の毒性プロファイルを検討したところ、RPTEC（10 及び 50 µg/mL で 32.1 及び 43.4%の減少）と比較して、HCEC ではより低い 500 ng/mL～50 µg/mL の濃度で核数の減少（34.7～79.9%の減少）が認められたことから、HCEC の方が cys-mcMMAF の細胞毒性に対する感受性がより高いことが示唆された。Cys-mcMMAF と MMAE の細胞毒性の発現濃度を比較した場合、HCEC における MMAE の細胞毒性は cys-mcMMAF の 100 倍以上高く、5 ng/mL～50 µg/mL の濃度で最大 82%の核数減少がみられた。一方、RPTEC における MMAE の細胞毒性は cys-mcMMAF の 1000 倍以上高く、10 ng/mL～50 µg/mL の濃度で最大 69.2%の核数減少が認められた。これらは、cys-mcMMAF の細胞透過性が低いことに関連している。血漿又は涙液中の cys-mcMMAF が角膜細胞内の cys-mcMMAF 濃度に及ぼす影響は限定的であり、角膜毒性の主要な機序ではないと考えられる。

H1 受容体はプロテインキナーゼ C（PKC）を活性化させ、マクロピノサイトーシスを誘導すると考えられている[Fukui, 2016]。マクロピノサイトーシスは BCMA 陰性細胞種におけるベランタマブ　マホドチンの非特異的取込み経路と考えられている。また、H1 受容体は角膜上皮細胞の膜表面に発現していることが報告されている[Guo, 2007]。このため、H1 受容体阻害薬（デスロラタジン、フェキソフェナジン、ケトチフェン、レボカバスチン及びレボセチリジン）による前処理／併用処理（48 時間）を行い、HCEC におけるベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスに対する影響を検討した（2.6.7-Table 17.10、2023N528622、4.2.3.7.3）。デスロラタジン、フェキソフェナジン及びケトチフェンの前処理／併用処理では、複数ドナーの HCEC において、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ顕著な減少がみられ、25 μg/mL のベランタマブ　マホドチンを 48 時間前処理／併用処理したときに最も明らかな影響が認められた。これらの検討から、H1 受容体阻害薬は、ケトチフェン＞フェキソフェナジン＞デスロラタジン＞レボセチリジンの順に、最大の細胞毒性の軽減を示すことが確認された。レボカバスチンは、試験条件下の濃度で HCEC に対して細胞毒性を示したため、この H1 受容体阻害薬の影響について検討することはできなかった。

しかし、別の試験では、H1 受容体阻害薬（ケトチフェン、レボカバスチン、デスロラタジン、レボセチリジン及びフェキソフェナジン；各化合物の IC50 の 100 倍の濃度）が、ベランタマブ　マホドチンの HCEC 及び RPTEC における取り込みを制限し、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を低下（核数の測定により確認）させるか否かについて明らかにすることはできなかった（2021N483916、4.2.2.3 及び 2023N528252、4.2.2.3）。デスロラタジン、ケトチフェン及びフェキソフェナジンは、HCEC におけるベランタマブ　マホドチンの取り込みを減少させたが、HCEC におけるベランタマブ　マホドチン（10 μg/mL のみ）の細胞毒性を減少させた H1 受容体阻害薬はデスロラタジンのみであった。RPTEC については、いずれの試験においても、H1 受容体阻害薬処理によるベランタマブ　マホドチンの細胞毒性の統計学的に有意な低下はみられなかった。

このように、検討した一部の H1 受容体阻害薬では、併用処理によりベランタマブ　マホドチンを単独処理した細胞と比較して、ベランタマブ　マホドチンの細胞内取込み（標識体の細胞内蛍光強度を指標として）の抑制がみられたが、核数（細胞数）の増加はみられず、HCEC では、H1 受容体拮抗薬においてベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を有意に軽減する作用は認められなかった。H1 受容体阻害薬を用いた試験間の相違は、H1 受容体が刺激された状態では PKC が活性化され、マクロピノサイトーシスを誘発する可能性がある[Mizuguchi, 2021]ことから、HCEC における H1 受容体が試験条件により刺激されたか否かを反映している可能性がある。

2.6.6.8.4.2. ウサギの忍容性及び眼毒性試験

ニュージーランドホワイト（NZW）ウサギを用いて、ベランタマブ　マホドチンを 7 日間隔で 2 回（フェーズ 1）又は 4 回（フェーズ 2）静脈内投与したときの忍容性及び眼毒性を検討するための試験を実施した（2018N385412、4.2.3.2）。

各群 3 匹の雌 NZW ウサギに、0（媒体）、15 及び 30 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンを 2 週間（0 又は 30 mg/kg/週）又は 4 週間（0、15 又は 30 mg/kg/週）静脈内ボーラス投与した。媒体には 0.05 mM EDTA、200 mM トレハロース及び 0.02%ポリソルベート 80（pH 6）添加 25 mM 水性クエン酸緩衝液を使用し、2 mL/kg の投与容量で投与した。最終投与の 7 日後（試験 15 日、フェーズ 1）又は 8 日後（試験 30 日、フェーズ 2）に動物を安楽殺した。検査／評価項目は、TK、一般状態、体重、眼科学的検査（フルオレセイン染色を含む）、シルマー涙液検査、剖検（眼球及び付属器）並びに左眼球（全例の角膜及び 1 例でみられた眼科学的所見を検討するために選択した動物の網膜）及び関連組織（ハーダー腺、涙腺、マイボーム腺及びツァイス腺）の病理組織学的検査とした。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.12 に示す。更に、涙液を採取して、ADC、総 mAb 及び cys-mcMMAF 量を測定（定性的）したが、これらのデータについては 2.6.4.4.2.2 で考察する。

試験 1 及び 8 日（フェーズ 1）の投与前及び投与 168 時間後までの時点、並びに試験 1 及び／又は 22 日（フェーズ 2）の投与 168 時間後までの時点において採取した全例の血漿試料を用いて TK 評価を実施した。また、フェーズ 2 では眼科学的検査日（15 mg/kg/週では試験 13 及び 20 日、30 mg/kg/週では試験 6、13 及び 20 日）に採取した血漿試料も評価に供した。ADC としてのベランタマブ　マホドチンの全身曝露量（Cmax 及び AUC0-t）は、総 mAb としてのベランタマブ　マホドチンより約 15～20%低値を示した。ADC 及び総 mAb の曝露量は用量に比例して増加した。AUC0-t 及び Cmax を指標とする cys-mcMMAF の全身曝露量は、（比較可能な場合）用量に比例して増加した。これらのデータについては 2.6.4.3.3.2 で包括的に考察する。

一般状態観察では、最大 30 mg/kg/週の 2 回投与後まで影響は認められなかった。体重測定では、30 mg/kg/週群で体重増加量の低値が 2 回投与後（0.82 倍）又は 4 回投与後（0.65 倍）に認められた。

病理組織学的検査では、30 mg/kg/週の 4 回投与後に角膜上皮単細胞壊死（軽微又は軽度）が 3 例全例でみられ、試験 27 及び 30 日の眼科学的検査で 1 例に認められた角膜表層混濁と関連する可能性がある。15 mg/kg/週群の 4 回投与後には、3 匹中 2 例において角膜上皮の有糸分裂像増加（軽微）も認められた。シルマー涙液検査では、涙液産生に対する投薬に関連した影響は認められなかった。

眼科学的検査（間接及び細隙灯顕微鏡検査並びにフルオレセイン染色）では、15 mg/kg/週群の 4 回投与後、1 例の網膜において両側性の線条がみられたが、投与との関連性は不明であり、この動物の網膜を含む複数の切片（6 枚）を検査したところ、当該所見と関連する網膜の病理組織学的所見は認められなかった。

DB ウサギを用いて、ベランタマブ　マホドチンの忍容性と眼毒性を検討するための追加試験を実施した（2021N465838、4.2.3.2）。

各群 6 匹の雌 DB ウサギに 0（媒体）又はベランタマブ　マホドチンを週 1 回 7 週間静脈内ボーラス投与した。ベランタマブ　マホドチンの投与用量は、投与 1～4 回目は 30 mg/kg/週、投与 5～7 回目は後述する理由により 15 mg/kg/週とした。媒体には 0.05 mM EDTA、200 mM トレハロース及び 0.02%ポリソルベート 80（pH 6）添加 25 mM クエン酸塩緩衝液を

使用し、2 mL/kg の投与容量で投与した。動物は最終投与の 5 日後（試験 48 日）に安楽死させた。検査／評価項目は、TK、一般状態観察、体重、眼科学的検査（フルオレセイン染色を含む）、シルマー涙液検査、剖検（眼球及び付属器）及び病理組織学的検査（両眼及び上下眼瞼、ハーダー腺、涙腺、マイボーム腺及び両眼のツァイス腺）とした。更に、涙液を採取し、ベランタマブ　マホドチン ADC 及び総 mAb 並びに cys-mcMMAF 量を測定（定性的）した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.13 に示す。

投与前、試験 1、22 及び 36 日の投与 168 時間後までの時点、並びに試験 43 日以降の投与 24 及び 120 時間後の時点に全例から採取した血漿試料を用いて TK 評価を実施した。

体重測定では、30 mg/kg/週の 3 及び 4 回投与後に体重増加がほとんど又は全く認められず、一過性の体重低値が認められたため、以降の期間では投与用量を 15 mg/kg/週に減量した。投与用量の減量後、投薬群では、概ね体重増加量の高値がみられたが、投薬群の総体重増加量は、対照群と比較して試験 1～48 日に低値を示した。

眼科学的検査では、投薬群 2 例において試験 30 日以降に片眼又は両眼に角膜表層混濁及び角膜表層血管新生が認められた。このうち 1 例では試験 41 日から両眼に結膜充血がみられ、また、試験 48 日に角膜混濁が認められたため、両眼の角膜以外の構造を肉眼的に観察することができなかった。この動物の一般状態観察では、試験 43～48 日に両眼の混濁／不透明等の変化がみられ、剖検時の肉眼的検査で両側性の角膜混濁及び視認可能な角膜サイズの縮小が認められた。

病理組織学的検査では、投薬群 4 例において片側性又は両側性の軽微な角膜上皮単細胞壊死が認められた。これらの動物のうち 2 例では、上皮に変化のみられた眼球において角膜実質の炎症も認められた。本変化は、1 例では両眼に中等度にみられ、浮腫、血管新生、うっ血及びときに核濃縮を伴う混合性炎症細胞浸潤を特徴とし、剖検で認められた両側性の角膜混濁並びに眼科的検査で認められた両側性の角膜表層混濁及び角膜表層血管新生と関連していた。もう一方の動物では、角膜実質の炎症は左眼のみにみられ、その程度は軽度であり、浮腫、うっ血及び散発的な核濃縮を伴う単核細胞浸潤を特徴としていた。血管新生は組織学的にも角膜実質で認められ、眼科学的検査で観察された角膜表層血管新生と関連していた。変化がみられたいずれの動物においても、角膜実質の炎症は特に角膜実質の表層側の半分（角膜上皮に最も近い部分）の領域に認められた。

2.6.6.8.5. 光毒性

ベランタマブ　マホドチンは ADC 製剤であるため、光毒性試験は必要ないと考えられる[ICH S10, 2013]。しかし、リンカー複合体である SGD-1269（mcMMAF）の UV／可視光領域の吸収スペクトルを測定した［3.2.S.1.3（原薬）］。その結果、290～700 nm の波長において吸収がみられたが、モル吸光係数は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であった。このことから、患者における光安全性に関する懸念はなく、光安全性試験は必要ないと考えられた[ICH S10, 2013]。

2.6.6.8.6. 依存性

ベランタマブ　マホドチンの依存性を評価するための試験は実施しなかった。得られているデータから、ベランタマブ　マホドチンが依存性を引き起こす可能性は低く、本剤の分子量は大きいため血液脳関門を大量に通過することはないと予想される。ベランタマブ　マホドチンの製剤学的特性及び薬力学的／薬物動態学的特性は、依存性が高い薬物の特徴（即効性／短時間作用型の活性物質等）とは異なる。反復投与毒性試験では、休薬後に異常行動及び退薬症候は認められなかった（2.6.6.3）。

2.6.6.8.7. 代謝物

ベランタマブ　マホドチン及びその活性細胞毒性部分である cys-mcMMAF の代謝を検討するため、in vitro 及び in vivo 試験を実施した。これらのデータについては 2.6.4.5 に示す。

2.6.6.8.8. その他の試験

2.6.6.8.8.1. 組織交差反応性

2.6.6.8.8.1.1. 組織交差反応性予備試験

ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の使用に適した陽性対照を特定し、かつ、限られたヒト細胞株並びにヒト及びカニクイザルの組織を用いてベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の交差反応性プロファイルを検討するため、予備試験を実施した（GLP 非適用、2013N169796、4.2.3.7.7）。組織結合性は IHC 法により評価した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.14 に示す。

ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 を 1～10 µg/mL の濃度で処理したときに、ヒト脾臓及び BCMA コーティングしたビーズにおいて特異的染色が示されたことから、この検討で適用した組織固定法及び IHC 法はベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の組織交差反応性の評価に適切であることが確認された。BCMA 蛋白質は、ヒト脾臓及び BCMA コーティングビーズにおいてベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の特異的染色を阻害したが、エラスチンでは阻害はみられなかったことから、この染色が特異的であることが示された。

サル及びヒトの副腎、心臓、腎臓、肝臓、リンパ節、脾臓及び扁桃、ヒトの脂肪／皮膚並びにサルの結腸において軽度～中等度の特異的染色が認められた。BCMA を予備吸着させることにより、ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の染色陽性が消失したが、同じ濃度で使用した関連のない予備吸着対照では染色が維持された。

