目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験 6
2.6.6.4 遺伝毒性試験 10
2.6.6.5 がん原性試験 10
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 10
2.6.6.7 局所刺激性試験 13
2.6.6.8 その他の毒性試験 14
2.6.6.9 考察及び結論 17
2.6.6.10 図表 19
2.6.6.11 参考文献 20
2.6.7 毒性試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
ADA	抗薬物抗体（anti-drug antibody）
AUC	血清中濃度－時間曲線下面積（area under the serum concentration versus time curve）
AUC_{Day1-8}	Day 1 から Day 8 までの AUC（AUC between Day 1 and Day 8）
$AUC_{Day22-29}$	Day 22 から Day 29 までの AUC（AUC between Day 22 and Day 29）
$AUC_{Day8-10.83}$	Day 8 から Day 10.83 までの AUC（AUC between Day 8 and Day 10.83）
$AUC_{Day8-15}$	Day 8 から Day 15 までの AUC（AUC between Day 8 and Day 15）
BALT	気管支関連リンパ組織（bronchus-associated lymphoid tissue）
CD	cluster of differentiation
CFR	連邦規則集（Code of Federal Regulations）
cGPRC5D	カニクイザル GPRC5D（cynomolgus monkey GPRC5D）
C_{max}	最高血清中濃度（maximum observed serum concentration）
CRS	サイトカイン放出症候群（cytokine release syndrome）
DNA	デオキシリボ核酸（deoxyribonucleic acid）
EC_{20}	20%有効濃度（20% maximal effective concentration）
EMA	欧州医薬品審査庁（European Medicines Agency）
FcRn	新生児型 Fc 受容体（fragment crystallizable receptor, neonatal）
FDA	米国食品医薬品局（Food and Drug Administration）
GALT	腸管関連リンパ組織（gut-associated lymphoid tissue）
GD	妊娠日数（Gestation Day）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
GPRC5D	G タンパク質共役受容体ファミリーC グループ 5 メンバーD（G protein-coupled receptor family C group 5 member D）
hGPRC5D	ヒト GPRC5D（human GPRC5D）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation）
IFN-γ	インターフェロンγ（interferon gamma）
IgG	免疫グロブリン G（immunoglobulin G）
IHC	免疫組織化学（immunohistochemistry）
IL	インターロイキン（interleukin）
LPS	リポポリサッカライド（lipopolysaccharide）
NOAEL	無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
OECD	経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）
PAA	プロリン，アラニン，アラニン（proline, alanine, alanine）
PBS	リン酸緩衝食塩液（phosphate-buffered saline）
rHSA	遺伝子組換えヒト血清アルブミン（recombinant human serum albumin）
RNA	リボ核酸（ribonucleic acid）
RT-PCR	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（reverse transcription polymerase chain reaction）
TNF-α	腫瘍壊死因子 α（tumor necrosis factor alpha）
WOE	証拠の重み付け（weight of evidence）

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

トアルクエタマブは，多発性骨髄腫細胞上に発現する GPRC5D 及び T 細胞上に発現する CD3 を標的とするヒト化 IgG4-PAA 二重特異性抗体であり，多発性骨髄腫の治療薬として開発している。トアルクエタマブは，CD3 陽性 T 細胞を GPRC5D 発現細胞近傍に動員することで T 細胞を活性化し，GPRC5D 発現多発性骨髄腫細胞に対する傷害を誘導する。

トアルクエタマブの非臨床毒性試験は，ICH S5 (R3)，S6 (R1)，S7A，S9 に従って実施した。全ての毒性試験は，最良の科学的原則に従って実施し，重要な毒性試験は，FDA の GLP 規則 21 CFR Part 58 及び OECD 加盟国における OECD の GLP 原則を遵守して実施した。

トアルクエタマブは，カニクイザルの CD3 に結合したが，毒性試験で一般的に使用されるその他の動物種の GPRC5D 及び CD3 に対する結合が弱い又は結合せず，cGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞傷害活性）は，hGPRC5D 発現細胞と比較して約 100 倍弱かった【2.6.2.2.3】。これに関連して，カニクイザルを用いた探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験ではトアルクエタマブ投与による有害な作用は認められず，明らかな薬力学的作用も認められなかった（2.6.6.3.1）。以上の結果より，トアルクエタマブの毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種は特定できなかったことから，カニクイザルを用いてトアルクエタマブの非臨床毒性試験を実施しても，ヒトのリスク評価に資する有用な情報は得られないと考えられた。したがって，トアルクエタマグと同一の CD3 結合アームを有し，ヒトの CD3 及び GPRC5D に対するトアルクエタマブの結合親和性と同程度にカニクイザルの CD3 及び GPRC5D に結合するサロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いてカニクイザルの反復投与毒性試験を実施した。

GPRC5D×CD3 二重特異性抗体の毒性プロファイルを評価するために，カニクイザルを用いたトアルクエタマブの探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験，JNJ-64024701 の探索的 2 週間反復静脈内投与忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験を実施した。JNJ-64024701 の 1 カ月間反復投与毒性試験では，標準的な毒性学的評価に加えて，安全性薬理評価（心血管系，呼吸系及び中枢神経系）及び ADA の評価を組み込んだ。また，臨床投与経路は皮下投与であるため，局所刺激性としてウサギを用いた単回皮下投与局所刺激性試験を実施した。ウサギ CD3 とヒト CD3 の配列相同性が低いため，ウサギはトアルクエタマブの毒性を評価する上で薬理学的に適切な動物種ではない。しかしながら，ウサギは局所刺激性試験に汎用される動物種であり，全身毒性は一般に皮下投与よりも高曝露が期待される静脈内投与により評価していることから，当該試験では第 1/2 相試験用製剤を用いて，皮下投与における局所忍容性のみを評価した。*In vitro* 試験として，ヒトの正常組織パネルを用いた組織交差反応性試験，ヒト血液を用いた血液適合性試験，溶血性試験，及びサイトカイン放出試験を実施した。

静脈内投与及び皮下投与用のトアルクエタマブ，JNJ-64024701 及び溶媒は，[redacted]試験用製剤と同様の成分組成（[redacted] mmol/L [redacted]，[redacted]% w/v [redacted]，[redacted]% w/v ポリソルベート 20 及び [redacted] µg/mL エデト酸ナトリウム水和物，pH [redacted]）を含む緩衝液製剤として投与した。

単回投与薬物動態試験ではトアルクエタマブを単回静脈内投与した動物の 50%以上で ADA が発現した【2.6.4.3.1】。また，1 カ月間反復投与毒性試験では JNJ-64024701 を静脈内投与した動

物の 80%以上で ADA が発現し，同用量群の ADA 陰性動物と比較すると，全ての ADA 陽性動物で Day 22 の最終投与前の曝露量が低い及び／又は投与後の血清中濃度が速やかに減少した。トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 を用いたカニクイザルの反復投与毒性試験において，薬力学的作用がほとんど認められず，有毒な作用も認められなかったこと，ADA が高頻度に発現したことによる曝露低下が認められたことから，トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 を用いた 3 カ月間反復投与毒性試験は実施しなかった。

トアルクエタマブは進行がんの治療を目的としたバイオテクノロジー応用医薬品であることから，ICH S6 (R1)及び S9 に準じて遺伝毒性試験，がん原性試験，受胎能及び初期胚発生に関する試験，及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。胚・胎児発生毒性のリスク評価については，カニクイザルを用いたトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の反復投与試験において明らかな薬力学的作用が認められず，有害な作用も認められなかったこと，及び ADA が高頻度に認められたことから，カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験のヒトへの外挿性は限定的と考えられたため，WOE に基づいて評価した。

非臨床毒性試験の概要を表 2.6.6-1 に示す。試験の GLP 適用の有無及び試験施設に関する情報を含めた毒性試験の一覧表を【2.6.7.1】に，トキシコキネティクス試験の一覧表を【2.6.7.2】に，トキシコキネティクス試験成績の一覧表を【2.6.7.3】に，毒性試験に使用した被験物質の概要を【2.6.7.4】に示す。

表 2.6.6-1 トアルクエタマブの毒性試験の一覧表

Type of Study Type	Test Material	Species	Route	Duration of Dosing	GLP	Study Number
Repeat-Dose Toxicity						
Exploratory tolerability	Talquetamab	Cynomolgus monkey	IV, weekly	4 weeks	No	T-20[redacted]-027
Exploratory tolerability	Surrogate antibody[a]	Cynomolgus monkey	IV, weekly	2 weeks	No	T-20[redacted]-060
Toxicity, with safety pharmacology and ADA assessments	Surrogate antibody[a]	Cynomolgus monkey	IV, weekly	1-month (4 weeks)	Yes	T-20[redacted]-009
Local Tolerance	Talquetamab	NZW rabbit[b]	SC	single dose	Yes	T-20[redacted]-019
Other Toxicity						
Tissue cross-reactivity	Talquetamab	Normal healthy human tissues (cryosections)	In vitro	NA	Yes	T-20[redacted]-040
Serum compatibility	Talquetamab	Human serum	In vitro	NA	No	T-20[redacted]-003
Hemolytic potential	Talquetamab	Human whole blood	In vitro	NA	No	T-20[redacted]-002
Cytokine release, soluble format assay	Talquetamab	Human whole blood	In vitro	NA	No	T-20[redacted]-001
Cytokine release, plate-bound solid format assay	Talquetamab	Human whole blood	In vitro	NA	No	T-20[redacted]-024

[a] Talquetamab lacked comparable cross-reactivity in cynomolgus monkey relative to humans; therefore, a surrogate antibody (JNJ-64024701), with similar binding affinity and functional activity for cGPRC5D as that of talquetamab for hGPRC5D and the same CD3 binder, was used in repeat-dose tolerability and GLP toxicity studies in cynomolgus monkeys for hazard identification.