ヒト及びサルの結腸杯細胞では、陰性対照（一次抗体なし）を含め、BCMA 蛋白吸着対照において軽微～軽度の非特異的染色がみられた。本試験で観察されたバックグラウンド強度は、特異的染色の評価を妨げるものではなかった。

2.6.6.8.8.1.2. 組織交差反応性試験

ベランタマブ　マホドチン（ADC）（抗イディオタイプ mAb S389105H11 とのコンジュゲートを使用）を用いて交差反応性試験を実施した（GLP 適用、2013N176627、4.2.3.7.7）。

特定のヒト組織パネル（1 組織につき 3 例のドナー；可能な限り男女各 1 例以上のドナーを含む）から作製した凍結切片を用いて、IHC 法により 2.5、5 及び 10 µg/mL の濃度で評価した。比較対象として等濃度の陽性対照（エラスチンを予備吸着させたベランタマブ　マホドチン）又は陰性対照（BCMA を予備吸着させたベランタマブ　マホドチン）を使用した。試験成績の概略を 2.6.7-Table 17.15 に示す。

副腎、膀胱、血球、骨髄、乳腺、脳（小脳及び皮質）、内皮、眼球、卵管、胃腸管（食道、胃前庭部、胃体部、十二指腸、回腸、結腸）、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、卵巣、膵臓、上皮小体、耳下腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、皮膚、脊髄、脾臓、横紋筋、精巣、胸腺、甲状腺、扁桃腺、尿管、子宮（子宮頸部及び子宮体部）の組織標本について評価した。

本試験条件下で、陽性対照切片（ヒト脾臓）においてベランタマブ　マホドチンの抗原特異的結合が認められた。同程度の染色性が陽性対照物質ではみられたが、陰性対照物質では認められなかった。

検討したいくつかの組織においてベランタマブ　マホドチンによる特異的な陽性染色がみられ、概して個々の細胞又は細胞群、血管壁／血管周囲組織及び結合組織に認められた。特異的陽性染色のほとんどは細胞質に認められた。ベランタマブ　マホドチンによる特異的陽性染色が観察されたすべての組織において、同程度の染色が陽性対照でみられたが、陰性対照では認められなかった。観察されたその他すべての染色にはばらつきがみられ、非特異的であると考えられた。

2.6.6.8.9. 同等性

ベランタマブ　マホドチンの臨床試験では、凍結液剤及び凍結乾燥粉末剤（市販用製剤）の 2 種類の製剤を使用した。ベランタマブ　マホドチンの最初の製造工程が 20[redacted] 年に開発され、非臨床試験用及び臨床試験用物質の製造に使用された。ベランタマブ　マホドチンの市販が予想されたため、ベランタマブ　マホドチンの製造工程の変更を、無菌凍結液剤から無菌凍結乾燥粉末剤への製剤の変更に伴い実施した工程開発作業に基づいて実施した。工程の最適化、頑健性の改善及び市販規模での製造へのスケールアップのため、更なる変更を導入した。ベランタマブ　マホドチンの開発過程で実施した製造工程及び製剤の変更に関する詳細については、3.2.S.2.6.1（原薬）及び 3.2.P.2.2 に示す。[redacted]のタンパク質医薬品の製造工程の変更が、薬物の薬理活性、薬物動態又は安全性プロファイルに影響を及ぼす可能性がある。これらの変更が製剤の品質に及ぼす影響を評価するため、ベランタマブ　マホドチン原薬の生物物理学的、生化学的及び機能的完全性を比較する同等性評価を実施した。同等性評価は、製造工程 1 の臨床試験用ロット[redacted] 及び[redacted]、製造工程 2 の臨床試験用ロット[redacted] 及び[redacted] 並びに非臨床試験用ロット[redacted] を用いて実施した。[redacted]は[redacted]、同等性評価に際しては主に[redacted]を行った［3.2.S.2.6（原薬）］。製造工程変更後、ベランタマブ　マホドチンに意味のある差異は認められなかった。

以上、ベランタマブ　マホドチンの開発中に実施した製造工程変更は、原薬及び製剤の品質及び性能に悪影響を及ぼさなかった。非臨床試験用ロット、臨床試験用ロット並びに市販予定用の原薬及び製剤間で生物物理学的、生化学的及び機能的完全性の同等性が示された。市販用製剤プロファイルに関連する特有の安全性上の懸念はない。

2.6.6.8.10. 不純物

不純物は、目的物質又は添加剤（緩衝液成分を含む）以外のベランタマブ　マホドチンに含まれる成分である。不純物は、目的物質由来不純物又は製造工程由来不純物に分類される。製品及び製造工程由来不純物に加えて、製造工程には本来存在しないはずのもので、意図に反して混入した化学物質、生化学的物質、微生物由来物質等も含まれる。ベランタマブ　マホドチン原薬の製造工程では高純度の目的物質が生成されるが、ベランタマブ　マホドチンの製造キャンペーン中に存在する不純物は、製造工程を通して同程度であった。原薬中に検出されたすべての目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物については、［3.2.S.3.2（原薬）］で詳細に考察する。製剤製造中に新たな不純物は形成されない。関連する不純物の適切な判定基準は、原薬及び製剤の規格及び試験方法に設定されている。原薬及び製剤の規格及び試験方法の妥当性については、3.2.S.4.5（原薬）及び 3.2.P.5.6 に示す。

ベランタマブ　マホドチンバルク原薬の不純物プロファイルは、プロセスバリデーション試験と組み合わせた詳細な生化学的、生物物理学的及び生物学的特性解析試験により決定した［3.2.S.3.1（原薬）］。不純物プロファイルには、ICH Q6B で述べられている製造工程由来不純物及び目的物質由来不純物が含まれる。

患者への安全性リスクを明らかにするために、ベランタマブ　マホドチンの製造工程由来不純物についてリスク評価を実施した。リスク評価結果［3.2.S.3.2（原薬）］に基づくと、いずれの製造工程由来不純物についても、安全性上の懸念は認められていない。これらの不純物には [redacted] 及び [redacted] が含まれるが、これまでのすべての出荷ロットの分析結果において、これらの不純物のレベルは試験方法の定量下限未満（[redacted]）であることが確認されている。したがって、患者に対する安全性リスクは極めて低い［3.2.S.4.4（原薬）］。

目的物質由来不純物及び[redacted]がベランタマブ　マホドチン中に検出された。ベランタマブ　マホドチンの目的物質由来不純物及び原薬については、その同一性並びに安全性及び有効性への影響を判断するための詳細な特性検討が実施されている。ベランタマブ　マホドチンの重要品質特性及びこれらの特性をモニタリングするための管理戦略の詳細については 3.2.S.2.6（原薬）に示す。これらは許容レベルに管理されており、市販製剤中の不純物に関連する安全性上の懸念はない。これらの評価に使用した非臨床試験で用いた被験物質に関するロット分析の詳細を 3.2.P.5.4 に示す。

ベランタマブ　マホドチンバルク原薬は無菌製剤であり、微生物汚染に関するチェックとして、エンドトキシン及びバイオバーデンレベルについて、[redacted]モニタリングする。開発段階及び実生産スケールで製造されたロットにおいて、バイオバーデンは一貫して、[redacted] 以下を満たしていた。また、原薬ロットは、市販品のエンドトキシン規格値（[redacted]）にも一貫して適合した。

ベランタマブ　マホドチン製剤に使用される添加剤は、日本薬局方に適合している。

これらの結果は、概して、ベランタマブ　マホドチンの製造工程及び精製工程により安全性及び有効性に影響を及ぼす製品工程由来不純物が確実に管理されることを示しており、広範な同等性／同質性評価では、製造工程 1 と製造工程 2 の間に意味のある差異は認められなかった。したがって、市販製剤のプロファイルに特有の安全性の懸念はない。

表 2.6.6.9 ベランタマブ マホドチンのその他の毒性試験に用いた被験物質のロット一覧

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (Strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Cytokine release assessment	Human PBMCs; and NCI-H929 cell line	MAB	NA	2013N173704 (V70385N)	0.1 to 10 µg/mL	NA
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	MAB and ADC	NA	2022N507716 (ELN43728)	1 mg/mL and up to 100 µg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	MAB and ADC	NA	2022N502360 (V72052N)	30 or 100 µg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Renal Proximal Tubule Epithelial and Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	MAB	NA	2022N508021 (ELN43729, 46186)	Up to 10 mg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in HCEC and RPTEC	Human cell lines	MAB and ADC	NA	2019N410330	Up to 577 µg/mL[c]	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in HCEC and RPTEC	Human cell lines[d]	MAB and ADC	NA	2021N483916[e]	Up to 100 µg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in HCEC and RPTEC	Human cell lines[d]	MAB and ADC	NA	2023N528252[e]	Up to 100 µg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in HCEC and RPTEC	Human cell lines[d]	ADC	NA	2023N528622 (ELN109309)	Up to 100 µg/mL	A
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Renal Proximal Tubule Epithelial and Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	MAB and ADC	NA	2020N437131	Up to 55.7 mg/mL	A
[redacted]	Tolerability and ocular toxicity	Rabbit (NZW)	ADC	Up to 4 weeks[a]	2018N385412 (L32295N)	7.5 and 15	A
[redacted]	Tolerability and ocular toxicity	Rabbit (DB)	ADC	Up to 7 weeks[b]	2021N465838 (L71822N)	7.5 and 15	A

表 2.6.6.9 ベランタマブ マホドチンのその他の毒性試験に用いた被験物質のロット一覧（続き）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (Strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
[redacted]	Ex vivo Tissue Cross Reactivity (pilot)	Human cell lines and human/ cynomolgus monkey tissues	MAB and ADC	NA	2013N169796 (V29775)	Up to 10 µg/mL	TBS
[redacted]	Ex vivo Tissue Cross Reactivity (definitive)	Human, tissues	ADC	NA	2013N176627 (V30497G)	2.5, 5 and 10 µg/mL	B
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Renal Proximal Tubule Epithelial and Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	cys-mcMMAF	NA	2021N478152	0.1 to 100 µg/mL	NA
[redacted]	Cytotoxicity assessment in Primary Human Renal Proximal Tubule Epithelial and Corneal Epithelial Cells	Human cell lines[d]	cys-mcMMAF and MMAE	NA	2022N506460	5 ng/mL to 50 µg/mL	NA

Key:
DB = Dutch Belted; DMSO = Dimethyl sulfoxide; mAb = Monoclonal antibody. EDTA = Edetate disodium dihydrate; NA = Not Applicable; NZW = New Zealand White; PBMC = Peripheral blood mononuclear cells; TBS = Tris buffered saline.
a = Animals were dosed once weekly for either two (0 or 30 mg/kg/week) or four weeks (0, 15 or 30 mg/kg/week).
b = Animals received a dose of 30 mg/kg once weekly for the first four doses and 15 mg/kg once weekly thereafter (total 7 doses).
c = Biotinylated.
d = Drug was added directly to the media at the required concentration.
e = Reports are located in module 4.2.2.3.

Forms:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

A: 25 mM Citrate Buffer containing 0.05 mM EDTA, 200 mM Trehalose, 0.02% Polysorbate 80(pH 6.2).
B: 50 mM Sodium Citrate, 200 mM Trehalose, 0.05mM EDTA, 0.02% Polysorbate 80 (pH 6.0).

2.6.6.9. 考察及び結論

再発又は難治性の多発性骨髄腫の治療を目的としたベランタマブ　マホドチンの毒性試験を実施した。本項では、ベランタマブ　マホドチンの毒性プロファイルを更に明らかにするため、GSK2857914 に関する考察も含めた。各試験の詳細は 2.6.6（各試験の項）に示した。

ベランタマブ　マホドチンはカニクイザルのみと交差反応し、ラットの BCMA には結合しない。ヒト、サル、マウス及びウサギの BCMA 蛋白配列[UniProt website: 2024]の相同性の比較結果に基づき、ベランタマブ　マホドチンがウサギ及びマウスの BCMA と交差反応する可能性は低いと考えられた。

ベランタマブ　マホドチンの反復投与試験で観察された主要所見及び影響量／無影響量を表 2.6.6.11 に示す。13 週間反復投与毒性試験では、3 週間反復投与毒性試験とおおむね類似した所見がみられ、一部所見はより低用量から発現し、新たな標的器官毒性も認められた。

ベランタマブ　マホドチンを静脈内投与したときのベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF の全身曝露量の比較結果を表 2.6.6.12 及び表 2.6.6.13 に示す。

2.6.6.9.1. 単回投与毒性試験

ベランタマブ　マホドチンのラット単回静脈内投与毒性試験では、最高用量の 100 mg/kg 群において試験 9 日に一般状態の悪化が認められた。ベランタマブ　マホドチンのサルを用いた単回静脈内投与毒性試験では、最高用量の 30 mg/kg 群において尿蛋白及び尿中逸脱酵素に関連する糸球体腎炎及び尿細管変性／再生性変化が認められた。病理組織学的検査では複数の器官で出血もみられた。また、軽度の PT 及び APTT の延長並びに赤血球量及び血小板数の低値が認められた。

2.6.6.9.2. 反復投与毒性試験

2.6.6.9.2.1. 体重／摂餌量

ベランタマブ　マホドチンのサル 3 週間反復静脈内投与毒性試験では、1 mg/kg/週以上の群で体重減少（最大 0.9 倍）がみられ、1 mg/kg/週群では一過性、3 mg/kg/週以上の群では持続的に認められた。10 mg/kg/週群では投与期間を通して摂餌量減少が散見され、3 mg/kg/週以上の群で雌の柑橘類に対する食欲減退がみられた。サルの 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週群で 5 週目に食欲減退がみられ、一般状態の変化として削痩／背骨の顕在化が観察されたが、投薬に関連した体重変化は認められなかった。ラットでは、10 及び／又は 30 mg/kg 群で、投与後毎回又は時折、摂餌量及び／又は体重増加量の低値が認められた。