[b] The NZW rabbit was chosen as the animal model because it is a generally accepted species for tolerability/irritancy testing and talquetamab is not sufficiently cross-reactive with common toxicology species. The rabbit, however, is not a pharmacologically relevant species; therefore, this study only assessed the tolerability of the formulation, which is the same as the drug product intended for clinical use.

GLP = Good Laboratory Practice; cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; NA = not applicable; NZW = New Zealand White; SC = subcutaneous.

結果の要約

探索的忍容性試験において，カニクイザルにトアルクエタマブを 4 週間反復静脈内投与したとき，トアルクエタマブに関連した明らかな薬力学的作用及び有害な作用は認められず，最高用量の 30 mg/kg まで忍容性は良好であった。

探索的 2 週間忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，カニクイザルに JNJ-64024701 をそれぞれ 10 及び 30 mg/kg までの用量で週 1 回反復静脈内投与した結果，いずれの試験項目にも有害な作用は認められず，最高用量の 30 mg/kg まで JNJ-64024701 の忍容性は良好であった。

トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 を投与したいずれの試験においても，CD3 リダイレクト分子で一般的に予想される明らかな薬力学的作用（Kamperschroer 2020; Saber 2017）及び毒性学的影響は認められなかった。サロゲート抗体である JNJ-64024701 をカニクイザルに投与しても薬力学的作用がほとんど認められなかったことの要因として，正常カニクイザルにおいて GPRC5D を発現する形質細胞の量が少ないこと（Carter 2017）に起因する可能性があり，GPRC5D を高発現する多発性骨髄腫細胞が大量に存在する患者におけるトアルクエタマブの安全性を予見する上で，正常カニクイザルを用いた非臨床毒性試験の有用性は限定的と考えられる。ハザード特定のために実施した正常カニクイザルの毒性試験はサロゲート抗体を用いて実施したことから，推奨臨床用量における曝露量との比較は実施しなかった。

WOE 評価に基づくと，GPRC5D に関連する胎児，妊婦及び授乳中の乳児に対する潜在的リスクは不明である。しかし，CD3 リダイレクト分子に関連するサイトカイン放出症候群及びサイトカインによる二次的作用が妊婦に生じた場合，妊婦又は胎児に悪影響を及ぼす可能性がある。

臨床使用時におけるトアルクエタマブの皮下投与を支持するため，第 1/2 相試験用製剤を用いて，ウサギの皮下投与局所刺激性試験を実施した。当該試験において，トアルクエタマブ（投与濃度：10 mg/mL，投与量：20 mg/例）を皮下投与したとき，投与部位に有害な所見は認められず，忍容性は良好であった。市販用製剤における[redacted]及び[redacted]は，当該試験で使用した製剤中の濃度よりもわずかに[redacted]だが【2.3.P.2.1.1，2.6.7.16】，他の抗体医薬品の皮下投与製剤で使用されている濃度の範囲内であることから（Strickley 2021; Wang 2021），これらの成分の皮下投与における忍容性について懸念は低いと考えられる。

In vitro 組織交差反応性試験では，トアルクエタマブの染色は CD3 の予想される発現と一致し，複数のヒトリンパ組織（リンパ節，脾臓，胸腺，扁桃，BALT，GALT）及び特定の非リンパ組織［膀胱，乳房，卵管，消化管，腎臓，肝臓，卵巣，上皮小体，末梢神経，下垂体，胎盤，前立腺，唾液腺，甲状腺，尿管及び子宮（子宮頚部，子宮内膜）］の単核白血球の細胞膜及び細胞質で認められ，予期しないヒト組織への結合性は示さなかった。

In vitro ヒト血中サイトカイン放出試験（液相法）において，トアルクエタマブは濃度依存的かつ統計学的に有意な IL-1β，IL-2，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α の増加を誘導した。

ヒト血清を用いた血清適合性試験及びヒト全血を用いた溶血性試験において，10 mg/mL までの濃度でトアルクエタマブは血清の沈殿や溶血を示さず，血液適合性が確認された。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の単回投与毒性試験は実施しなかったが，急性毒性は JNJ-64024701 の反復静脈内投与毒性試験の初回投与後の結果を用いて評価した。カニクイザルに JNJ-64024701 を週 1 回静脈内投与したとき，最高用量の 30 mg/kg まで急性毒性を示す一般状態変化は認められなかった（2.6.6.3.3）。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 トアルクエタマブ：カニクイザルを用いた探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）

資料番号 4.2.3.2.1

雌雄カニクイザル（対照群：雌雄各 1 例，トアルクエタマブ投与群：1 群各雄 2 例及び雌 1 例）にトアルクエタマブを 0（[redacted] mmol/L [redacted]，[redacted]% w/v [redacted]，[redacted]% w/v ポリソルベート 20 及び [redacted]μg/mL エデト酸ナトリウム水和物，pH[redacted]），0.5，3，10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間（Day 1，8，15 及び 22）反復静脈内投与し，Day 23 に全例を剖検した。評価項目は，生死，一般状態，摂餌量，体重，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液生化学的検査，血液凝固検査，イムノフェノタイピング，血漿中サイトカイン濃度（TNF-α，IL-2，IL-6，IL-10 及び IFN-γ），剖検，器官重量及びトキシコキネティクスとした【2.6.7.6】。

トアルクエタマブを週 1 回 4 週間反復静脈内投与したとき，30 mg/kg の用量まで忍容性は良好であった。死亡例は認められず，一般状態，摂餌量，体重，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液生化学的検査，血液凝固検査，イムノフェノタイピング，血漿中サイトカイン濃度，剖検及び器官重量において，トアルクエタマブ投与に関連した影響は認められなかった。血液学的検査では，トアルクエタマブ投与に関連した変化として，3，10 及び 30 mg/kg 群において軽度から重度のリンパ球の絶対数減少（Day 2，9 及び 16 は投与前値の 0.50 倍未満）が一過性に認められたのみであった。これらのリンパ球数減少には用量反応性がなく，Day 2 に最も顕著となり（投与前値に対して 0.10～0.31 倍），各投与後 5 日以内に回復傾向がみられたことから，有害作用ではないと判断した。このようなリンパ球数減少は，CD3 二重特異性抗体の投与後の一過性の急性期反応に関連した薬理作用としてよく見られることが知られている（Leong 2017）。トアルクエタマブ投与に関連した生存中の影響が認められなかったため，病理組織学的検査は実施しなかった。単回投与後（Day 1 の平均 C_{max} 及び AUC_{Day1-8}）及び反復投与後（Day 22 の平均 C_{max}）のトアルクエタマブの全身曝露量は，0.5～30 mg/kg までほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.6-2）。Day 22 に投与後の採血期間は投与間隔よりも短いため，$AUC_{Day22-29}$ は算出せず，累積比も算出しなかった。トアルクエタマブの全身曝露量に明らかな性差は認められなかった。3 mg/kg 投与群の 2 例における Day 22 の投与前及び投与 24 時間後の血清中トアルクエタマブ濃度（0.16 μg/mL 未満～2.15 μg/mL）は，同用量を投与した他の 1 例（21.96 及び 53.98 μg/mL）より低く，本試験では ADA は評価しなかったが，ADA によるものと推察された。

表 2.6.6-2 雌雄カニクイザルにトアルクエタマブを週 1 回 4 週間反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（SD）］

Weekly Dose (mg/kg)	Following Dose on Day 1		Following Dose on Day 22		
	C_{max}[a] (µg/mL)	AUC_{Day1-8}[a] (µg·day/mL)	C_{max}[a] (µg/mL)	$AUC_{Day22-29}$[b] (µg·day/mL)	R_{AUC}[b]
0.5	12.57 (2.82)	26.64 (5.96)	18.71 (2.42)	NC	NC
3	74.82 (3.24)	144.22 (12.23)	99.60 (2.75)	NC	NC
10	250.90 (5.31)	466.64 (23.37)	353.12 (14.72)	NC	NC
30	636.29 (93.91)	1539.91 (33.99)	853.18 (161.45)	NC	NC

Source: CTD4.2.3.2.1/T-20[redacted]-027/App12

[a] Two males and 1 female/group.

[b] Not calculated because the last sample collection was shorter than 1 dose interval following the dose on Day 22. Animals were necropsied on Day 23.