2.6.6.9.2.2. 死亡／瀕死状態

ベランタマブ　マホドチンのサル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、一般状態悪化のため、10 mg/kg/週群の雄 1 例を試験 33 日（5 回投与後 4 日）に安楽死させた。また、一般状態悪化及び赤血球量／形態学的変化を含む変化の程度に基づき、同群の残りの動物も 5 回投与後に投与を中止し、試験 7 週に安楽死させた。早期安楽死例（試験 33 日）では、腎臓

に重度の尿細管変性／再生性変化及び顕著な糸球体腎炎が認められた。本所見は早期安楽死に至る主な原因と考えられた。胃腸管血管の急性変化（血管フィブリノイド壊死）並びにそれに基づく二次的な腹腔内出血及び体液貯留（肉眼的に観察された腹水）は、安楽死の数時間前にみられた重度の一般状態悪化に寄与した可能性がある。早期安楽死の原因とは考えられないが、胸腺血管壊死並びに心臓及び副腎の出血も認められた。IHC 検査では、腎糸球体係蹄、胃腸管血管壁中膜内並びに肝臓クッパー細胞及び／又は類洞内皮細胞の細胞質にサル IgG 及び／又は IgM 含有顆粒沈着が認められた。免疫原性評価では、抗体価は低いが ADA が検出された。膜増殖性糸球体腎炎及び血管フィブリノイド壊死並びに早期安楽死例の組織における顆粒沈着は免疫複合体症の発現を示唆している。早期安楽死に至った一般状態悪化の最終的原因に、免疫複合体形成の関与が考えられる[Frazier, 2015]。なお、動物試験の結果を基に、ヒトの免疫原性及び関連事象を予測することは困難とされている[Kronenberg, 2017]。早期安楽死例の投与期間終了時の変化は、10 mg/kg/週群の他の動物の変化とおおむね類似していた（血管変化を除く）が、その程度はより重度であった。

12 週間の休薬期間終了後、10 mg/kg/週群の雄 1 例で上部胃腸管粘膜下血管に血管炎／血管周囲炎が認められた。本所見は、安楽死例の血管で認められた変化（血管フィブリノイド壊死）と比較してその程度は明らかに軽減しており、軽微な慢性炎症像を呈していたことから、休薬により回復性を示した可能性が考えられる。本変化の原因は免疫複合体に関連していると考えられたことから、完全回復には 12 週間以上要すると予想される[Frazier, 2015]。

2.6.6.9.2.3. 病理所見

腎臓への影響：

病理組織学的な糸球体症（単回投与毒性試験の電子顕微鏡検査により、足突起の消失を伴う足細胞の細胞質内/肥大した足細胞内に、リソソームを起源とする多数の球状封入体が認められた）及び／又は尿細管変性／再生性変化が、ラットでは 30 mg/kg 以上（100 mg/kg の単回投与、30 mg/kg の週 1 回 3 週間投与又は 3 週に 1 回 12 週間投与）、サルでは 10 mg/kg/週以上の投与により認められた。これらの変化は用量制限毒性と考えられた。そのため、ラット及びサルの試験における高用量は単回静脈内投与毒性試験ではそれぞれ 100 及び 30 mg/kg、13 週間反復静脈内投与毒性試験ではそれぞれ 30 mg/kg/回及び 10 mg/kg/週に制限された。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週群の雄 1 例で腎臓（腎盂）尿路上皮の軽微な壊死がみられ、3 mg/kg/週以上の群では数例に腎臓及び／又は膀胱尿路上皮の軽微な単細胞壊死が認められた。これらの変化に関連して、尿中アルブミン及び総蛋白排泄量の高値並びに酵素排泄量の高値［ラット及びサルの NAG、ラットにおける α-グルタチオン- s-トランスフェラーゼ（αGST）、リポカリン-2、KIM-1 及び腎乳頭抗原 1（RPA-1）］が認められた。上記の 13 週間反復静脈内投与毒性試験で観察された病理組織学的変化及び尿検査パラメータの変化はすべて 12 週間の休薬期間終了後に回復した。

炎症：

3 mg/kg/週以上を投与したサルでは、全身性炎症反応と一致する病理組織学的変化が多数の組織／器官に認められた。これらの変化は、肝臓（サルの 3 mg/kg/週以上の群でときに有

糸分裂像及び／又は単細胞壊死を伴うクッパー細胞肥大／過形成、10 mg/kg/週群で髄外造血）、腎臓（サルの 10 mg/kg/週群における間質性組織球及び／又はメサンギウムの有糸分裂像の増加）、脾臓（サルの 3 mg/kg/週以上の群及びラットの 10 mg/kg/週群で有糸分裂像の増加を伴うマクロファージ増加及び関連する胚中心の壊死／細胞密度低下）、骨髄（サルの 3 mg/kg/週以上の群における M:E 比の軽微増加）、脳（脈絡叢のみ）並びに種々のリンパ節（髄質の有糸分裂像及び髄外造血の増加、いずれも食細胞の活性化と一致）に認められた。

サルでは、組織学的炎症性変化に関連して 3 mg/kg/週以上の群で CRP 高値（最大 36 倍）、アルブミン低値及び白血球数高値が認められた。

全身性炎症反応に関連して、赤血球量パラメータ（最大 0.73 倍）及び血小板数（最大 0.70 倍）の軽度低値並びにそれに伴う網状赤血球高値及び有核赤血球放出等の再生性反応も認められた。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週群で赤血球膜の損傷を示唆する血液塗抹標本の形態学的変化（破砕赤血球及び／又は球状赤血球及び／又は中央淡明）がみられ、赤血球量パラメータの低値と関連していた。これらの病理組織学的所見及び臨床病理学的所見には用量反応性がみられ、免疫複合体存在下の炎症反応及び／又は細胞傷害性薬物の投与による二次的な影響を反映していると考えられた。また、髄外造血は、造血環境の変化、すなわち赤血球量減少に対する反応の可能性も考えられる。これらの病理組織学的及び臨床病理学的変化（血液塗抹標本の変化を除く）は、GSK2857914 を同等以上の用量でサルに最大 13 週間投与したときに認められた変化（程度はより軽度）と類似している。血中の好中球高値並びに／又はリンパ球、単球及び大型非染色細胞の高値を特徴とする亜急性炎症の増加は、cys-mcMMAF を 0.5 mg/kg/日以上の用量でラット及びサルに反復投与したときにも認められた。

骨髄への影響（ラット）：

ラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週以上の群で造血系に対する毒性と適応性変化がみられ、骨髄細胞密度低下（軽微～中等度）が認められた。これらの変化は、胸骨と大腿骨／大腿脛骨関節における二次的な骨リモデリングを伴う骨髄の単細胞壊死と、肝重量高値を伴う肝臓における軽度の髄外造血及びビリルビン低値を特徴としていた。投与期間終了時、30 mg/kg/週群において骨髄抑制に一致する赤血球系パラメータ減少［赤血球数（最大 0.81 倍）、ヘモグロビン（最大 0.75 倍）及びヘマトクリット（最大 0.75 倍）等］及び白血球数低値（最大 0.47 倍）が認められた。早期の網状赤血球分画の絶対数に変化がみられたが、総網状赤血球数には影響は認められなかった。30 mg/kg/週群では赤血球分布幅高値（最大 1.37 倍）も認められた。10 mg/kg/週以上の群では血小板数高値（2.1 倍）がみられた。休薬期間終了後、赤血球系パラメータの変化はすべて回復し、赤血球系の骨髄抑制からの回復を示す網状赤血球のリバウンド（高値）が認められた。回復性の変化として白血球数の高値も認められた。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験でも投与期間終了時に同様の血液学的変化が主に 30 mg/kg/回群で、10 mg/kg/回群では一部のパラメータにみられたが、その程度はより軽度であり、網状赤血球増加と関連する M：E 比の変動を伴っていた。これらの変化は、ラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験でみられた骨髄の組織学的変化及び肝臓の髄外造血を伴っていなかった。このことから、高用量のベランタマブ　マホドチンによる

影響に対し骨髄は適応反応を示すことが示された。ラットで観察された骨髄毒性は、他のアウリスタチン ADC で観察された変化と同様であった[Nilsson, 2010]。

肺への影響（ラット）：

ラットにおいて、肺胞腔内の好酸性物質凝集を伴う肺胞マクロファージの発現頻度及び程度の増強が用量依存的に認められた。3 mg/kg/回以上の群では、リンパ球及びその他の単核細胞並びにごくわずかな好中球からなる血管周囲炎症細胞浸潤が、肺葉の末梢に集中してみられた。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/回群の雌 1 例において II 型肺胞上皮細胞肥大／過形成を伴う終末気道周囲の好中球性肺胞炎症がみられた。肺胞マクロファージ増加に関連する剖検所見として、多数の蒼白部位が認められた。12 週間の休薬期間終了後、肺胞腔内好酸性物質の発現頻度は低下又は消失したが、肺胞マクロファージ増加及び炎症細胞浸潤の発現頻度及び程度は同程度であり、10 mg/kg/回以上の群では、肺胞中隔の肥厚及び II 型肺胞上皮細胞肥大／過形成を伴う軽微な肺胞炎症の発現頻度高値がみられた。Cys-mcMMAF のラット 5 日間反復静脈内投与毒性試験では、1 mg/kg/日以上の群において肺胞組織球増加の発現頻度高値がみられ、5 mg/kg/日以上の群では、15 日間の休薬期間終了後も認められた。また、5 mg/kg/日以上の群では肺重量高値も認められた。好酸性物質及びマクロファージの所見は、サーファクタント分泌（主に II 型肺胞上皮細胞による）、サーファクタント物質の代謝回転又はその両方の変化に起因する可能性がある。サーファクタント分泌の変化は、微小管阻害薬により誘発されることが報告されている[Brown, 1985]。

肝臓及び骨格筋への影響：

ラット（10 mg/kg/回以上）及びサル（3 mg/kg/週以上）で AST、GLDH、ALP、フィブリノゲン、ALT 及びコレステロールの高値がみられ、サルでは 3 mg/kg/週以上の群において GGT 及び総ビリルビンの高値も認められた。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、これらの所見に関連して、3 mg/kg/週以上の群で混合性炎症細胞浸潤又は好中球浸潤を伴った軽微な多巣性の肝細胞壊死巣が観察された。ALT と比較した AST 高値の程度（ラット 13 週間反復投与毒性試験を除く）は骨格筋損傷に一致しており、それに関連して、骨格トロポニン I 高値がサルの単回投与毒性試験で、骨格トロポニン I 並びに／又はクレアチンキナーゼ及びアルドラーゼ高値がラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験で認められた。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験の 3 mg/kg/週以上の群で、鼠径部の骨格筋又は脂肪組織に被包性血腫（肉眼的に凝血塊又は腫瘤を伴っており、一般状態観察で硬化／腫脹が認められた）がみられ、ときにその範囲は鼠径リンパ節又は坐骨神経周囲の組織まで及んでいた。これらの所見は大腿静脈からの採血に関連している可能性があると考えられたが、高用量群の発現頻度を考慮すると、ベランタマブ　マホドチンの投与に関連した局所炎症反応の増悪による可能性を否定することはできない。Cys-mcMMAF の試験では、6 mg/kg/日以上を単回投与したサル及び 10 mg/kg/日を反復投与したラットにおいて AST、ALT 及び／又はビリルビンの高値が認められた。5 mg/kg/日の cys-mcMMAF を反復投与したサルでは、クレアチンキナーゼ高値もみられた。

リンパ系器官への影響：

サルでは、3 mg/kg/週以上の群で脾臓に、10 mg/kg/週群では種々のリンパ節において軽微～重度のリンパ系細胞密度低下（程度は用量依存性あり）が認められた。これらの変化に伴い、サルの 10 mg/kg/週群の脾臓及び下顎リンパ節並びにラットの 10 mg/kg/回以上の群の脾臓に軽微～軽度のリンパ球壊死が認められた。ラットでは同用量群で脾臓の髄外造血の発現頻度及び程度の低下もみられた。影響のみられた動物のほとんどで脾臓うっ血がみられた。3 週間反復静脈内投与毒性試験では本所見に関連して 30 mg/kg/回群で脾臓の大型化及び脾臓重量高値がみられた。これらの変化は同試験の雄では休薬期間終了後にも認められた。胸腺の細胞密度低下が、ラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験では 30 mg/kg/週以上の群で、サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では 3 mg/kg/週群でみられた。本所見に関連して胸腺重量低値及び／又は小型化を伴う軽微～重度のリンパ球溶解／リンパ系細胞密度低下が多くの動物で認められた。

眼への影響（ラット及びウサギ）：

ベランタマブ　マホドチンのラット及びウサギを用いた非臨床試験において、角膜上皮の両側性単細胞壊死及び／又は角膜上皮細胞の有糸分裂像の増加が認められた（表 2.6.6.10）。これらの変化は悪影響ではないと考えられた。

ラットでは、詳細な眼科学的検査において変化は認められなかった。病理組織学的検査では、10 mg/kg/回以上の群のほとんどのラットで影響が認められ、発現頻度は用量依存的に増加した。10 及び 30 mg/kg/回群でみられた眼球の病理組織学的変化は、12 週間の休薬期間終了後に回復した。

NZW ウサギでは、試験 27 日以降、1 例において片側性の角膜表層混濁が認められた。DB ウサギでは、試験 30 日以降、2 例で角膜混濁及び表層血管新生が認められ（1 例は両側性、もう一例は片側性）、その変化の程度及び範囲は NZW ウサギで認められた変化を上回っていた。これら 2 例の DB ウサギの病理組織学的検査では、浮腫、血管新生及びうっ血並びにときに核濃縮を伴う混合性炎症細胞浸潤を特徴とする角膜実質の炎症が認められた。これらの組織学的変化は MMAF 結合型 ADC による治療患者で観察される角膜上皮細胞死の推定機序と一致するが、ベランタマブ　マホドチンの投与によって臨床で観察されるようなその他の変化は認められていない。これらの差の理由は不明である。NZW ウサギを用いた試験では、媒体対照群と比較して、投薬群で涙液産生（シルマー試験紙を用いて測定）に影響は認められなかった。

ウサギを用いた試験では、投薬群から採取した涙液試料中にベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF が（定性的又は定量的）が検出された。血漿中のベランタマブ　マホドチン濃度は、投与後の同時点で採取した涙液検体よりも高かった。ウサギでみられた角膜病変はラットでみられた変化と一致していたが、高用量で週 1 回 4 回投与後のみ認められた。サルにおいて投薬に関連した眼の変化は認められなかった。ベランタマブ　マホドチンはラット又はウサギの BCMA と交差反応せず、ヒト又はカニクイザルの眼組織に結合しない。

NZW ウサギの眼科学的検査では、3 例中 1 例で網膜に変化が認められた。複数の切片を作製し病理組織学的検査を実施したところ、網膜変性並びに網膜色素上皮層及び神経層に対する悪影響は認められなかった。曝露量が同程度であった残りの同群のウサギに変化は認められなかった。このときの曝露量はラットの 30 mg/kg 群の曝露量と同程度であった。同程度の用量をより長期間投与した他の動物種では、この網膜の変化は認められず（表 2.6.6.10）、ヒトで眼所見が報告されている他の ADC においても共通する変化として文献的に報告されていない[Eaton, 2015]。この変化は、ベランタマブ　マホドチンの治療患者における安全性リスクを示すものではないと考えられる。

表 2.6.6.10　ラット、ウサギ及びサルで認められた眼所見

	Rat[a]		Monkey[a]		Rabbit (NZW)[b]		Rabbit (DB)[d]	
	Effect Dose	No-Effect Dose	Effect Dose	No-Effect Dose	Effect Dose	No-Effect Dose	Effect Dose	No-Effect Dose
Increased mitosis of corneal epithelial cells	3	ND	NO	NA	15	NA	NO	NA
Corneal single cell necrosis	3	ND	NO	NA	30	15	30/15	NA
Inflammation of corneal stroma	NO	NO	NO	NO	NO	NO	30/15	NA
Superficial corneal haze and vascularisation observed by ophthalmoscopy	NO	NO	NO	NO	NO	NO	30/15	NA
Bilateral retinal striations observed by ophthalmoscopy	NO	NA	NO	NA	15[c]	30	NO	NA

Note: Doses expressed as mg/kg/week.
Key:
a = In the pivotal GLP toxicity studies; cynomolgus monkeys (n=3/sex) were administered doses of 1, 3 or 10 mg/kg/week with recovery animals (n=2/sex) included on the 3 and 10 mg/kg dose groups. Rats (n=12/sex main study, n=6/sex TK) were administered doses of 3, 10 or 30 mg/kg either weekly (3 week study) or every three weeks (13 week study), with recovery animals (n=6/sex) included on the 10 and 30 mg/kg dose groups.
b = In the non-GLP tolerability and ocular toxicity study in NZW rabbits (n=3/group) were administered either 2 or 4 doses of 15 or 30 mg/kg/week.
c = This finding was in one of three rabbits and was without any microscopic correlate following evaluation of multiple (n=6) sections containing the retina
d= In the non-GLP tolerability and ocular toxicity study in DB rabbits (n=6/group)were administered a dose of 30 mg/kg once weekly for the first four doses and 15 mg/kg once weekly thereafter (total 7 doses).
DB = Dutch Belted; NA = not applicable; ND = no-effect dose was not determined; NO = not observed; NZW = New Zealand White.

歯への影響（切歯、ラット）：

ラットでは、切歯にエナメル芽細胞層の変性がみられ、長期の試験では象牙芽細胞層にも影響が認められた。これらは微小管崩壊のメカニズムに一致するものであり、微小管重合阻

害薬においてラットでは既知の変化である[Moe, 1977; Satoh, 2001]。しかしながら、げっ歯類では生涯を通して切歯が継続的に成長すること、また、特にサルでは類似した変化はみられず、これらのラットの臼歯にも影響は認められなかったことから、本所見が成人において臨床上問題となる可能性は低い。投与期間中及び休薬期間中にみられた体重増加量及び摂餌量の低値は、これらの歯に対する影響によるものと考えられる。

心臓への影響：

いずれの動物種においてもベランタマブ　マホドチンによる直接的な心毒性は認められていない。観察された病理組織学的変化（組織内の免疫複合体の存在等）及び臨床病理学的変化［CRP、MCP-1、補体（Bb 及び C3a）及び白血球数の高値、アルブミン、赤血球系パラメータ及び血小板の低値並びに再生性の網状赤血球増加等）を考慮すると、ADA 産生に伴う免疫複合体及び／又はベランタマブ　マホドチンによる細胞傷害の二次的な影響による全身性の炎症反応が生じていたことが示唆される。ラットでは 10、30 及び 100 mg/kg の単回投与において数例で心臓に軽微な炎症細胞浸潤がみられた。サルでは 10 mg/kg 以上の投与で出血も認められた。これらの変化はいずれも悪影響ではないと考えられた。動物試験の結果から、一般的にヒトにおける免疫原性及び免疫原性に関連した変化を予測することは適切ではないと考えられている[Kronenberg, 2017]。

2.6.6.9.3. cys-mcMMAF の毒性

MMAF は帯電した C 末端フェニルアラニン残基を有するため、細胞透過性が極めて低い[Doronina, 2006]。このことを反映して、cys-mcMMAF をベランタマブ　マホドチンの毒性試験における曝露量を大きく上回る曝露量で投与したときに認められた毒性は、ADC として投与したときとは異なり、軽度かつ一過性の臨床検査パラメータの変動並びに眼球及び肺の所見のみであった。

2.6.6.9.4. 遺伝毒性試験及びがん原性試験

ベランタマブ　マホドチンの一連の遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施していない。ベランタマブ　マホドチンは、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験で遺伝毒性を示した。Cys-mcMMAF は、細菌を用いる復帰突然変異試験で変異原性を示さず、マウスリンフォーマ TK 試験で遺伝毒性を示さなかった。また、Cys-mcMMAF は、ラットを用いる骨髄小核試験で遺伝毒性を示さなかったが、モノメチルアウリスタチン E（MMAE）は遺伝毒性を示す。この違いは MMAF の細胞透過性が低いことを反映したものと考えられる。ベランタマブ　マホドチンの主な作用機序は cys-mcMMAF を介した微小管の崩壊であり、特に骨髄における分裂の速い細胞を標的とすることから、哺乳類系では異数性（遺伝毒性）を誘発するリスクがある。

2.6.6.9.5. 生殖発生毒性試験

ベランタマブ　マホドチンは進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍薬であり、分裂の速い細胞、特に骨髄細胞を標的とし、胚・胎児発生への影響や催奇形性が予想されること

から、ICH S9 ガイドラインに従い、ベランタマブ　マホドチンを用いた生殖発生毒性試験は実施しなかった。

ラットを用いた反復投与毒性試験結果から、ベランタマブ　マホドチン投与により雌雄の生殖機能及び受胎能に影響を及ぼす可能性が示唆された。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験（3 週間間隔で 4 回投与）では、10 mg/kg/回以上の群の雄全例の精巣において顕著な精細管変性／萎縮及び精巣上体の無精子が認められ、これらの変化に回復性はみられなかった。同試験の雄では下垂体に分泌細胞の細胞質空胞化の増加がみられた。これは視床下部-下垂体-精巣軸の負のフィードバックに関連する精巣病理に伴う二次的な変化と考えられた。精細管変性は、セルトリ細胞及びライディッヒ細胞の機能並びに生殖細胞のパラクリン機能により循環血中に入るインヒビン及び／又はテストステロンの量に影響を及ぼす可能性がある。これにより下垂体刺激ホルモンのネガティブフィードバックループが影響を受ける可能性がある[Creasy, 2008]。精細管の変化は、休薬期間終了後も認められた。性的に未成熟なサルにおいて、10 mg/kg/週の週 1 回、計 5 回投与後に軽微～軽度の精細管変性がみられたが、12 週間の休薬期間終了後に完全に回復した。30 mg/kg/週群の雄ラットの乳腺でみられた上皮単細胞壊死は、10 mg/kg/回以上を 3 週間間隔で 4 回投与した雄では小葉萎縮に進行した。10 mg/kg/週以上を週 1 回、計 3 回投与した雌ラットの卵巣では、限局性又は多巣性の黄体化未破裂卵胞も認められた。

2.6.6.9.6. 局所刺激性試験

ベランタマブ　マホドチンをラット及びサルに 3 mg/kg 以上（投与濃度 0.3 mg/mL 以上）の用量で単回静脈内投与したところ、投与部位に局所刺激性がみられた。観察された変化として、AST、アルドラーゼ及びクレアチンキナーゼの変動を伴う限局性の表皮過形成、軽度の血管周囲出血及び／又は炎症／炎症細胞浸潤並びに散発的な骨格筋変性／壊死が認められた。これらの投与部位の変化に対する感受性は、ラットの方がサルよりも高かった。しかし、ベランタマブ　マホドチンをサルに最大 10 mg/kg（投与濃度 2.5 mg/mL まで）を週 1 回 13 週間静脈内投与、ラットには最大 30 mg/kg（投与濃度 3 mg/mL まで）を 3 週間間隔で 4 回静脈内投与したところ、投与部位に投薬に関連した変化は認められなかった。

GSK2857914 をサルに 10 mg/kg/週以上の用量で週 1 回 4 週間静脈内投与したところ、数例の皮膚に変化が認められ、関連する病組織学的所見として、真皮及び表皮の炎症性変化並びに所属リンパ節の二次的変化が認められた。GSK2857914 をサルに 40 mg/kg/週の用量で 13 週間静脈内投与、2 及び 10 mg/kg/週の用量で 13 週間皮下投与しても、同様の変化はみられなかった。GSK2857914 をサルに 13 週間反復皮下投与したところ、2 mg/kg/週以上の群で皮下投与部位に軽微なマクロファージ空胞化及び軽微～軽度の血管周囲単核細胞浸潤が認められた。

2.6.6.9.7. 免疫原性

ラット及びサルの 13 週間反復投与毒性試験において ADA の有無を評価した。短期反復投与後にほとんどのサル及び少数例のラットで投薬に関連した免疫原性が認められたが、曝露量及び薬力学的活性に対する影響はほとんどみられなかった。しかし、サルに 10 mg/kg/

週を反復投与したところ、病理組織学的検査及び IHC 検査において瀕死状態に至る免疫複合体症を示唆する変化が認められ、ADA と関連する可能性が認められた。

2.6.6.9.8.　　サイトカインの変化

In vitro 試験において GSK2857914 を処理してヒト PBMC を NCI-H929 細胞と 24 時間共培養したところ、GSK2857914 による IFN-γ、TNF-α 及び IL-8 の誘導が濃度依存的に認められた。IFN-γ 及び TNF-α は主に NK 細胞によって、IL-8 は単球により産生された。サイトカイン放出は標的との結合及びエフェクター細胞活性化の両者に依存することから、MM 細胞表面上に高レベルで発現している BCMA 標的を有する患者では、サイトカイン放出のリスクがより高くなる。しかし、in vitro において GSK2857914 単独では認められなかったが、GSK2857914 を抗ヒト IgG と架橋結合させたところ、NF-κB の活性化を指標とする NCI-H929 細胞内の BCMA シグナル伝達が認められたことから、GSK2857914 は BCMA 陽性細胞に対してアゴニスト活性を示す可能性があることが示唆された。GSK2857914 を標的及び FcγRIIIA の両方に結合させたとき ADCC 活性が誘導されるリスクは、他の脱フコシル化抗体と同程度と考えられる[Abes, 2009]。また、ベランタマブ　マホドチン投与時には、cys-mcMMAF の非特異的細胞傷害性又は腫瘍細胞致死による二次的な炎症の結果として、サイトカイン放出を生じる可能性がある。

ベランタマブ　マホドチンの単回及び反復投与毒性試験において、サイトカイン（MCP-1、IL-1β、IL-6、TNF-α 及び／又は KC/GRO）の高値がみられたが、ほとんどの場合、関連する体温変化及び一般状態への悪影響は認められなかった。サル 13 週間反復投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチンに関連した MCP-1 高値に伴い、補体フラグメント Bb 及び C3a の高値がみられた。GSK2857914 のサルへの単回及び反復投与後（4 週間反復投与試験）にも、IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値が一部の動物で認められた。補体の活性化は、免疫複合体症でみられる全身性及び組織への変化において重要な役割を担っていることから、これらのサイトカインの変化は、免疫複合体の存在下で進行する全身性炎症過程[Vahle, 2018]及び／又は cys-mcMMAF の非特異的な細胞傷害性による二次的な炎症を反映している可能性がある。

2.6.6.9.9.　　免疫毒性

免疫フェノタイピングの検査では、ベランタマブ　マホドチンを投与したサルにおいて NK 細胞の絶対数及び／又は相対比低値がみられたが、その他の種類の免疫細胞（B 細胞及び T 細胞等）数に対し、投薬による明らかな影響はみられなかった。GSK2867914 の薬理作用に一致して、IgM 及び IgG の低値が 1 mg/kg/週以上の群でみられ、12 週間の休薬期間後にも引き続き認められた。10 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンをサルに週 1 回計 3 回投与した数例の雌においても IgG 低値が認められ、また、13 週間反復投与毒性試験では 3 mg/kg/週群の 1 例で IgG の高値がみられた。