AUC = area under the serum concentration versus time curve; AUC_{Day1-8} = AUC between Day 1 and Day 8; $AUC_{Day22-29}$ = AUC between Day 22 and Day 29; C_{max} = maximum observed serum concentration; NC = not calculated; R_{AUC} = accumulation ratio calculated from $AUC_{Day22-29}$ after multiple doses and AUC_{Day1-8} after the first dose; SD = standard deviation.

以上のとおり，カニクイザルにトアルクエタマブを週 1 回 4 週間反復静脈内投与した結果，最高用量の 30 mg/kg の用量まで忍容性は良好であり，いずれの用量でもトアルクエタマブ投与に関連した有害な影響は認められなかった。30 mg/kg を週 1 回 4 週間反復静脈内投与後（Day 22）の平均 C_{max} は 853 µg/mL，単回投与後の AUC_{Day1-8} は 1,540 µg·day/mL であった。

2.6.6.3.2　JNJ-64024701：カニクイザルを用いた探索的 2 週間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）

資料番号 4.2.3.2.2

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 1 例，ただし 10 mg/kg 群は雄 2 例及び雌 1 例）に JNJ-64024701 を 0（[redacted] mmol/L [redacted]，[redacted]% w/v [redacted]，[redacted]% w/v ポリソルベート 20 及び [redacted] µg/mL エデト酸ナトリウム水和物，pH[redacted]），0.3，1 及び 10 mg/kg の用量で週 1 回 2 週間（Day 1 及び 8）静脈内投与した。0 及び 10 mg/kg 群の動物は Day 11 に剖検し，0.3 及び 1 mg/kg 群の動物は Day 15 に試験施設のコロニーに戻した。評価項目は，生死，一般状態，摂餌量，体重，体温，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査，骨髄検査，イムノフェノタイピング（全血，骨髄及び脾臓），血漿中サイトカイン濃度（TNF-α，IL-2，IL-6，IL-10 及び IFN-γ），剖検，臓器重量，病理組織学的検査及びトキシコキネティクスとした【2.6.7.6】。

JNJ-64024701 を週 1 回 2 週間反復静脈内投与したとき，10 mg/kg まで忍容性は良好であった。死亡例は認められず，一般状態，摂餌量，体重，体温，血液凝固検査，骨髄検査，血漿中サイトカイン濃度，剖検，器官重量及び病理組織学的検査に JNJ-64024701 投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査では，JNJ-64024701 投与に関連した変化として，10 mg/kg 群の 3 例中 2 例において，Day 2 に中等度から重度のリンパ球の絶対数減少（投与前値に対して 0.16 及び 0.17 倍）のみ一過性に認められたが，Day 8 の投与前までに回復した。10 mg/kg 群では，Day 2 に軽度から中等度の C 反応性タンパクの高値（絶対値として 4.4～12.0 mg/dL）が認められたが，Day 8 の投与前までに回復し，2 回目投与後の Day 9 若しくは Day 11 では軽微な高値（絶対値として 1.7～3.0 mg/dL）が認められた。

血液，脾臓及び骨髄中の形質細胞（CD2-/CD19-/CD20-/IgM-/IgD-/CD27++/CD38++細胞）に対する JNJ-64024701 の作用については，形質細胞の絶対数及び相対割合において，全ての動物で投与前及び試験期間を通じて大きなばらつきが認められたため，JNJ-64024701 投与に関連した変化であるか判断できなかった。

JNJ-64024701 投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。10 mg/kg 群で認められた投与部位の慢性炎症（軽度～中等度）は，対照群でも同様の所見が認められたことから，投与操作に起因する可能性が高いと考えられたが，対照群と比較して JNJ-64024701 投与群における発現頻度及び重症度がともに増加したことから，JNJ-64024701 に関連した変化である可能性を完全に否定することはできなかった。

反復投与後の JNJ-64024701 の全身曝露量（1 投与間隔内の平均 C_{max} 及び AUC）は 0.3～10 mg/kg まで，ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.6-3）。Day 8 の AUC の平均累積比は，0.3 mg/kg 群では 1.40，1 mg/kg 群では 1.23 であった。10 mg/kg 群では，最終投与後の検体採取までの期間が短く，$AUC_{Day8\text{-}15}$ ではなく $AUC_{Day8\text{-}10.83}$ を算出したため，累積比は算出しなかった。JNJ-64024701 の全身曝露量に明らかな性差は認められなかった。1 mg/kg 群の 1 例では，Day 8 の投与後に急速な血清中 JNJ-64024701 濃度の減少が認められ，本試験では ADA は評価しなかったが，ADA によるものと推察された。

表 2.6.6-3 雌雄カニクイザルに JNJ-64024701 を週 1 回 2 週間反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（SD）］

Weekly Dose (mg/kg)	N	Following Dose on Day 1		Following Dose on Day 8		
		C_{max} (µg/mL)	$AUC_{Day1\text{-}8}$ (µg·day/mL)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{Day8\text{-}15}$ (µg·day/mL)	R_{AUC}
0.3	1 M, 1 F	6.59	15.33	7.73	21.48	1.40
1	1 M, 1 F	18.37	47.87	22.05	59.96	1.23
10	2 M, 1 F	186.65 (52.39)	480.47 (75.31)	233.29 (42.51)	379.95 (74.82)[a]	NR

Source: CTD4.2.3.2.2/T-20[redacted]-060/App9
Sample collection from Day 1 to Day 15 for the 0.3 and 1 mg/kg dose groups, and from Day 1 to Day 11 (last sample on Day 8 68-70 h post dose) for the 10 mg/kg dose group.
[a] The partial AUC following the dose on Day 8 was estimated by $AUC_{Day8\text{-}10.83}$ and the R value could not be reported.

AUC = area under the serum concentration versus time curve; $AUC_{Day1\text{-}8}$ = AUC between Day 1 and Day 8; $AUC_{Day8\text{-}10.83}$ = AUC between Day 8 and Day 10.83; $AUC_{Day8\text{-}15}$ = AUC between Day 8 and Day 15; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; M = male; N = number; NR = not reported; R_{AUC} = accumulation ratio calculated from $AUC_{Day8\text{-}15}$ after multiple doses and $AUC_{Day1\text{-}8}$ after the first dose; SD = standard deviation.

以上のとおり，JNJ-64024701 をカニクイザルに週 1 回 2 週間反復静脈内投与した結果，最高用量の 10 mg/kg まで忍容性は良好であり，いずれの用量でも有害作用は認められなかった。10 mg/kg を週 1 回 2 週間投与したときの平均 C_{max} は 233 µg/mL（Day 8），$AUC_{Day8\text{-}15}$ は 380 µg·day/mL であった。

2.6.6.3.3　JNJ-64024701：カニクイザルを用いた 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）

資料番号 4.2.3.2.3

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 3 例）に JNJ-64024701 を 0（[redacted] mmol/L[redacted]，[redacted]% w/v[redacted]，[redacted]% w/v ポリソルベート 20 及び [redacted] µg/mL エデト酸ナトリウム水和物，pH[redacted]），10 及び

30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与（Day 1，8，15 及び 22）し，Day 29 に全ての動物を剖検した。先に実施した JNJ-64024701 のカニクイザル探索的 2 週間忍容性試験では，最高用量の 10 mg/kg において軽微な薬力学的作用しか認められず，有害な作用も認められなかったことから，本試験の高用量は 30 mg/kg に増量した。評価項目は，生死，一般状態，摂餌量，体重，獣医師による身体検査（呼吸系評価を含む），眼科学的検査，血圧，心拍数，体温，心電図，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，血漿中サイトカイン濃度（TNF-α，IL-2，IL-6，IL-10 及び IFN-γ），剖検，器官重量，病理組織学的検査，トキシコキネティクス及び ADA とした【2.6.7.7】。

JNJ-64024701 は 30 mg/kg まで良好な忍容性を示し，死亡例は認められなかった。一般状態，摂餌量，体重，獣医師による身体検査（呼吸系評価を含む），眼科学的検査，血圧，心拍数，体温，心電図，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査に JNJ-64024701 投与に関連した影響は認められなかった。

JNJ-64024701 投与に関連する臨床検査パラメータの変化として，10 及び 30 mg/kg 群で Day 2（初回投与 24 時間後）に軽度から中等度のリンパ球の絶対数減少（投与前値に対して雄：0.36～0.45 倍；雌：0.33～0.58 倍）が一過性に認められ，CD3 二重特異性抗体の薬理作用に関連した変化と考えられた。また，10 及び 30 mg/kg 群で Day 28 にグロブリンの軽微な増加（雄：1.18～1.21 倍；雌：1.17 倍），並びに 30 mg/kg 群で Day 23 及び 28 に大型非染色細胞の増加（雄：1.76 倍；雌：2.56～2.70 倍）がみられたが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。JNJ-64024701 投与に関連して，10 及び 30 mg/kg 群における Day 1 の投与 2 時間後に IL-10 の一過性の増加が認められたが，その他のサイトカイン（IL-2，IL-6，IFN-γ 及び TNF-α）への影響は認められなかった。

Day 1 の静脈内投与後の JNJ-64024701 の全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は，10～30 mg/kg の用量範囲でほぼ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。JNJ-64024701 を投与した 12 例中 10 例が ADA 陽性であり，同用量群の ADA 陰性動物と比較すると全ての ADA 陽性動物で Day 22 の最終投与前の曝露量が低い及び／又は投与後の血清中濃度が速やかに減少した。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4 雌雄カニクイザルに JNJ-64024701 を週 1 回 4 週間反復静脈内投与したときのトキシコキネティクスパラメータ［平均値（SD）］

Weekly Dose (mg/kg)	N	Following Dose on Day 1		Following Dose on Day 22		
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{Day1-8} (µg·day/mL)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{Day22-29}$ (µg·day/mL)	R_{AUC}
10	3/sex	230.64 (14.41)	550.85 (48.19)	196.98 (49.08)	182.95 (323.22) [a]	0.35 (0.63)
30	3/sex	663.85 (67.85)	1753.55 (187.22)	758.31 (134.66)	1471.16 (1074.52)	0.80 (0.55)

Source: CTD4.2.3.2.3/T-20[redacted]-009/Att1

[a] $AUC_{Day22-29}$ was estimated based on the data up to Day 23 for 1 female (#2501) or Day 24 for 3 males (#2001, #2002, #2003) since the concentration was below the lowest quantifiable concentration (0.16 µg/mL) toward the end of the dosing period.