薬理活性、毒性試験成績及び臨床試験成績を基に詳細に評価した結果、ベランタマブ　マホドチンに免疫毒性リスクが特定された。これらのデータに基づき、ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性に関するリスクは十分に評価されており、患者への潜在的ベネフィットを考

慮すると、モニタリングを行うことによりこのリスクは容認可能と考えられる。非臨床試験で観察された免疫毒性を示唆する所見は、免疫複合体形成及び／又はベランタマブ　マホドチンの細胞毒性に伴う全身性炎症（数種類の器官における活性化マクロファージ増加、CRP、MCP-1、白血球数及び補体の高値、アルブミン、赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットの低値並びに血液塗抹標本における形態学的変化）であった。

2.6.6.9.10. 探索試験

ベランタマブ　マホドチンは、細胞膜上の BCMA 受容体発現とは無関係な機序によっても、全身の細胞内に取り込まれる。HCEC 及び RPTEC において、マクロピノサイトーシス阻害剤である EIPA の前処理／併用処理によりベランタマブ　マホドチンの取込み及び／又はベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの減少がみられたことから、この非特異的取込みには、マクロピノサイトーシスが関与していることが示唆された。HCEC 及び RPTEC においてリソソーム内に標識ベランタマブ　マホドチンの局在が認められ、プールした細胞を用いた LC-MS/MS 測定により、cys-mcMMAF の存在が確認された。したがって、これらの細胞にはベランタマブ　マホドチンを異化し、cys-mcMMAF を放出する能力を有することが示された。ベランタマブ　マホドチンを介した細胞毒性は、MMAF による細胞死のメカニズムに一致して微小管脱重合後のアポトーシスを介して発現する。ベランタマブ　マホドチンの取り込み及びアポトーシス作用に対する感受性は、概して HCEC の方が RPTEC より高いことが示された。IVIG の前処理／併用処理により、HCEC におけるベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少がみられた。H1 受容体拮抗薬であるケトチフェン、フェキソフェナジン及びデスロラタジンの前処理／併用処理でも、複数のドナーの HCEC において、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少がみられた。しかし、核数を測定した別の検討では、H1 受容体拮抗薬においてベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を有意に軽減する作用は認められなかった。H1 受容体拮抗薬を用いた試験間の差異については、H1 受容体が刺激状態のときに PKC が活性化され、マクロピノサイトーシスが誘導されるため、試験条件によって HCEC における H1 受容体が刺激されたかどうかを反映している可能性がある。

2.6.6.9.11. 光毒性

リンカー複合体である mcMMAF の UV／可視光領域の吸収スペクトルを測定したところ、290～700 nm の波長において吸収がみられたが、モル吸光係数は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であった。このことから、患者における光安全性に関する懸念はなく、光安全性試験は必要ないと考えられた[ICH S10, 2013]。

2.6.6.9.12. ヒト組織への結合

ベランタマブ　マホドチンのヒト組織への特異的及び非特異的結合性を評価するため、ex vivo 組織交差反応性試験を実施した。陽性対照として使用したヒト脾臓では、ベランタマブ　マホドチンの抗原特異的染色が認められた。ベランタマブ　マホドチンによる特異的な陽性染色は検討した多くの組織でみられた。染色のほとんどは細胞質に認められたが、膜染色の

可能性も完全に否定することはできない。観察されたその他のすべての染色にはばらつきがみられ、非特異的と考えられた。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く、in vivo で抗体が通常到達しない領域（すなわち細胞質）への結合は、概して意義はないと考えられる[Hall, 2008; Leach, 2010]。

2.6.6.9.13. 同等性及び不純物

非臨床試験では、凍結液剤及び凍結乾燥粉末剤（市販予定製剤）の 2 種類の製剤を使用した。非臨床試験用ロット、臨床試験用ロット並びに市販予定用の原薬及び製剤間で生物物理学的、生化学的及び機能的完全性の同等性が示された。個々の不純物含量及び不純物の総量はいずれも ICH Q3A の安全性確認の必要な閾値である 1.0 mg/日未満であること、また、対象となる患者集団や本剤の遺伝毒性を考慮すると、設定した不純物規格は市販用製剤として許容可能なものと考えられる。

2.6.6.9.14. 結論

ベランタマブ　マホドチンのラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、主な悪影響として、体重／体重増加量低値、腎臓の尿細管変性／再生性変化及び糸球体症並びにこれらに関連する蛋白尿及び尿中逸脱酵素（ラットの試験並びにサルの単回及び 13 週間反復投与毒性試験では用量制限毒性）、複数の器官におけるマクロファージ増加及びそれに関連する炎症性の臨床病理パラメータの変化並びに精細管の変性及び萎縮が認められた。サルでは肝酵素パラメータの高値を伴う肝細胞壊死もみられた。ラットでは、造血系に対する毒性及び適応性変化を伴う骨髄細胞密度低下並びに肺胞腔内好酸性物質がみられ、1 例ではそれに関連して好中球性肺胞炎症及び II 型肺胞上皮細胞肥大／過形成も認められた。

ベランタマブ　マホドチンのラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、全投薬群の肺において悪影響と考えられる組織学的変化が認められたことから、無毒性量を推定できず、3 mg/kg/回未満［試験 10 週におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-504 及び Cmax はそれぞれ 10500 µg.hr/mL 及び 131 µg/mL］であった。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg/週群の肝臓に組織学的な悪影響（肝酵素高値を伴う肝細胞壊死）がみられたことから、無毒性量は 1 mg/kg/週［試験 13 週におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 1130 µg.hr/mL 及び 27.3 µg/mL］と推定された。

腎臓の尿細管変性／再生性変化、精巣の精細管でみられた変化、切歯エナメル芽細胞／象牙芽細胞層の変性、単細胞壊死を伴う肝酵素高値、骨髄、脾臓、雄の乳腺、眼及び胸腺におけるリンパ球溶解及び／又は細胞密度の変化並びに卵巣の黄体化未破裂卵胞は、細胞傷害性薬物である MMAF に関連する可能性が高いと考えられる。同様の変化は、アウリスタチン系薬剤又はコルヒチン及びビンブラスチン等の微小管阻害薬でも報告されている[Creasy, 2001; Harris, 2000]。ラットの肺、精巣、歯、卵巣及び雄の乳腺並びにラット及びウサギの眼球で認められた抗原非依存的な悪影響は、ADC（マクロピノサイトーシス等による）及び／又は cys-mcMMAF が抗原を介さずに取り込まれる可能性を示しており、ADC に結合する抗原が存在しない場合、この傾向はより顕著になることが予想される。

精巣（二次的な下垂体の変化を含む）及び肺で認められた進行性の組織学的変化並びにIgM の変化を除き、ラット及びサルにおける変化のほとんどは、12 週間の休薬期間により回復又は回復傾向を示した。10 mg/kg/週群の休薬群サル 1 例にみられた血管炎／血管周囲炎は、安楽死例（雄）の血管で認められた変化（血管フィブリノイド壊死）と比較してその程度は明らかに軽減しており、軽微な慢性炎症像を呈していたことから、休薬による回復性を示す所見の可能性がある。この変化の原因は免疫複合体症に関連していると考えられることから、完全回復には 12 週間以上要することが予想される[Frazier, 2015]。

ベランタマブ　マホドチンの薬理作用に一致して、サルでは免疫グロブリン及び NK 細胞の持続的な低値が認められた。

MMAF は帯電した C 末端フェニルアラニン残基を有するため、細胞透過性が極めて低い[Doronina, 2006]。このことを反映して、cys-mcMMAF をベランタマブ　マホドチンの毒性試験における曝露量を大きく上回る曝露量で投与したときに認められた毒性は、ADC として投与したときとは異なり、軽度かつ一過性の臨床検査パラメータの変動並びに眼球及び肺の所見のみであった。

以上より、ベランタマブ　マホドチンの予定臨床用法・用量での使用は支持されると考えられた。

表 2.6.6.11 ベランタマブ マホドチンのラット及びサルにおける静脈内投与時の主要な毒性所見

Finding	Rat		Monkey	
	Effect Dose (mg/kg/dose[a])	No-Effect Dose (mg/kg/dose[a])	Effect Dose (mg/kg/week)	No-Effect Dose (mg/kg/week)
Morbidity[h]	100	30	10	3
Body weight loss/reduced gain Food consumption reduced	10 30	3 10	1 3	ND 1
Kidney: tubular degeneration/regeneration; glomerulopathy; mild necrosis of the urothelium; minimal single cell necrosis or kidney and/or urinary bladder; proteinuria and enzymuria	30	10	10	3
Vascular changes: fibrinoid vascular necrosis (intestinal tract, mesenteric lymph node and thymus) with secondary hemorrhages and ascites	NO	NO	10	3
Inflammation: increased macrophages with mitotic figures in liver (also Kupffer cell hypertrophy/hyperplasia), bone marrow, kidney, spleen, brain (choroid plexus) and thymus; EMH; elevated CRP; decreased albumin; increased WBCs, decreased red cell mass, Red blood cell morphology: schistocytes and/or spherocytes and/or central pallor; decreased platelets (with rebound reticulocytosis and release of nucleated RBC)	10[b]	3[b]	3	1

表 2.6.6.11 ベランタマブ マホドチンのラット及びサルにおける静脈内投与時の主要な毒性所見（続き）

Finding	Rat		Monkey	
	Effect Dose (mg/kg/dose[a])	No-Effect Dose (mg/kg/dose[a])	Effect Dose (mg/kg/week)	No-Effect Dose (mg/kg/week)
Myelotoxicity: Bone marrow-decreased cellularity/bone remodeling, inflammatory cell infiltration/ Liver: extramedullary hematopoiesis, increased liver weights/ decreased RBC, WBC, and reticulocytes (with rebound reticulocytosis and WBC) and increased platelets	10	3	NO	NA
Lung: Eosinophilic material in alveolar airspaces/prominent alveolar macrophages; Perivascular inflammatory cell infiltrates	3	ND	NO	NA
Macrophage aggregates, inflammatory cell infiltration including neutrophilic, type 2 pneumocyte hyperplasia/hypertrophy and alveolar wall thickening	10	3	NO	NA
Liver, adipose and/or skeletal muscle: Increased GGT, total bilirubin, fibrinogen and lipid changes, APTT and/or AST, GLDH, ALP, ALT; associated with hepatocellular necrosis and cellular infiltrates in the monkey. Increased skeletal troponin I and/or creatine kinase and aldolase; encapsulated hematomas near blood withdrawal sites.	10	3	3	1
Immunophenotyping: decreased NK cells Increased activated B cells	--	--	3 10	1 3
Eyes: Increased mitoses of corneal epithelial cells with bilateral corneal single cell necrosis[d]	3	ND	NO	NA
Injection site reactions	3[g]	ND	3[g]	ND

表 2.6.6.11 ベランタマブ マホドチンのラット及びサルにおける静脈内投与時の主要な毒性所見（続き）

Finding	Rat		Monkey	
	Effect Dose (mg/kg/dose[a])	No-Effect Dose (mg/kg/dose[a])	Effect Dose (mg/kg/week)	No-Effect Dose (mg/kg/week)
Thymus: decreased cellularity, lymphocytolysis, reduced size/weight, inflammatory cell infiltrate	10	3	3	1
Spleen: lymphocytolysis/decreased lymphoid cellularity/reduction in incidence and severity of extramedullary hematopoiesis	10	3	3	1
Lymph nodes: multinucleate giant cells decreased cellularity	30 NO	10 NO	NO 3	NA 1
Reproductive Organs Ovaries: luteinized nonovulatory follicles Testes: degeneration/atrophy of seminiferous tubules/reduced weights Mammary gland: epithelial cell necrosis	10 10[f] 10[c]	3 3[f] 10[c]	NO 10 NO	NA 3 NA
Pituitary cytoplasmic vacuolation of secretory cells of the pars distalis	10[f]	3[f]	NO	NO
Immunoglobulins: decreased serum IgM decreased serum IgG increased serum IgG increased serum IgA increased serum IgM	NO NO NO 30 10	NA NA NA 10 3	1 10 3 NO NO	ND 3 1 NO NO
Cytokines: higher MCP-1[a], IL1β, IL-6, KC/GRO and TNF-α concentrations increased complement Bb and C3a	10	3	1 1	ND[e]

表 2.6.6.11 ベランタマブ マホドチンのラット及びサルにおける静脈内投与時の主要な毒性所見（続き）

Finding	Rat		Monkey	
	Effect Dose (mg/kg/dose[a])	No-Effect Dose (mg/kg/dose[a])	Effect Dose (mg/kg/week)	No-Effect Dose (mg/kg/week)
Teeth (incisors): degeneration of ameloblast and odontoblast layers with altered tooth matrices	10	3	NA	NA

Key:
a = Weekly dosing interval in the 3 week study and every three week dosing interval in 13 week study
b = An increase in pigmented macrophages in spleen of rats
c = Males only.
d = Also observed in the rabbit (non-GLP) tolerability and ocular toxicity study
e = Only measured in monkey given 1 mg/kg/week
f = Although marked degeneration/atrophy of seminiferous tubules and cytoplasmic vacuolation of secretory cells in pars distalis was observed in one male at 3 mg/kg/dose, this was considered incidental and not belantamab mafodotin-related as it was a single incidence at this dose level and it can occur frequently as a background finding.
g = Only observed in 3 week rat study and single dose rat and monkey studies.
h = Morbidity occurred in rats administered a single dose of 100 mg/kg, on Day 9/10 and in monkeys administered 10 mg/kg/week, after 5 doses.
-- = Not measured;
ALT = Alanine aminotransferase; AST = Aspartate aminotransferase; CRP = C reactive protein;
GGT = Gamma glutamyltransferase; GLDH = Glutamate dehydrogenase; IgA = Immunoglobulin A;
IgG = Immunoglobulin G; IgM = Immunoglobulin M; IL1b = Interleukin-1β, IL 6 = Interleukin-6;
KC/GRO = Keratinocyte chemoattractant/growth-regulated oncogene;
MCP-1 = Monocyte chemotactic protein-; NA = Not applicable;ND = No-effect dose was not determined;
NK = Natural killer; NO = Not observed;TNF-α = Tumor necrosis factor alpha; WBC = White blood cell.

表 2.6.6.12 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較
（ADC 及び総 mAb）

Study	Dose (mg/kg/week)	End of study data				Exposure multiple (animal:human)[f]			
		AUC0-τ[a] (µg.h/mL)		Cmax (µg/mL)		AUC		Cmax	
		ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb
Rat 3 week[b]	**3**	**6100**	**7160**	**103**	**105**	**1.0 [1.1]**	**0.6 [0.7]**	**2.0 [2.2]**	**1.8 [1.9]**
2013N174857	10	21750	25750	303	300	3.5 [4.0]	2.0 [2.5]	5.8 [6.5]	5.2 [5.3]
(R30467G)	30	48600	57000	764	771	7.8 [8.9]	4.4 [5.5]	14.7 [16.4]	13.5 [13.6]
Rat 13 week[cg]	3	10500	12700	131	133	1.7 [1.9]	1.0 [1.2]	2.5 [2.8]	2.3 [2.3]
2018N374327	10	37300	42400	451	406	6.0 [6.8]	3.3 [4.1]	8.7 [9.7]	7.1 [7.2]
(R32025G)	30	90200	107000	1250	1160	14.5 [16.4]	8.2 [10.3]	24.1 [26.9]	20.2 [20.5]
Monkey 3 week[b]	**1**	**1240**	**1520**	**27.5**	**27.3**	**0.2 [0.2]**	**0.1 [0.1]**	**0.5 [0.6]**	**0.5 [0.5]**
2013N158643	3	3760	4620	63.3	68.2	0.6 [0.7]	0.4 [0.4]	1.2 [1.4]	1.2 [1.2]
(P70260G)	10	21500	25900	292	306	3.5 [3.9]	2.0 [2.5]	5.6 [6.3]	5.3 [5.4]
Human[di]	2.5[e]	6203 [5490]	12999 [10400]	51.8 [46.5]	57.3 [56.6]				

表 2.6.6.12 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較（ADC 及び総 mAb）（続き）

Study	Dose (mg/kg/week)	End of study data				Exposure multiple (animal:human)[f]			
		AUC0-τ[a] (µg.h/mL)		Cmax (µg/mL)		AUC		Cmax	
		ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb
Monkey 13 week[b]	**1**	**1130**	**1500**	**27.3**	**29.0**	**0.2 [0.2]**	**0.1 [0.1]**	**0.5 [0.6]**	**0.5 [0.5]**
2018N375127	3	6720	8030	93.9	103	1.1 [1.2]	0.6 [0.8]	1.8 [2.0]	1.8 [1.8]
(P71346G)	10[h]	21500	29400	311	368	3.5 [3.9]	2.3 [2.8]	6.0 [6.7]	6.4 [6.5]
Human[di]	2.5[e]	6203 [5490]	12999 [10400]	51.8 [46.5]	57.3 [56.6]				

Key:
a = AUC0-τ – Area under the curve at steady state over the dosing interval.
b = Animals dosed once a week.
c = Animals dosed every three weeks.
d = Geometric mean data from clinical Study 207495 Cycle 3; m5.3.5.1. The values in square brackets are the Japanese exposure from clinical Study 207495 Cycle 3; m2.7.6. Table 41 and 42.
e = 2.5 mg/kg every 3 weeks.
f = Exposure multiples given to 2 significant figures or a maximum of 1 decimal place. No correction has been made to consider the difference in dosing interval between animals and human.
g = NOAEL not defined.
h = Exposure data from Week 4 as animals in this group were terminated early due to findings related to immune complex disease as a result of anti-drug antibodies. The values in square brackets are calculated based on the Japanese exposure.
i = Human exposure data from clinical studies 207503 and 207499 where belantamab mafodotin was given in combination settings were similar to human exposure data from clinical study 207495 where belantamab mafodotin was given in monotherapy setting.
ADC = Antibody-drug conjugate [belantamab mafodotin (ADC)].
mAb = Total monoclonal antibody [belantamab mafodotin (total mAb)].
NA = Not Applicable – animals were last dosed during Week 5
NOAEL = No observed adverse effect level (in **bold**).

表 2.6.6.13 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較
（cys-mcMMAF）

Study	Dose of belantamab mafodotin (mg/kg/week)	End of study data		Exposure multiple (animal:human)[f]	
		AUC0-t[a] (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC	Cmax
Rat 3 week[b]	**3**	**258**	**3.90**	**3.1 [3.9]**	**4.9 [5.8]**
2013N174857	10	1245	16.6	15.1 [18.9]	20.7 [24.6]
(R30467G)	30	2785	53.4	33.8 [42.3]	66.6 [79.0]
Rat 13 week[c]	3	NC	NQ	NC	NC
2018N374327	10	66.0	1.71	0.8 [1.0]	2.1 [2.5]
(R32025G)	30	391	6.81	4.7 [5.9]	8.5 [10.1]
Monkey 3 week[b]	**1**	**12.1**	**0.499**	**0.1 [0.2]**	**0.6 [0.7]**
2013N158643	3	73.6	1.97	0.9 [1.1]	2.5 [2.9]
(P70260G)	10	350	5.40	4.2 [5.3]	6.7 [8.0]
Human[dh]	2.5[e]	82.5[g] [65.9]	0.802 [0.676]		

表 2.6.6.13 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較（cys-mcMMAF）（続き）

Study	Dose of belantamab mafodotin (mg/kg/week)	End of study data		Exposure multiple (animal:human)[f]	
		AUC0-t[a] (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC	Cmax
Monkey 13 week[b]	**1**	**NC**	**0.125**	**NC**	**0.2 [0.2]**
2018N375127	3	25.3	0.415	0.3 [0.4]	0.5 [0.6]
(P71346G)	10	NA	NA	NA	NA
Human[dh]	2.5[e]	82.5[g] [65.9]	0.802 [0.676]		

Key:

a = AUC0-τ – area under the curve at steady state over the dosing interval.
b = Animals dosed once a week.
c = Animals dosed every three weeks
d = Geometric mean data from clinical study 207495 Cycle 3, m5.3.5.1. The values in square brackets are the Japanese exposure from clinical Study 207495 Cycle 3; m2.7.6. Table 43.
e = 2.5 mg/kg every 3 weeks.
f = Exposure multiples given to 2 significant figures or a maximum of 1 decimal place. No correction has been made to consider the difference in dosing interval between animals and human. The values in square brackets are calculated based on the Japanese exposure.
g = AUC0-168hr.
h = Human exposure data from clinical studies 207503 and 207499 where belantamab mafodotin was given in combination settings were similar to human exposure data from clinical study 207495 where belantamab mafodotin was given in monotherapy setting.
NA = Not Applicable – animals were last dosed during Week 5. NC = Not Calculated; NQ = Not Quantifiable.
NOAEL = No observed adverse effect level (in **bold**).

2.6.6.10. 図表

本文中に記載した。

2.6.6.11. 参考文献

Reference Reports

GlaxoSmithKline Document Number 2019N410329, m4.2.3.7.3.
Characterisation of Three Different Primary Human Corneal Epithelial Cell Lines with limited characterisation of renal proximal tubule epithelial cells (MatTek, ScienCell and ATCC), (2019).

Key Literature References

GlaxoSmithKline is unable to supply a copy of references marked with an "*" at the time of this submission as the company does not have the necessary legal copyright clearance.

Abes R, Dutertre C, Agnelli L, Teillaud J. Activating and inhibitory Fcγ receptors in immunotherapy: being the actor or being the target. Expert Rev Clin Immunol. 2009;5:735-47.

Bellhorn R.W, Korte G.E and Abrutyn D. Spontaneous corneal degeneration in the rat. Laboratory Animal Science, 1988;Feb;38(1):46-50.

Brown L, Pasquale S, Longmore W. Role of microtubules in surfactant secretion. J Applied Physiol. 1985;58:1866-73.

*Bugelski P J and Treacy G. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. Current Opinion in Molecular Therapeutics, 2004;6:10-6.

Creasy D. Pathogenesis of male reproductive toxicity. Toxicol Pathol. 2001;29:64-76.

*Creasy, D. M. (2008). Endocrine disruption: A guidance document for histologic evaluation of endocrine and reproductive tests (Organization of Economic Cooperation and Development).

Donaghy H. Effects of antibody, drug and linker on the preclinical and clinical toxicities of antibody-drug conjugates. MAbs. 2016;8(4):659–671.

Doronina S, Mendelsohn B, Bovee T, Cerveny C, Alley S, Meyer D, et al. Enhanced activity of monomethylauristatin F through monoclonal antibody delivery: effects of linker technology on efficacy and toxicity. Bioconjugate Chemistry. 2006;17:114-24.

Eaton J S, Miller P E, Mannis M J, Murphy C J. Ocular adverse events associated with antibody-drug conjugates in human clinical trials. J of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 2015; 31(10): 589-604.

Fong A, Durkin A, Lee H. The potential of combining tubulin-targeting anticancer therapeutics and immune therapy. International Journal of Molecular Sciences 2019 20:3 Article Number 586.

Frazier K.S, Engelhardt J.A, Fant P, Guionaud S, Henry S.P, Leach M.W, Louden C, Scicchitano M.S, Weaver J.L, Zabka T.S. Scientific and regulatory policy committee points-to-consider paper: Drug-

induced vascular injury associated with nonsmall molecule therapeutics in preclinical development: Part I. Biotherapeutics Toxicologic Pathology, 2015;43:915-34.

Fukui, H., et al. Histamine H1 Receptor Gene Expression and Drug Action of Antihistamines. In: Hattori, Y., Seifert, R. (eds) Histamine and Histamine Receptors in Health and Disease (2016). Handbook of Experimental Pharmacology, vol 241. Springer, Cham.

Gonzalez, G., Sasamoto, Y., Ksander, B.R., Frank, M.H., Frank, N.Y. Limbal stem cells: identity, developmental origin, and therapeutic potential. Wiley Interdisciplinary Reviews Developmental Biology. 2018;7(2):e303.

Guo, Y., Ramachandran, C., Satpathy, M. et al. Histamine-induced Myosin Light Chain Phosphorylation Breaks Down the Barrier Integrity of Cultured Corneal Epithelial Cells. Pharm Res 24, 1824-1833 (2007). https://doi.org/10.1007/s11095-007-9309-1

Hall W, Price-Schiavi S, Wicks J and Rojko J L. Tissue Cross-Reactivity Studies for Monoclonal Antibodies: Predictive Value and Use for Selection of Relevant Animal Species for Toxicity Testing. In: Cavagnaro JA, editor. Preclinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals: A Science-Based Approach to Facilitating Clinical Trials. Wiley-Interscience, 2008:208-40.

Harris R. Marx G, Gillett M, Kark A, Arunanthy S. Colchicine-induced bone marrow suppression: treatment with granulocyte colony-stimulating factor. J Emerg Med. 2000;18: 435-40.

Hayakawa K, Mimura Y, Tachibana S, Furuya M, Kodama T, Aoki T et al. A study for collecting background data on Wistar Hannover [Crl:WI(Han)] rats in general toxicity studies- comparative data to Sprague Dawley rats. Journal of Toxicological Sciences, 2013:38:855-873.

Jain S. A Phase I/II Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Single-Center, Tolerability and Preliminary Efficacy Clinical Trial of Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Eye Drops In Patients with Dry Eye Disease. Clinical Research Protocol. Version: 3.0; 2019.

Kerlin R, Bolon B, Burkhardt J, Francke S, Greaves, P., Meador V et al. Scientific and Regulatory Policy Committee: Recommended (“Best”) Practices for Determining, Communicating, and Using Adverse Effect Data from Nonclinical Studies. Toxicologic Pathology, 2016;44(2), 147–162.

Kronenberg S, Husar E, Schubert C, Freichel C, Emrich T, Lechmann M, et al. Comparative assessment of immune complex-mediated hypersensitivity reactions with biotherapeutics in the non-human primate: Critical parameters, safety and lessons for future studies. Reg Toxicol Pharmacol, 2017;88:125-137.

Leach MW, Halpern WG, Johnson CW et al. Use of tissue cross-reactivity studies in the development of antibody-based biopharmaceuticals: history, experience, methodology, and future directions. Toxicol Pathol, 2010;38(7):1138-66.

Lin, H-P et al., Identification of novel macropinocytosis inhibitors using a rational screen of Food and

Drug Administration-approved drugs. BJP, 2018, 175 p.3640-3655.

Mizuguchi H, Miyamoto Y, Terao T, Yoshida H, Kuroda W, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H. Signaling Pathway of Histamine H1 Receptor-Mediated Histamine H1 Receptor Gene Upregulation Induced by Histamine in U-373 MG Cells. Curr Issues Mol Biol. 2021 Sep 24;43(3):1243-1254. doi: 10.3390/cimb43030088. PMID: 34698097; PMCID: PMC8929123.