AUC = area under the serum concentration versus time curve; AUC_{Day1-8} = AUC between Day 1 and Day 8; $AUC_{Day22-29}$ = AUC between Day 22 to Day 29; C_{max} = maximum observed serum concentration; N = number; R_{AUC} = accumulation ratio calculated from $AUC_{Day22-29}$ after multiple doses and AUC_{Day1-8} after the first dose; SD = standard deviation.

以上のとおり，JNJ-64024701 をカニクイザルに週 1 回 4 週間反復静脈内投与した結果，最高用量の 30 mg/kg の用量において認められた所見はいずれも軽微で有害ではなかったことから，JNJ-64024701 の NOAEL は 30 mg/kg と判断された。NOAEL における 4 回投与後の平均 $C_{max\ (Day\ 22)}$は 758 µg/mL，$AUC_{Day22\text{-}29}$は 1,471 µg·day/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

トアルクエタマブ（約 147 kDa）は抗体医薬品であり，分子量が大きいために正常な細胞の細胞膜や核膜を通過して，DNA や他の染色体成分と相互作用するとは考えにくいことから，トアルクエタマブの遺伝毒性試験は実施しなかった。ICH S6 (R1)では，従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験は，バイオテクノロジー応用医薬品に対しては適切なものでなく必要とされていない。

2.6.6.5 がん原性試験

トアルクエタマブは進行がん患者への使用を目的とした抗体医薬品であることから，がん原性試験は実施しなかった。ICH S9 では，進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請には，がん原性試験は必要とされないことが示されている。また，ICH S6 (R1)では，げっ歯類に対して生物学的活性を有さないバイオテクノロジー応用医薬品については，標準的ながん原性試験は一般的に不適当であるとされている。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

トアルクエタマブは進行がん患者の治療を目的としているため，受胎能及び初期胚発生に関する試験は，ICH S6 (R1)及び S9 に従い実施していないが，受胎能に対する潜在的リスクを組織における GPRC5D の発現プロファイル及び反復投与毒性試験の結果に基づき評価した。ヒトの精巣及び前立腺において GPRC5D mRNA が低いながらも発現しているとの報告（Bräuner-Osborne 2001）はあるが，ヒト正常組織の IHC 解析では男性生殖器組織（精巣，前立腺，精嚢，精巣上体）に GPRC5D タンパク質は検出されなかった（4.2.1.1.7/Histo-062920[redacted]; Smith 2019）。遺伝子発現解析及び IHC 解析では，ヒト女性生殖器（子宮，卵巣及び腟）では GPRC5D の発現は検出されなかった（4.2.1.1.7/Histo-062920[redacted]; Bräuner-Osborne 2001; Smith 2019）。また，カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験では，トアルクエタマブ又は JNJ-64024701 を 30 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与したところ，剖検及び病理組織学的検査において雌雄の生殖器に有害な影響は認められなかった（2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.3）。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

カニクイザルを用いたトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の反復投与試験において薬力学的作用が軽微であり有害な作用が認められないこと，トアルクエタマブの単回投与薬物動態試験及

び JNJ-64024701 の反復投与毒性試験において ADA が高頻度に発現し，JNJ-64024701 を用いた試験では ADA 陰性動物と比較して ADA 陽性動物において曝露量が顕著に減少したことから，カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施したとしてもヒトへの外挿性は限定的と考えられたため，胚・胎児発生毒性試験は実施していない。トアルクエタマブの胚・胎児発生毒性の評価については，ICH S5 (R3)，S6 (R1)及び S9 に従い，WOE に基づいて胚・胎児発生毒性のリスクを評価した。

以下に示す WOE 評価に基づくと，胚発生における GPRC5D の機能は明らかではないが，CD3 を標的とした二重特異性抗体の作用機序に基づく潜在的リスクである CRS 及びサイトカインによる二次的作用が妊婦に生じた場合，妊婦及び胎児に対して悪影響を及ぼす可能性は否定できない。このため，胚・胎児発生に関するリスクについて添付文書で適切に注意喚起する。

多発性骨髄腫における妊娠可能な女性の割合

多発性骨髄腫は一般に高齢者に発症し，40 歳以下の患者はまれである。多発性骨髄腫患者の診断時の年齢の中央値は約 66～70 歳であり，65 歳未満は 37%，40 歳未満は約 3%であることが報告されている（Kasenda 2011; Kazandjian 2016）。また，日本における初診時年齢の中央値は 67 歳である（日本骨髄腫学会 2020）。このため，多発性骨髄腫の患者集団において妊娠が生じることはまれである（Jurczyszyn 2016）。

ヒト正常組織における GPRC5D の発現プロファイル

公表文献（Inoue 2004; Smith 2019）及び社内データ【2.6.2.2.1.2】から，ヒト正常組織における GPRC5D の発現は，形質細胞及び皮膚の毛包及び汗腺，並びに舌の糸状乳頭に限定して発現することが示唆されている。ヒトの精巣及び前立腺において GPRC5D mRNA が低いながらも発現しているとの報告（Bräuner-Osborne 2001）はあるが，ヒト正常組織の IHC 解析では男性生殖器組織（精巣，前立腺，精嚢，精巣上体）に GPRC5D タンパク質は検出されなかった（4.2.1.1.7/Histo-062920[redacted]; Smith 2019）。遺伝子発現解析及び IHC 解析では，ヒト女性生殖器（子宮，卵巣及び腟）では GPRC5D の発現は検出されなかった（4.2.1.1.7/Histo-062920[redacted]; Bräuner-Osborne 2001; Smith 2019）。

胚発生における GPRC5D の役割

トアルクエタマブの標的である GPRC5D は生理学的機能が不明のオーファン受容体である。胚発生における GPRC5D の関与についてはほとんど知られていない。GPRC5D を特徴付けるノックアウト又はノックダウン動物モデルは報告されていない。GPRC5D はマウスの発毛サイクル（Le Vu 2015）や硬質角化組織における硬質ケラチン合成に関与することが示唆されているが（Inoue 2004），これらの細胞における GPRC5D の発現が胚発生にどのような影響を及ぼすかは不明である。RT-PCR による評価では，GPRC5D はマウス胚（胎生 8.5，9.5，12.5 及び 19.5 日）に発現しておらず（Inoue 2004），妊娠中に本薬が投与された場合の胎児の発生への影響は明らかではない。

CD3 リダイレクト分子の作用機序から予測される潜在的リスク

トアルクエタマブは CD3 を発現している患者自身の T 細胞と GPRC5D を発現する多発性骨髄腫細胞との細胞間相互作用を促進するように設計された二重特異性抗体である。この作用機序に基づく潜在的リスクとして，腫瘍以外へのオンターゲット毒性，CRS 及びサイトカイン放出に関連する二次的作用が挙げられる（Kamperschroer 2020; Saber 2017）。発育中の胚・胎児における GPRC5D の発現が，これらの有害作用を引き起こすかは不明であるが，トアルクエタマブ投与によってサイトカイン放出及び関連する炎症作用が生じる可能性は否定できない。さらに，妊婦に上記の有害事象が発現した場合，妊娠に悪影響を及ぼす可能性がある。