Moe H and Mikkelsen H. On the effect of vinblastine on ameloblasts of rat incisors in vivo. 2. Protracted effect on secretory ameloblasts. A light microscopical study. Acta Pathol Microbiol Scand, 1977;85:319-29.

Nilsson R, Mårtensson, Eriksson S, Sjögren H, Tennvall J. Toxicity-reducing potential of extracorporeal affinity adsorption treatment in combination with the auristatin-conjugate monoclonal antibody BR96 in a syngeneic rat tumor model. Cancer. 2010;116:1033-42.

Palazzi X, Burkhardt J E, Caplain H, Dellarco V, Fant P, Foster J R et al. Characterizing “Adversity” of Pathology Findings in Nonclinical Toxicity Studies: Results from the 4th ESTP International Expert Workshop. Toxicologic Pathology, 2016;44(6), 810–824.

Satoh H, Uesugi Y, Kawabata T, Mori K, Fujii F, Kashimoto Y, et al. Morphological classification of dental lesions induced by various anti-tumor drugs in mice. Toxicol Pathol. 2001;29:292-99.

UniProt website. Accessed 1 Aug 2024. https://www.uniprot.org/

Vahle JL. Immunogenicity and immune complex disease in preclinical safety studies. Toxicologic Pathology, 2018;46:1013-9. doi: 10.1177/0192623318797070.

Waight, A. B., Bargsten, K., Doronina, S., Steinmetz, M. O., Sussman, D., & Prota, A. E. Structural Basis of Microtubule Destabilization by Potent Auristatin Anti-Mitotics. PloS one, 2016;11(8) e0160890.

Guidelines (Not Provided)

ICH M7(R1) (EMA/CHMP/ICH/83812/2013). Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk. February 2018.

ICH Q6B Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products. September 1999.

ICH Q3A(R2) (CPMP/ICH/2737/99): Impurities in New Drug Substances. October 2006.

ICH S6(R1) (EMA/CHMP/ICH/731268/1998) Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. July 2011.

ICH S9. Harmonised Tripartite Guideline, 2009. EMEA/CHMP/ICH/646107/2008. Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals.

ICH S9 Implementation Working Group ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals Questions and Answers. 2016.

ICH S10 (EMA/CHMP/ICH/752211/2012). Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals. December 2013.

ICH S1A (CPMP/ICH/140/95): Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies, December, 1995.

UKEMS (1990). Basic mutagenicity tests: UKEMS recommended procedures. UKEMS Sub-committee on guidelines for mutagenicity testing. Report Part 1 revised. Ed. Kirkland, D.J. Cambridge University Press.

Appendix 1 ADDITIONAL INFORMATION

The following reports have been reviewed within GlaxoSmithKline (GSK) and the information is considered to have no bearing on safety. These reports are not included in the study listing tables for the following reasons:

Report No. (Study No.)	Title	Reason for Exclusion from Study Listing Tables
2012N146412	GSK2857914: Formulation Stability Assessment in 50mM sodium acetate trihydrate, 51mM sodium chloride, 1% (w/v) L-arginine, 0.05mM edetate disodium dihydrate (EDTA) and 0.02% polysorbate 80 in Water for Injection USP, pH 5.5 ± 0.2	Stability reports for formulations used in nonclinical studies.
2012N149515	Evaluation of Immunoglobulin G2 (IgG2) and Immunoglobulin M2 (IgM2) (Siemens Diagnostics) for Measurement of IgG and IgM in Monkey Serum on the Advia 1650/1800 analyzer	Of a general research nature that yielded no significant safety or efficacy information or was superseded by other studies
2019N415207	Validation (GLP) of an HPLC/UV assay for the SGD-1362 in phosphate buffered saline (Study 1019-011)	Dose analysis method
2019N415365	Analytical method validation and stability determination for cys-mcMMAF in dosing formulations (Study 7646-145)	
2019N415371	Validation of an analytical method for SGD-1362 in phosphate buffered saline using HPLC (Study AE01BX.GTCHEM.BTL)	
2019N415373	Validation of an analytical method for SGD-1362 in DMSO by HPLC (Study AE01BX.GTCHEM2.BTL)	
2017N320605	4 Week Intravenous Injection Toxicity Summary for cys-mc-MMAF in Rats with an 8 Week Recovery Period	Conducted at low doses, yielded no significant safety information
2020N437144	The Acute Effects of Monomethyl Auristatin F (MMAF) administered intravenously in the Rat	
2019N423979	GSK2857916: Investigative proteomics study on tear composition in New Zealand White Rabbits	Of a general research nature that yielded no significant safety or efficacy information
2019N413494	Ex-vivo Study to Investigate the Immunohistochemistry Staining Profile of Selected Protein Markers in Human and Rat Cornea	Method development
2020N439277	In Vivo Rat Bone Marrow Micronucleus Assay (SGD-1010)	Genotoxicity assay conducted with MMAE (SGD-1010)
2023N529753	GSK2857914A: 4-Week (Once Weekly) Subcutaneous Dose Range Tolerability Study in Monkeys (GSK Study No. P72952N)	Study conducted on GSK2857914 in support of SLE indication, yielded no significant safety information for the ADC

Early screening assays undertaken to identify genotoxic potential have not been included in this listing. However, this information has been reviewed within GSK and is considered to have no bearing on safety and are superseded by definitive studies.

Appendix 2 TEST ARTICLE AND ANALYTE DESCRIPTIONS

Table A2.1 Test Article and Analyte Descriptions for In Vitro Studies

Report No	Study	Description of test article in report	Description of test article in submission documents	Analyte description in report	Analyte description in submission documents
2019N406489	Bacterial reverse mutation	cys-mcMMAF (SGD-1362)	cys-mcMMAF	Not applicable	Not applicable
2019N406496	Mouse Lymphoma assay	cys-mcMMAF (SGD-1362)	cys-mcMMAF	Not applicable	Not applicable
2019N416146	In vitro micronucleus	GSK2857916	Belantamab mafodotin	Not applicable	Not applicable
2013N173704	Cytokine release assessment	GSK2857914	GSK2857914	Not applicable	Not applicable
2019N410330	Cytotoxicity assessment in HCEC and RPTEC	GSK2857916 and GSK2857914	Belantamab mafodotin and GSK2857914	Not applicable	Not applicable
2020N437131	Cytotoxicity assessment in HCEC	GSK2857916 and GSK2857914	Belantamab mafodotin and GSK2857914	Not applicable	Not applicable
2013N169796	Tissue cross reactivity (pilot)	GSK2857916 and GSK2857914	Belantamab mafodotin and GSK2857914	Not applicable	Not applicable
2013N176627	Tissue cross reactivity (definitive)	For the purposes of this study the "Test Article", GSK2857916, was complexed with Anti-idiotype mAb S389105H11 and identified as 'GSK2857916 conjugate'	Belantamab mafodotin	Not applicable	Not applicable

Table A2.2 Test Article and Analyte Descriptions for In Vivo Studies Following Administration of Belantamab Mafodotin

Report No	Study	Description of test article in report	Description of test article in submission documents	Analyte description in report	Analyte description in submission documents
2012N134122	Single dose rat	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 Total mAb cys-mcMMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2012N133495	Single dose monkey	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 GSK2857914 MMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2013N174857	3-week rat	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 (ADC) GSK2857916 (Total) cys-mcMMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2018N374327	13-week rat	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 (ADC) GSK2857916 (mAb) cys-mcMMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2018N385412	2/4-week rabbit	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 (ADC) GSK2857916 (Total mAb) cys-mcMMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2013N158643	3-week monkey	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 (ADC) GSK2857916 (Total) cys-mcMMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF
2018N375127	13-week monkey	GSK2857916	Belantamab mafodotin	GSK2857916 (ADC) GSK2857916 (mAb) MMAF	Belantamab mafodotin (ADC) Belantamab mafodotin (Total mAb) cys-mcMMAF

Table A2.3 Test Article and Analyte Descriptions for In Vivo Studies Following Administration of Cys-mcMMAF

Report No	Study	Description of test article in report	Description of test article in submission documents	Analyte description in report	Analyte description in submission documents
2013N177526	Single dose rat	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF
2013N177529	Single dose monkey	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF
2019N406497	In vivo rat micronucleus	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF	Not applicable	Not applicable
2013N177527	5-day rat	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF
2013N177530	5-day monkey	SGD-1362 (cys-mcMMAF)	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF	cys-mcMMAF

Table A2.4 Test Article and Analyte Descriptions for In Vivo Studies Following Administration of GSK2857914

Report No	Study	Description of test article in report	Description of test article in submission documents	Analyte description in report	Analyte description in submission documents
2012N150466	4-week monkey	GSK2857914	GSK2857914	GSK2857914	GSK2857914
2023N536587	13-week monkey	GSK2857914	GSK2857914	GSK2857914	GSK2857914

2.6.7. 毒性試験概要表

1. TOXICOLOGY: OVERVIEW FOR BELANTAMAB MAFODOTIN

Table 1.1 List of Single Dose Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Dose range finding[c]	Rat (Wistar Han)	4M/4F[a] (3M/3F[TK])	IV (bolus)	ADC	10, 30, 100	Single	No	GSK	2012N134122 (R29778)	m4.2.3.1
Dose range finding[c]	Monkey (cynomolgus)	1M/1F[b]	IV (bolus)	ADC	3, 10, 30	Single	No	GSK	2012N133495 (D11146)	m4.2.3.1
Dose range finding[c]	Rat (SD)	3F (3F[R])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	2.5, 10, 17.5, 25	Single	No	[redacted]	2013N177526 (R-TOX-44)	m4.2.3.1
Dose range finding	Monkey (cynomolgus)	1M/1F	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 3, 6,10	Single	Yes	[redacted]	2013N177529 (1019-008)	m4.2.3.1

Key:
a = Additional 4/sex/group included in control, 30 and 100 mg/kg dose groups for evaluation after off-treatment period
b = Additional 1/sex/group included in control, 3 and 30 mg/kg dose groups for evaluation after off-treatment period.
c = Assessment of local tolerance conducted as part of this study.
IV = Intravenous
R = Additional animals/group for evaluation after off-treatment period.
SD = Sprague-Dawley.
TK = Additional rats/sex/group for toxicokinetic investigations only.

Test Articles:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].

Testing Facility:
GSK = GlaxoSmithKline
[redacted] = [redacted]

Table 1.2 List of Repeat Dose Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
3 Weeks[d,f]	Rat (Wistar Han)	10M/10F[a] (6M/6F[TK])	IV (infusion)	ADC	**3**, 10, 30	3 Weeks[c] (once weekly)	Yes	GSK	2013N174857 (R30467G)	m4.2.3.2
13 Weeks[f]	Rat (Wistar Han)	12M/12F[h] (6M/6F[TK])	IV (infusion)	ADC	3, 10, 30[i]	13 Weeks[c] (once every 3 weeks)	Yes	[redacted]	2018N374327 (R32025G)	m4.2.3.2
3 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F[b]	IV (bolus)	ADC	**1**, 3, 10	3 Weeks[c] (once weekly)	Yes	GSK	2013N158643 (P70260G)	m4.2.3.2
13 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F[R1])	IV (bolus)	ADC	**1**, 3, 10	13 Weeks[c] (once weekly)	Yes	[redacted]	2018N375127 (P71346G)	m4.2.3.2
5 Days[f]	Rat (SD)	10M/10F (5M/5F[R]) (Up to 12M/12F[TK])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 5, **10** mg/kg/day	5 Days	Yes	[redacted]	2013N177527 (1019-010)	m4.2.3.2
5 Days[f,g]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F (2M/2F[R])	IV (bolus)	cys-mcMMAF	0.5, 2, **5** mg/kg/day	5 Days	Yes	[redacted]	2013N177530 (1019-009)	m4.2.3.2

List of Repeat Dose Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin (Continued)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
4 Weeks[e,f]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F	IV (bolus)	MAB	10, 30, 100	4 Weeks (once weekly)	Yes	GSK	2012N150466 (P70204G)	m4.2.3.2
13 Weeks[f,g]	Monkey (cynomolgus)	3M/3F, 4M/4F[i] 3M/3F	SC IV (bolus)	MAB	2, 10 40	13 Weeks (once weekly)	Yes	[redacted]	2023N536587 (P73042G)	m4.2.3.2

Key:
Bold = Dose considered to be no observed adverse effect level (NOAEL).
a = Additional 12M/12F included on the control group and 6M/6F on the 3 and 30 mg/kg groups for off-dose investigations.
b = Additional 2M/2F included in control and 3 mg/kg groups for off-dose investigations.
c = Dosing was followed by a 12 week off-dose period.
d = Cardiovascular evaluation conducted as part of this study (cardiac troponin I only).
e = Cardiovascular evaluation conducted as part of this study [electrocardiogram].
f = Assessment of local tolerance conducted as part of this study.
g = Cardiovascular and respiratory evaluation conducted as part of this study (ECG, blood pressure, respiratory rate and heart rate).
h = Additional 6M/6F included on the control group and on the 10 and 30 mg/kg/week groups for off-dose investigations.
i = A NOAEL was not established but it is less than 3 mg/kg/dose.
j = Dosing for SC 2 mg/kg/week group only.
IV = intravenous; R = Additional animals/sex/group for evaluation after off-treatment period.
R1 =Additional 2M/2F included on the control group and on the 3 and 10 mg/kg groups for off-dose investigations. SD = Sprague-Dawley.:
TK = Additional animals/sex/group for toxicokinetic investigations only.