毒性試験におけるトアルクエタマブ又は JNJ-64024701 の所見

トアルクエタマブは，ヒト及びカニクイザルの CD3 に同程度の結合親和性で結合するが，マウス，ラット，モルモット，ブタ等の CD3ε はヒト CD3ε との配列相同性が 65%以下と低いことから，トアルクエタマブはこれらの動物種の CD3 と交差反応性を示さないと考えられる【2.6.2.2.3】。

cGPRC5D は hGPRC5D と 95%を超える配列相同性を有するが，cGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞傷害活性）は，hGPRC5D 発現細胞と比較して約 100 倍弱かった【2.6.2.2.3】。これらのデータから予想されたとおり，トアルクエタマブを週 1 回 4 週間反復静脈内投与したとき，30 mg/kg の用量までトアルクエタマブ投与に関連する有害作用は認められず，明らかな薬力学的作用も認められなかった。これらのデータに基づき，GPRC5D×CD3 二重特異性抗体のハザードを特定するため，トアルクエタマブと同じ CD3 結合アームを持ち，hGPRC5D と同程度に cGPRC5D に結合して *in vitro* 機能活性を有するサロゲート抗体（JNJ-64024701）を作製し，カニクイザルに 30 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与した（2.6.6.3.3）。その結果，いずれの評価項目においても JNJ-64024701 投与に関連した有害な作用は認められなかった。2.7～5.2 歳のカニクイザルの雌雄生殖器（精巣上体，前立腺，精巣，子宮頚部，卵巣，子宮及び腟）の病理組織学的検査では，被験物質投与に関連した所見は認められなかった。

カニクイザルにおける ADA 発現による曝露量低下

カニクイザルを用いてトアルクエタマブ又は JNJ-64024701 の胚・胎児発生毒性試験を実施したとしても，ADA の発現により試験期間を通して十分な薬物曝露量を維持することが困難となる可能性がある。トアルクエタマブの単回投与薬物動態試験において，カニクイザル（各群雄 4 例）にトアルクエタマブを 0.5 及び 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，全ての投与群で 50%以上の動物に ADA が検出された【2.6.4.3.1】。また，1 カ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3）において，カニクイザル（各群雌雄各 3 例）に JNJ-64024701 を 10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与したとき，80%以上の動物に ADA が検出され，同用量群の ADA 陰性動物と比較すると全ての ADA 陽性動物で Day 22 の最終投与前の曝露量が低い及び／又は投与後の血清中濃度が速やかに減少した。カニクイザルの胚・胎児発生に関する試験では，一般に器官形成期である GD 20/22 から GD 50 に薬物を投与し，GD 100 に帝王切開する。単回投与薬物動態試験及び反復投与毒性試験におけるトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 に対する ADA の発現頻度を

考慮すると，GD 20 から投与を開始したとしても，ADA の発現により GD 50 の硬口蓋閉鎖前に十分な全身曝露量を維持できない個体が認められる可能性が高く，試験結果のヒトへの外挿性は限定的であり，生殖発生毒性リスクを予測するための有用なデータを得ることは難しいと考えられる。

胎盤通過を介した胚・胎児への曝露の可能性

一般に，分子の胎盤通過は受動拡散（1000 Da 未満），促進拡散又は能動輸送によって起こるが（Syme 2004），トアルクエタマブは 1000 Da を超えるヒト化 IgG4-PAA 抗体であることから最も関連する胎盤通過の機序は，FcRn を介した能動輸送と考えられる（Bowman 2013; DeSesso 2012; Firan 2001; Miller 2003; Moffat 2014; Roopenian 2003; Simister 2003）。FcRn を介した IgG 抗体の通過は，ヒト及び非ヒト霊長類で器官形成期には低く，ヒトでは GD 56～280，カニクイザルでは GD 46～165 に起こる（Bowman 2013; Pentsuk 2009）。したがって，トアルクエタマブが器官形成期に母体曝露を介して，発生に関連する有害作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。トアルクエタマブが胎児に曝露される可能性は妊娠第 2 三半期の後期及び第 3 三半期に高まるが（Malek 1996, 2003），カニクイザルでは ADA が産生されるため，この期間に十分な曝露を維持できないと考えられる。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

トアルクエタマブは進行がんの成人患者の治療を目的としているため，出生前及び出生後の発生に関する試験は，ICH S9 に従い実施しなかった。WOE に基づく妊娠に関するリスク評価は 2.6.6.6.2 項を参照のこと。

2.6.6.6.4 新生児を用いた試験

トアルクエタマブは成人患者の治療を目的としているため，幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 静脈内投与による局所刺激性試験

静脈内投与による局所忍容性は，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において評価した。トアルクエタマブの探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験（2.6.6.3.1）及び JNJ-64024701 の 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.3）において，いずれも最高用量の 30 mg/kg（トアルクエタマブ：9.78 mg/mL を 3.07 mL/kg，JNJ-64024701：10 mg/mL を 3 mL/kg）まで，一般状態及び病理組織学的検査において投与部位に披験物質投与に関連した変化は認められなかった。

2.6.6.7.2 皮下投与による局所刺激性試験（GLP）

資料番号 4.2.3.6.1

臨床使用時におけるトアルクエタマブの皮下投与を支持するため，[redacted]試験で使用した 10 mg/mL バイアル入り緩衝液製剤を用いて，ウサギの皮下投与局所刺激性試験を実施した。雄 New Zealand White ウサギ（1 群 6 例）に，トアルクエタマブ 20 mg（10 mg/mL を 2 mL），対照群として生理食塩液及び製剤緩衝液を単回皮下投与し，一般状態，投与部位スコア，体重，剖検及び病理組織学的検査（投与部位及び流入領域リンパ節）を評価した。投与部位スコアは投与後 72 時間まで観察し，動物は Day 4 に剖検した【2.6.7.16】。

トアルクエタマブを単回投与したとき，投与後 72 時間まで局所忍容性は良好であった。有害な皮膚所見はみられず，剖検及び病理組織学的検査において投与部位及び流入領域リンパ節に影響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 抗原性

カニクイザルを用いたトアルクエタマブの単回静脈内投与薬物動態試験では，カニクイザルの 50%以上に ADA が検出された。ADA が検出されたのは，rHSA 製剤及び緩衝液製剤の 0.5 mg/kg 群でいずれも 4 例中 2 例，rHSA 製剤 5 mg/kg 群で 4 例全例であった【2.6.4.3.1】。

カニクイザルを用いた JNJ-64024701 の 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，10 及び 30 mg/kg の用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与したカニクイザル 12 例中 10 例に ADA が検出された【2.6.4.3.3】。

ただし，動物で抗体の産生が誘導された場合でも，ヒトにおける抗体産生の可能性を予測するものではないことが報告されている［ICH S6 (R1)］。

2.6.6.8.2 免疫毒性

免疫系への影響を検討するために，カニクイザルを用いたトアルクエタマブの探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験，並びに JNJ-64024701 の探索的 2 週間反復静脈内投与忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，フローサイトメトリーを用いたイムノフェノタイピング（全血，脾臓及び骨髄組織）及び／又は血漿中サイトカイン濃度（TNF-α，IL-2，IL-6，IL-10 及び IFN-γ）を評価した。検査結果の詳細は 2.6.6.3 項に示した。

2.6.6.8.3 依存性試験

トアルクエタマブの標的特異性，結合プロファイル，分子量（約 147 kDa）及び正常では血液脳関門を通過できないことを考慮すると，薬物乱用の可能性をもたらす可能性がある中枢神経系との直接的な相互作用は予想又は予測されないため，トアルクエタマブの依存性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験

モノクローナル抗体については代謝物を用いた毒性試験は求められていない［ICH S6 (R1)参照］ことから，トアルクエタマブの代謝物を用いた毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.5 不純物に関する試験

トアルクエタマブ製剤では非臨床試験を必要とする不純物は確認されなかったため，不純物に関する毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.6 その他の試験

トアルクエタマブの *in vitro* 試験として，ヒト組織交差反応性試験，ヒト血清を用いた血液適合性試験，ヒト全血を用いた溶血性試験，及びヒト希釈全血を用いたサイトカイン放出試験を実施した【2.6.7.17】。

2.6.6.8.6.1 組織交差反応性

資料番号 4.2.3.7.7.1

トアルクエタマブのオフターゲット組織に対する交差反応性を評価するために，ヒト正常組織パネルを用いた免疫組織化学的手法による組織交差反応性試験を実施した。ヒト正常組織の凍結切片（3 ドナー／組織）を 2 及び 10 μg/mL のビオチン化トアルクエタマブと反応させた。検査したヒト組織は，EMA の「Guideline on Development, Production, Characterisation and Specifications for Monoclonal Antibodies and Related Products」の Annex I 及び FDA/Center for Biologics Evaluation and Research の「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」に基づいて選択した。

ビオチン化トアルクエタマブによる染色は，膀胱，乳房，卵管，消化管（食道，胃，小腸，結腸），腎臓，肝臓，肺，リンパ節，卵巣，上皮小体，末梢神経，下垂体，胎盤，前立腺，唾液腺，脾臓，胸腺，甲状腺，扁桃，尿管，子宮（子宮頚部，子宮内膜）における単核白血球の細胞膜及び細胞質に認められた。これらのリンパ組織及び非リンパ組織の単核白血球の細胞膜に対する特異的結合は，T 細胞上に発現する CD3 への結合に起因すると考えられた。また，血液塗抹標本中のリンパ球，骨髄の造血細胞，外眼筋及び横紋（骨格）筋の骨格筋細胞，膀胱内の紡錘細胞，脳内（大脳，小脳）のグリア細胞の細胞質にも染色が認められたが，*in vivo* では通常抗体が到達できない細胞質などの領域に結合が認められても，概してその生物学的意義は低いとされている［ICH S6 (R1)］。

以上のとおり，ビオチン化トアルクエタマブの染色は，CD3 への結合に関連すると考えられるリンパ組織及び非リンパ組織の単核白血球の細胞膜に限られており，予期しない交差反応性は認められなかった。

2.6.6.8.6.2 血清適合性試験

資料番号 4.2.3.7.7.2

ヒト血清を用いた血清適合性試験（非 GLP）では，健康ヒト（3 ドナー）由来の血清に対して，トアルクエタマブは 0.01～10 mg/mL の濃度範囲で血清の沈殿を生じなかった。この結果に基づき，トアルクエタマブは 10 mg/mL までの濃度でヒトの血清と適合すると判断された。

2.6.6.8.6.3 溶血性試験

資料番号 4.2.3.7.7.3

ヒト全血を用いた溶血性試験（非 GLP）では，健康ヒト（3 ドナー）由来の全血に対して，トアルクエタマブは 0.01～10 mg/mL の濃度範囲で溶血を生じなかった。この結果に基づき，トアルクエタマブは 10 mg/mL までの濃度でヒトの血液と適合すると判断された。

2.6.6.8.6.4 サイトカイン放出試験

資料番号 4.2.3.7.7.4 及び 4.2.3.7.7.5

トアルクエタマブのサイトカイン放出活性を評価するため，液相法若しくはプレート固相法（ウェットコーティング）によりヒト全血を用いたサイトカイン放出試験（非 GLP）を実施した。液相中の遊離トアルクエタマブ又はプレート表面にウェットコーティングにより固相化したトアルクエタマブに，健康ヒト（16 ドナー）由来の希釈全血を添加後 48 時間培養し，10 種類のサイトカイン（IL-1β，IL-2，IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，IL-12p70，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）の上清中濃度を評価した。トアルクエタマブの処理濃度は 0.0106～200 μg/mL（0.068～1333 nmol/L）とし，陰性対照として PBS，陽性対照として LPS 及び抗 CD28 スーパーアゴニスト，CD3 結合に関する比較対照として CD3[redacted]（トアルクエタマブと同じ CD3 結合領域及び Fc 領域を有する CD3×null 二重特異性抗体），及びアイソタイプ対照として [redacted]（トアルクエタマブ及び CD3[redacted] と同じアイソタイプだが，正常ドナーに対して結合しないことが知られている null×null 抗体）を用いた。

液相法では，トアルクエタマブは最高濃度の 1333 nmol/L において，検討した 10 種のうち 8 種のサイトカイン（IL-1β，IL-2，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）について濃度依存的かつ陰性対照と比較して統計学的に有意にサイトカイン放出を増加させた。サイトカイン放出に関する母集団 EC_{20} 値の推定値は以下のとおりであった：IL-1β は 346.39 nmol/L，IL-2 は 195.49 nmol/L，IL-8 は 519.20 nmol/L，IFN-γ は 6616.99 nmol/L 及び TNF-α は 859.97 nmol/L。IL-6，IL-10 及び IL-13 については，評価濃度範囲内で十分なサイトカイン誘導が認められなかったか，若しくはドナー間変動が大きかったかのいずれかの理由により，母集団 EC_{20} の推定値を算出できなかった。IL-4 及び IL-12p70 の放出は PBS と同程度であった（4.2.3.7.7.4）。

プレート固相法では，トアルクエタマブは 10 種のサイトカインのうち 9 種（IL-1β，IL-2，IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）について，陰性対照と比較して統計学的に有意なサイトカイン放出を誘導した。しかし，トアルクエタマブによる作用は二相性で用量依存性はなく，ドナー間変動が大きかったため，いずれのサイトカインでも EC_{20} の推定値は算出できなかった。CD3[redacted]（CD3×null 対照抗体）においてもトアルクエタマブと同様のサイトカイン応

答プロファイルが認められ，T 細胞上の CD3 架橋に起因すると考えられた。また，[redacted]抗体（アイソタイプ対照抗体）により IL-6 及び IL-8 の放出が誘導されたことと合わせ，CD3[redacted]及びトアルクエタマブの活性は相補性結合領域のみに起因しないことが示唆された。したがって，トアルクエタマブによるサイトカイン放出に関連する安全性リスクを定量的に評価する上で，プレート固相法より得られたデータのヒトへの外挿性は限定的と考えられる。

2.6.6.9 考察及び結論

ヒト正常組織における GPRC5D タンパク質は，形質細胞，皮膚の毛包及び汗腺，並びに舌の糸状乳頭に限定して発現しており，カニクイザルの爪床に GPRC5D mRNA の発現が認められたとの報告がある【2.6.2.2.1.2】。トアルクエタマブは，*in vitro* 薬理試験において GRPC5D 発現ヒト多発性骨髄腫細胞株に対して機能活性（細胞傷害，サイトカイン放出及び T 細胞活性化）を示したが，オフターゲット作用は認められなかったことより，腫瘍以外へのオンターゲット毒性の可能性は限られていると考えられる【2.6.2.2.1】。

トアルクエタマブの非臨床安全性は，トアルクエタマブ及びサロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いて，ICH ガイドラインに準拠した毒性試験プログラムで評価した。カニクイザルにトアルクエタマブを 30 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与したとき，トアルクエタマブは明らかな薬力学的作用及び有害な影響を示さなかった。cGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞傷害活性）は，hGPRC5D 発現細胞と比較して約 100 倍弱いことから【2.6.2.2.3】，カニクイザルを用いたトアルクエタマブの非臨床毒性試験をさらに実施しても，ヒトのリスク評価に有用な情報は得られないと考えられた。したがって，GPRC5D×CD3 二重特異性抗体のハザードを特定するために，カニクイザルにおいて薬理学的活性を示すと考えられる JNJ-64024701 を用いて，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験を実施した【2.6.2.2.3】。

探索的 2 週間忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，カニクイザルに JNJ-64024701 をそれぞれ 10 及び 30 mg/kg までの用量で週 1 回反復静脈内投与した結果，最高用量の 30 mg/kg まで JNJ-64024701 の忍容性は良好であった。いずれの試験項目にも有害な作用は認められず，サイトカイン放出や一過性のリンパ球減少等の軽微な薬力学的作用が認められた。カニクイザルの正常組織で GPRC5D の発現が報告されている毛包及び皮膚【2.6.2.2.3】への影響は認められず，カニクイザルで GPRC5D の発現が認められた爪【2.6.2.2.1.2】に関連する一般状態の変化も認められなかった。JNJ-64024701 をカニクイザルに投与しても薬力学的作用がほとんど認められなかったことの要因として，正常カニクイザルにおいて GPRC5D を発現する形質細胞の量が少ないこと（Carter 2017）に起因する可能性がある。GPRC5D を高発現する多発性骨髄腫細胞が大量に存在する患者におけるトアルクエタマブの安全性を予見する上で，正常カニクイザルを用いた非臨床毒性試験の有用性は限定的と考えられ，患者におけるトアルクエタマブの潜在的な毒性が十分に明らかにされていない可能性がある。ハザード特定のために実施した正常カニクイザルの毒性試験はサロゲート抗体を用いて実施したことから，推奨臨床用量における曝露量との比較は実施しなかった。

臨床投与経路である皮下投与によるウサギの局所刺激性試験では，第 1/2 相試験用製剤を用いて局所刺激性を検討した。当該試験において，トアルクエタマブ（投与濃度：10 mg/mL，投与量：20 mg/例）を皮下投与したとき，投与部位に有害な所見は認められず，忍容性は良好であった。市販用製剤における[redacted]及び[redacted]は，当該試験で使用した製剤中の濃度よりもわずかに[redacted]だが【2.3.P.2.1.1，2.6.7.16】，他の抗体医薬品の皮下投与製剤で使用されている濃度の範囲内であることから（Strickley 2021; Wang 2021），これらの成分の皮下投与における忍容性について懸念は低いと考えられる。

カニクイザルにおけるトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の薬力学的作用がほとんど見られなかったこと，ADA が高頻度に発現したこと，並びに毒性試験評価に適した動物種が他に存在しないことから，トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 を用いた生殖発生毒性試験は実施せず，WOE に基づき評価した。GPRC5D に関連する胎児，妊婦及び授乳中の乳児に対する潜在的リスクは不明である。しかし，CD3 リダイレクト分子の作用機序に基づく潜在的リスクである CRS 及びサイトカインによる二次的作用が妊婦に生じた場合，妊婦及び胎児に対して悪影響を及ぼす可能性は否定できない。このため，胚・胎児発生に関するリスクについて添付文書で適切に注意喚起する。

ヒト組織交差反応性試験において，トアルクエタマブは予期しない結合を示さなかった。トアルクエタマブは，10 mg/mL の濃度までヒト血清及び全血に対して沈殿及び溶血を生じなかった。ヒト全血を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験（液相法）において，陰性対照と比較してトアルクエタマブは検討した 10 種類のサイトカインのうち 8 種類（IL-1β，IL-2，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）の放出を濃度依存的かつ統計学的に有意に増加させた。トアルクエタマブの薬理作用は，腫瘍微小環境への T 細胞の動員及び活性化，並びに細胞傷害性サイトカインの放出に基づくものであり，サイトカイン放出は，CD3 二重特異性抗体の既知のリスクである（Saber 2017）。臨床試験においてサイトカイン放出に関連する有害事象として CRS が認められていることから，添付文書で適切に注意喚起する。