Test Articles:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

Testing Facility:
[redacted] = [redacted].
[redacted] = [redacted]
(On [redacted] the legal entity [redacted] was renamed as [redacted]).
GSK = GlaxoSmithKline
[redacted] = [redacted]

Table 1.3 List of Genotoxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Bacterial Mutation (Ames) assay	S. typhimurium E. coli	NA	In vitro	cys-mcMMAF	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	[redacted]	2019N406489 (AE01BX.502ICH.BTL)	m4.2.3.3.1
Mouse lymphoma assay	L5178Y TK$^{\pm}$ cells	NA	In vitro	cys-mcMMAF	0.475 to 16.9 µg/mL[b]	NA	Yes	[redacted]	2019N406496 (AE01BX.704ICH.BTL)	m4.2.3.3.1
In vitro micronucleus	Human PBL	NA	In vitro	ADC	577 µg/mL[c]	NA	No	GSK	2019N416146 (hVMNT56)	m4.2.3.3.1
Micronucleus test	Rat (SD)	5M[a]	IV (bolus)	cys-mcMMAF	10, 17.5 and 25	Single	Yes	[redacted]	2019N406497 (AE01BX.125M012ICH.BTL)	m4.2.3.3.2

Key:
a = 5/group were sampled 24 hours following a single dose, an additional 5 (control and 25 mg/kg groups only) were sampled 48 hours following a single dose.
b = Concentration range specified includes only those analyzed for mutation frequency.
c = Concentration range specified includes only those analyzed for induction of micronuclei.
IV = Intravenous; NA = Not applicable;
PBL = Peripheral Blood Lymphocytes; SD = Sprague-Dawley.

Test Articles:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

Table 1.4 List of Carcinogenicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

No studies conducted.

Table 1.5 List of Reproductive and Developmental Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

No studies conducted.

Table 1.6 List of Local Tolerance Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

No stand-alone studies conducted.

Table 1.7 List of Other Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Cytokine release assessment	Human PBMCs; and NCI-H929 cell line	NA	Ex vivo/in vitro	MAB	0.1 to 10 µg/mL	NA	No	GSK	2013N173704 (V70385N)	m4.2.3.7.2
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 577 µg/mL	NA	No	GSK	2019N410330 (N70517-1)	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2020N437131	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 5 donors	In vitro	cys-mcMMAF	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2021N478152	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 6 donors	In vitro	cys-mcMMAF, MMAE	Up to 50 µg/mL	NA	No	GSK	2022N506460	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2022N507716	m4.2.3.7.3
Assessment of cytotoxicity	Human HCEC and RPTEC	Up to 5 donors	In vitro	ADC	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2023N528622	m4.2.3.7.3
Concentration range finding	Human HCEC and RPTEC	Up to 6 donors	In vitro	MAB	Up to 10 mg/mL	NA	No	GSK	2022N508021	m4.2.3.7.3
Transcriptomics	Human HCEC	Up to 3 donors	In vitro	ADC, MAB	Up to 100 µg/mL	NA	No	GSK	2022N502360	m4.2.3.7.3

List of Other Toxicity Studies Performed to Support the Development of Belantamab Mafodotin(Continued)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (NZW)	3F	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 4 weeks[a]	No	GSK	2018N385412[c] (L32295N)	m4.2.3.2
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (DB)	6F	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 7 weeks[b]	No	GSK	2021N465838[c] (L71822N)	m4.2.3.2
Ex vivo Tissue Cross Reactivity (pilot – non-GLP)	Human cell lines and human/ cynomolgus monkey tissues	NA	Ex vivo	ADC, MAB	Up to 10 µg/mL	NA	No	GSK	2013N169796 (V29775)	m4.2.3.7.7
Ex vivo Tissue Cross Reactivity	Human, tissues	3 donors/ tissue	Ex vivo	ADC	2.5, 5 and 10 µg/mL	NA	Yes	[redacted]	2013N176627 (V30497G)	m4.2.3.7.7

Key:
a = Animals were dosed once weekly for either two (0 or 30 mg/kg/week) or four weeks (0, 15 or 30 mg/kg/week).
b = Animals received a dose of 30 mg/kg once weekly for the first four doses and 15 mg/kg once weekly thereafter (total 7 doses).
c = The report for this study has been placed in m4.2.3.2 rather than m4.2.3.7.3 for administrative purposes only.
mAb = Monoclonal antibody; IV = Intravenous.
DB = Dutch Belted; NA = Not applicable; NZW = New Zealand White.
PBMC = Peripheral blood mononuclear cells.

Test Articles:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

2. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Table 2.1 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing (Sampling Occasions)	GLP	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Dose range finding[a]	Rat (Wistar Han)	IV (bolus)	ADC	10, 30, 100	Single	No	2012N134122 (R29778)	m4.2.3.1
Dose range finding[a]	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	ADC	3, 10, 30	Single	No	2012N133495 (D11146)	m4.2.3.1
Dose range finding[a]	Rat (SD)	IV (bolus)	cys-mcMMAF	2.5, 10, 17.5, 25	Single	No	2013N177526 (R-TOX-44)	m4.2.3.1
Dose range finding[a]	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 3, 6,10	Single	Yes	2013N177529 (1019-008)	m4.2.3.1
Repeat dose[b]	Rat (Wistar Han)	IV (Infusion)	ADC	3, 10, 30	3 Weeks[c] (Days 1 and 15)	Yes	2013N174857 (R30467G)	m4.2.3.2
Repeat dose[b]	Rat (Wistar Han)	IV (infusion)	ADC	3, 10, 30	13 Weeks[d] (Weeks 4 and 10)	Yes	2018N374327 (R32025G)	m4.2.3.2
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (NZW)	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 4 weeks[e] (various sampling times)	No	2018N385412[f] (L32295N)	m4.2.3.2
Tolerability and Ocular Toxicity	Rabbit (DB)	IV (bolus)	ADC	15, 30	Up to 7 weeks[g] (various sampling times)	No	2021N465838[f] (L71822N)	m4.2.3.2
Repeat dose[b]	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	ADC	1, 3, 10	3 Weeks[c] (Weeks 1 and 3)	Yes	2013N158643 (P70260G)	m4.2.3.2
Repeat dose[b]	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	ADC	1, 3, 10	13 Weeks[c] (Weeks 4 and 13)	Yes	2018N375127 (P71346G)	m4.2.3.2

Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies (Continued)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	Method of Administration	Test Article	Dose (mg/kg/week)	Duration of Dosing (Sampling Occasions)	GLP	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Repeat dose[a]	Rat (SD)	IV (bolus)	cys-mcMMAF	1, 5, 10 mg/kg/day	5 Days (Days 1 and 5)	Yes	2013N177527 (1019-010)	m4.2.3.2
Repeat dose[a]	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	cys-mcMMAF	0.5, 2, 5	5 Days (Days 1 and 5)	Yes	2013N177530 (1019-009)	m4.2.3.2
Repeat dose	Monkey (cynomolgus)	IV (bolus)	MAB	10, 30, 100	4 Weeks[c] (Weeks 1, 3 and 4)	Yes	2012N150466 (P70204G)	m4.2.3.2
Repeat dose	Monkey (cynomolgus)	SC IV (bolus)	MAB	2, 10 40	13 Weeks[c] (Weeks 4 and 13)	Yes	2023N536587 (P73042G)	m4.2.3.2

Key:
a = Dosing was followed by a 2 week off period.
b = Dosing was followed by a 12 week off-dose period.
c = Animals were dosed once weekly.
d = Animals were dosed once every 3 weeks.
e = Animals were dosed once weekly for either two (0 or 30 mg/kg/week) or four weeks (0, 15 or 30 mg/kg/week).
f = The report for this study has been placed in m4.2.3.2 rather than m4.2.3.7.3 for administrative purposes only.
g = Animals received a dose of 30 mg/kg once weekly for the first four doses and 15 mg/kg once weekly thereafter (total 7 doses).
DB = Dutch Belted; IV = Intravenous; NZW = New Zealand White; SD = Sprague-Dawley.

Test Articles:
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
cys-mcMMAF = Microtubule inhibitor MMAF conjugated to cysteine via a protease resistant maleimidocaproyl (mc) linker [The active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin].
MAB = GSK2857914, unconjugated afucosylated mAb (parent anti-BCMA antibody).

3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Table 3.1 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics (AUC) Data Belantamab Mafodotin (ADC and Total Antibody) Following Weekly or Every 3 Weeks Intravenous Administration of Belantamab Mafodotin

Study Numbers:	R30467G[a]		R32025G[b]		P70260G[c]		P71346G[d]		207495[h]
Dose (mg/kg/week)	Rat M	Rat F	Rat M	Rat F	Monkey M	Monkey F	Monkey M	Monkey F	Human AUC0-τ (µg.h/mL)
Plasma ADC AUC (µg.h/mL)[g]									
1	NA	NA	NA	NA	1180	1290	1280 (1050)[e]	1030	6203 at 2.5 mg/kg
3	5960	6240	12700	8350	3590	3922	6570	6870	
10	26000	17500	45500	29100	20500	22500	21600[i,f]	21400[i,f]	
30	51300	45900	106000	74100	NA	NA	NA	NA	
Plasma Total mAb AUC (µg.h/mL)[g]									
1	NA	NA	NA	NA	1500	1540	1700 (1140)[e]	1370	12999 at 2.5 mg/kg
3	7170	7150	15100	10400	4402	4844	8140	7930	
10	30500	21000	50900	34000	24200	27400	30200[i]	28600[i]	
30	60000	54000	125000	89400	NA	NA	NA	NA	

Key:

AUC = Area under the curve; NA = Not applicable.
ADC = Belantamab mafodotin (GSK2857916).
a = 3 week (once weekly dosing) in Wistar Han rats [Report 2013N174857, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-168)]
b = 13 week (once every 3 weeks dosing) in Wistar Han rats [Report 2018N374327, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-504)].
c = 3 week (once weekly dosing) in cynomolgus monkeys [Report 2013N158643, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-167)].
d = 13 week (once weekly dosing) in cynomolgus monkeys [Report 2018N375127, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-t_i)].
e = n=2. The parameter values from Animal No. 2002 was excluded from the mean/median and range calculations due to the sharp decrease in the plasma concentrations (non-quantifiable at later time points). The values in the parenthesis are the mean parameters calculated without data exclusion.
f = Belantamab mafodotin administration at 10 mg/kg/week resulted in a deteriorating condition that necessitated cessation of dosing after 5 doses (Week 5/Day29).
g = For bioanalytical purposes, belantamab mafodotin is quantified as belantamab mafodotin (ADC) and belantamab mafodotin (total mAb). belantamab mafodotin (ADC) is defined as GSK2857914 conjugated to one or more mcMMAF groups (DAR >0) and belantamab mafodotin (total mAb) is defined as GSK2857914 with or without conjugated mcMMAF (DAR≥0).
h = Dosing once every 3 weeks in humans [from clinical study 207495; see m5.3.5.1].
i = Exposure data from Week 4 as animals in this group were terminated early due to findings related to immune complex disease as a result of anti-drug antibodies.

Table 3.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics (AUC) Data cys-mcMMAF Following Weekly or Every 3 Weeks Intravenous Administration of Belantamab Mafodotin

Study Numbers:	R30467G[a]		R32025G[b]		P70260G[c]		P71346G[d]		207495[h]
Dose	Rat		Rat		Monkey		Monkey		Human
(mg/kg/week)	M	F	M	F	M	F	M	F	AUC0-168hr (µg.h/mL)
Plasma cys-mcMMAF AUC (µg.h/mL)									
1	NA	NA	NA	NA	0.0122	0.0121	NC[e]	NC[f]	0.0825 at 2.5 mg/kg
3	0.252	0.263	NC[f]	NC[f]	0.0856	0.0615	25.1	25.5	
10	1.13	1.36	0.050	0.0819	0.416	0.285	NA[g]	NA[g]	
30	2.90	2.67	0.413	0.370	NA	NA	NA	NA	

Key:

AUC = Area under the curve; NA = Not applicable; NC = Not calculated.

a = 3-week (once weekly dosing) in Wistar Han rats [Report 2013N174857, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-t)]

b = 13-week (once every 3 weeks dosing) in Wistar Han rats [Report 2018N374327, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-504)].

c = 3-week (once weekly dosing) in cynomolgus monkeys [Report 2013N158643, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-t)].

d = 13-week (once weekly dosing) in cynomolgus monkeys [Report 2018N375127, m4.2.3.2]. AUC data from the end of the study [AUC(0-t)].

e = AUC could not be calculated as no animal in this group had sufficient plasma concentration values.

f = AUC value could not be calculated in this group due to insufficient data

g = Belantamab mafodotin administration at 10 mg/kg/week resulted in a deteriorating condition that necessitated cessation of dosing after 5 doses (Week 5/Day 29), no data presented.

h = Dosing once every 3 weeks in humans [from clinical study 207495; see m5.3.5.1].

4. TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Table 4.1 Toxicology: Belantamab mafodotin Drug Substance Used in Repeat Dose Toxicology Studies

Batch Number	Purity (%)	Specified Impurities[a, b]				Drug antibody ratio[c]	Report No. (Study No.)	Type of Study
		[redacted]	Endotoxin	Bioburden	Protein [redacted]			
[redacted]	98.7	<333	<0.3	0	26.2	4.1	2013N174857 (R30467G) and 2013N158643 (P70260G)	3-week repeat dose toxicity (rat and monkey)
[redacted]	98.4	<111	<1	0	60.1	4.0	2018N374327 (R32025G) and 2018N375127 (P71346G)	13-week repeat dose toxicity (rat and monkey)

Key:
a = Specifications for impurities monitored in commercial production.
b = See m3.2.S.4.4_Batch Analysis_ belantamab mafodotin for complete drug substance analysis results.
c = See m3.2.S.2.6. Manufacturing Process Dev_ belantamab mafodotin, Comparability Assessment for complete analysis results.