非臨床毒性試験は最良の科学的原則及び各種ガイダンスに従って実施したが，トアルクエタマブ又は JNJ-64024701 を用いた非臨床試験の多くは，多発性骨髄腫患者の安全性に関する直接的な情報を提供するものではなかった。しかしながら，CD3 リダイレクト分子の作用機序，組織における GPRC5D の発現プロファイル【2.6.2.2.1】，並びに 64407564MMY1001 試験【2.5.5.3】及び 64407564MMY1003 試験【2.5.5.4】の結果を総合的に判断すると，患者に対するトアルクエタマブ投与に関連する潜在的なリスクが示唆される。これらのリスクとして，CRS，神経系有害事象，GPRC5D を発現する正常細胞への傷害に関連する爪の脱落や変化，及び皮膚又は毛髪の所見，GPRC5D 発現との関連性は不明ではあるが口腔毒性（味覚障害及び口内乾燥を含む）を生じる可能性がある。また，CD3 を標的とする二重特異性抗体に関連する一般的なリスクとして，全身性投与関連反応，免疫関連有害事象及び腫瘍崩壊症候群などが挙げられる。

以上のとおり，トアルクエタマブの標的特異性及び正常組織における GPRC5D 発現プロファイル等の非臨床データ，並びに臨床的な安全対策及びモニタリング戦略も含めて総合的に考慮すると，非臨床毒性プログラムの結果は，トアルクエタマブを再発性又は難治性多発性骨髄腫の成人患者に対して使用することを支持している。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Bowman CJ, et al. Placental transfer of Fc-containing biopharmaceuticals across species, an industry survey analysis. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2013;98(6):459-85.

Bräuner-Osborne H, et al. Cloning and characterization of a human orphan family C G-protein coupled receptor GPRC5D. Biochim Biophys Acta. 2001;1518(3):237-48.

Carter CM, et al. Cytological Bone Marrow Cell Differential Counts and Morphologic Findings in Healthy Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*) from Nonclinical Toxicology Studies. Toxicol Pathol. 2017;45(2):267-74.

DeSesso JM, et al. The placenta, transfer of immunoglobulins, and safety assessment of biopharmaceuticals in pregnancy. Crit Rev Toxicol. 2012;42(3):185-210.

Firan M, et al. The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans. Int Immunol. 2001;13(8):993-1002.

Inoue S, et al. The RAIG family member, GPRC5D, is associated with hard-keratinized structures. J Invest Dermatol. 2004;122:565–73.

Jurczyszyn A, et al. Multiple myeloma in pregnancy--a review of the literature and a case series. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2016;16(3):e39-45.

Kamperschroer C, et al. Summary of a workshop on preclinical and translational safety assessment of CD3 bispecifics. J Immunotoxicol. 2020;17(1):67-85.

Kasenda B, et al. Management of multiple myeloma in pregnancy: strategies for a rare challenge. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2011;11(2):190-7.

Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. Semin Oncol. 2016;43(6):676-81.

Le Vu P, et al. Effects of food-derived collagen peptides on the expression of keratin and keratin-associated protein genes in the mouse skin. Skin Pharmacol Physiol. 2015;28(5):227-35.

Leong SR, et al. An anti-CD3/anti–CLL-1 bispecific antibody for the treatment of acute myeloid leukemia. Blood. 2017;129 (5):609-18.

Malek A, et al. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. Am J Reprod Immunol. 1996;36(5):248-55.

Malek A. Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. Vaccine. 2003;21(24):3362-4.

Miller RK, et al. Marginal transfer of ReoPro (Abciximab) compared with immunoglobulin G (F105), inulin and water in the perfused human placenta in vitro. Placenta. 2003;24(7):727-38.

Moffat GJ, et al. Investigation of maternal and fetal exposure to an IgG2 monoclonal antibody following biweekly intravaginal administration to cynomolgus monkeys throughout pregnancy. Reprod Toxicol. 2014;48:132-7.

Pentsuk N, et al. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(4):328-44.

Roopenian DC, et al. The MHC class I-like IgG receptor controls perinatal IgG transport, IgG homeostasis, and fate of IgG-Fc-coupled drugs. J Immunol. 2003;170(7):3528-33.

Saber H, et al. An FDA oncology analysis of CD3 bispecific constructs and first-in-human dose selection. Regul Toxicol Pharmacol. 2017;90:144-52.

Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. Vaccine. 2003;21(24):3365-9.

Smith EL, et al. GPRC5D is a target for the immunotherapy of multiple myeloma with rationally designed CAR T cells. Sci Transl Med. 2019;11(485):eaau7746.

Strickley RG, et al. A review of formulations of commercially available antibodies. J Pharm Sci. 2021;110(7):2590-608.

Syme MR, et al. Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clin Pharmacokinet. 2004;43(8):487-514.

Wang SS, et al. US FDA-approved therapeutic antibodies with high-concentration formulation: summaries and perspectives. Antib Ther. 2021;4(4):262-73.

日本骨髄腫学会. 多発性骨髄腫の診療指針 第 5 版. 文光堂. 2020.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Type of Study	Species and Strain	Test Article	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[c]	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Single-Dose Toxicity	No study conducted									
Repeat-Dose Toxicity										
JNJ-64407564 (talquetamab) [a,d]										
Exploratory tolerability	Cynomolgus monkey	talquetamab	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[e])	4 weeks	0, 0.5, 3, 10, 30	[redacted]	Yes	No	([redacted], US)	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
JNJ-64024701 (surrogate antibody) [b]										
Exploratory tolerability	Cynomolgus monkey	surrogate antibody	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[e])	2 weeks	0, 0.3, 1, 10	[redacted]	Yes	No	([redacted], US)	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
1-Month toxicity	Cynomolgus monkey	surrogate antibody	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[e])	4 weeks	0, 10, 30	[redacted]	Yes	Yes	([redacted], US)	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3
Genotoxicity	No study conducted									
Carcinogenicity	No study conducted									
Reproductive and Developmental Toxicity	No study conducted									
Local Tolerance										
	New Zealand White rabbit[f]	talquetamab	SC (final vialed product with buffer formulation[e])	single dose	0, 20 mg (2 mL at 10 mg/mL)	[redacted] (final vialed product)	No	Yes	([redacted], US)	T-20[redacted]-019/ 4.2.3.6.1
Other Toxicity Studies										
Tissue cross-reactivity	38 normal human tissues (cryosections)	biotinylated talquetamab	In vitro (diluent: buffer formulation)	NA	2, 10 µg/mL	[redacted]	No	Yes	([redacted], US)	T-20[redacted]-040/ 4.2.3.7.7.1

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Type of Study	Species and Strain	Test Article	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[c]	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies (Continued)										
Serum compatibility	Human serum	talquetamab	In vitro (diluent: buffer formulation)	40 minutes	0.01 - 10 mg/mL	[redacted]	No	No	JRD (Spring House, PA, US)	T-20[redacted]-003/ 4.2.3.7.7.2
Hemolytic potential	Human whole blood	talquetamab	In vitro (diluent: buffer formulation)	40 minutes	0.01 - 10 mg/mL	[redacted]	No	No	JRD (Spring House, PA, US)	T-20[redacted]-002/ 4.2.3.7.7.3
Cytokine release, soluble format assay	Human whole blood	talquetamab	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	0.0106 - 200 µg/mL (0.068 - 1333 nM)	[redacted]	No	No	JRD (Spring House, PA, US)	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.7.7.4
Cytokine release, wet-coated, plate-bound solid format assay	Human whole blood	talquetamab	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	0.0106 - 200 µg/mL (0.068 - 1333 nM)	[redacted]	No	No	JRD (Spring House, PA, US)	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.5

[a] A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. The cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D (CTD2.6.2.2.3).

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

[c] Unless otherwise specified. For Repeat-Dose Toxicity, the highest NOAEL (no-observed-adverse-effect level) is underlined.

[d] Based on the poor cross-reactivity and lack of adverse effects and minimal pharmacodynamic effects observed in the 4-week tolerability study, further nonclinical safety studies with talquetamab in the cynomolgus monkey were not considered useful for human risk assessment. Therefore, for hazard identification, repeat-dose toxicity studies in the cynomolgus monkey were conducted with the surrogate antibody (JNJ-64024701).

[e] The buffer formulation contained [redacted] mM [redacted], [redacted]% [redacted], [redacted]% polysorbate 20, and [redacted] µg/mL EDTA at pH [redacted].

[f] The New Zealand White rabbit was chosen as the animal model because it is a generally accepted species for tolerability/irritancy testing and talquetamab is neither sufficiently cross-reactive with cynomolgus monkey nor cross-reactive with common toxicology species (CTD2.6.2.2.3). Because rabbits are not a pharmacologically relevant species, the study tested the local tolerance of the formulation for the 10 mg/mL final vialed product.

[g] The control group received sterile saline on the right side and buffer formulation on the left side of the scapular region.

cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; [redacted] = [redacted]; EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; JRD = Janssen Research and Development, LLC; [redacted] = [redacted] NA = not applicable; No. = number; [redacted] = [redacted]; PA = Pennsylvania; PBS = phosphate buffered saline; TK = toxicokinetics; UK = United Kingdom; US = United States.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Type of Study	Test System	Test Article	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	GLP	Study No./ Location in CTD
JNJ-64407564 (talquetamab) [a,c]						
Repeat-dose TK in an exploratory 4-week tolerability study	Cynomolgus monkey (2 M, 1 F/treatment group, 1/sex for control group)	talquetamab	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[d])	0, 0.5, 3, 10, 30	No	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]						
Repeat-dose TK in an exploratory 2-week tolerability study	Cynomolgus monkey (1 sex/group + 1 M for the 10 mg/kg group)	surrogate antibody	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[d])	0, 0.3, 1, 10	No	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
Repeat-dose TK in a 1-month toxicity study	Cynomolgus monkey (3/sex/group)	surrogate antibody	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[d])	0, 10, 30	Yes	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3

[a] A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. Cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D (CTD2.6.2.2.3).

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

[c] Based on the poor cross-reactivity and lack of adverse effects and minimal pharmacodynamic effects observed in the 4-week tolerability study, further nonclinical safety studies with talquetamab in the cynomolgus monkey were not considered useful for human risk assessment. Therefore, for hazard identification, repeat-dose toxicity studies in the cynomolgus monkey were conducted with the surrogate antibody (JNJ-64024701).

[d] The buffer formulation buffer contained [redacted] mM [redacted], [redacted]% [redacted], [redacted]% polysorbate 20, and [redacted] µg/mL EDTA at pH [redacted]

cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; M = male; No. = number; TK = toxicokinetics.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Weekly IV Dose (mg/kg)	Study Duration	Steady-State (SD) AUC (µg·day/mL) Cynomolgus Monkey No. of Animals	M	F	M+F	Study Type	Study No./ Location in CTD
JNJ-64407564 (talquetamab)[a,c]							
0.5	4 weeks	2 M, 1 F			NC[d]	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
3	4 weeks	2 M, 1 F			NC[d]	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
10	4 weeks	2 M, 1 F			NC[d]	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
30	4 weeks	2 M, 1 F			NC[d]	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]							
0.3	2 weeks	1 M, 1 F	20.39	22.56	21.48	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
1	2 weeks	1 M, 1 F	74.62	45.30	59.96	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
10	2 weeks	2 M, 1 F	432.46[e] / 294.28[e]	413.10[e]	379.95[e] (74.82)	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
	4 weeks	3 M, 3 F	52.20[f] (7.99)	313.70[f] (458.07)	182.95[f] (323.22)	Pivotal GLP toxicity	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3
30	4 weeks	3 M, 3 F	1128.31 (560.15)	1814.02 (1489.99)	1471.16 (1074.52)	Pivotal GLP toxicity	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3

[a] A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. Cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D (CTD2.6.2.2.3).

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

[c] Based on the poor cross-reactivity and lack of adverse effects and minimal pharmacodynamic effects observed in the 4-week tolerability study, further nonclinical safety studies with talquetamab in the cynomolgus monkey were not considered useful for human risk assessment. Therefore, for hazard identification, repeat-dose toxicity studies in the cynomolgus monkey were conducted with the surrogate antibody (JNJ-64024701).

[d] AUC values were not estimated because the last sample collection was shorter than 1 dose interval following the last dose on Day 22.

[e] AUC was estimated from the $AUC_{Day8\text{-}10.83}$ because of the short sample collection period (only up to 70 hours) for this dose group following the last dose on Day 8.

[f] AUC was estimated based on the data up to Day 23 for 1 F (#2501) or Day 24 for 3 M (#2001, #2002, #2003) because the concentration was below the lowest quantifiable concentration (0.16 µg/mL) toward the end of the dosing period.

AUC = area under the serum concentration versus time curve; $AUC_{Day8\text{-}10.83}$ = AUC between Day 8 and Day 10.83; cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; M = male; No. = number; SD = standard deviation.

(Continued)

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Weekly IV Dose (mg/kg)	Study Duration	Steady-State (SD) C_{max} (µg/mL) Cynomolgus Monkey No. of Animals	M	F	M+F	Study Type	Study No./ Location in CTD
JNJ-64407564 (talquetamab)[a,c]							
0.5	4 weeks	2 M, 1 F			18.71 (2.42)	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
3	4 weeks	2 M, 1 F			99.60 (2.75)	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
10	4 weeks	2 M, 1 F			353.12 (14.72)	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
30	4 weeks	2 M, 1 F			853.18 (161.45)	Tolerability	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]							
0.3	2 weeks	1 M, 1 F	6.47	8.99	7.73	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
1	2 weeks	1 M, 1 F	22.61	21.50	22.05	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
10	2 weeks	2 M, 1 F	270.09 / 187.76	243.04	233.29 (42.51)	Tolerability	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
	4 weeks	3 M, 3 F	194.01 (37.72)	199.94 (67.62)	196.98 (49.08)	Pivotal GLP toxicity	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3
30	4 weeks	3 M, 3 F	755.83 (81.37)	760.79 (196.71)	758.31 (134.66)	Pivotal GLP toxicity	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3

[a] A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. Cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D (CTD2.6.2.2.3).

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

[c] Based on the poor cross-reactivity, and lack of adverse effects and minimal pharmacodynamic effects observed in the 4-week tolerability study, further nonclinical safety studies with talquetamab in the cynomolgus monkey were not considered useful for human risk assessment. Therefore, for hazard identification, repeat-dose toxicity studies in the cynomolgus monkey were conducted with the surrogate antibody (JNJ-64024701).

cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; M = male; No. = number; SD = standard deviation.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧表

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Batch No.	Purity (Test)	Endotoxin (EU/mg)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Type of Study	Study No./ Location in CTD
JNJ-64407564 (talquetamab)[a]							
[redacted]	[redacted]% ([redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Exploratory 4-week IV tolerability in the cynomolgus monkey	T-20[redacted]-027/ 4.2.3.2.1
	[redacted]% CD3xGRPC5D ([redacted])						
[redacted] (final vialed product)	[redacted]% ([redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Single-dose SC local tolerance in the New Zealand White rabbit (GLP)	T-20[redacted]-019/ 4.2.3.6.1
	[redacted]% ([redacted])						
	[redacted]% ([redacted])						
	[redacted]% ([redacted])						
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Serum compatibility	T-20[redacted]-003/ 4.2.3.7.7.2
						Hemolytic potential	T-20[redacted]-002/ 4.2.3.7.7.3
						Cytokine release, soluble format assay	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.7.7.4
						Cytokine release, wet-coated, plate-bound solid format assay	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.5
Biotinylated JNJ-64407564 (biotinylated talquetamab)[a]							
[redacted] (source lot of unlabeled protein: [redacted]; see above)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Human tissue cross-reactivity (GLP)	T-20[redacted]-040/ 4.2.3.7.7.1

(Continued)

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧表（続き）

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Batch No.	Purity (Test)	Endotoxin (EU/mg)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Type of Study	Study No./ Location in CTD
JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]							
[redacted]	[redacted]% (analytical [redacted])	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	Exploratory 2-week IV tolerability in the cynomolgus monkey	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	1-Month IV toxicity in the cynomolgus monkey (GLP)	T-20[redacted]-009/ 4.2.3.2.3

[a] The cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D (CTD2.6.2.2.3).

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

CD3 = cluster of differentiation 3; [redacted] = [redacted] liquid chromatography; [redacted] HPLC = [redacted] liquid chromatography - high performance liquid chromatography; [redacted] = [redacted]; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; IV = intravenous; No. = number; NR = not reported; RP-HPLC = revsered-phase high performance liquid chromatography; SC = subcutaneous; [redacted]-HPLC = [redacted] high performance liquid chromatography

2.6.7.5　単回投与毒性試験

No single-dose toxicity studies were conducted with either talquetamab or the surrogate antibody (JNJ-64024701).

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)[a] or JNJ-64024701 (surrogate antibody)[b]

Species/Strain Sex/No. Per Group	Test Article	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Cynomolgus monkey (1/sex control group; 2 M, 1 F/treatment group)	talquetamab (JNJ-64407564)	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[c])	4 weeks	0, 0.5, 3, 10, 30	Well tolerated up to 30 mg/kg without clinical signs, significant pharmacodynamic effects (eg, cytokine release), or adverse effects on safety parameters. Changes were generally consistent with the expected mechanism of action and included transient and mild to marked decreases in lymphocyte counts.	T-20[redacted]-027[d]/ 4.2.3.2.1
Cynomolgus monkey (1/sex/group + 1 M for the 10 mg/kg group)	surrogate antibody (JNJ-64024701)	IV (slow bolus), weekly (buffer formulation[c])	2 weeks	0, 0.3, 1, 10	Well tolerated up to 10 mg/kg with no effects on clinical signs, pharmacodynamics effects (cytokine release), or adverse effects on safety parameters. Non-adverse changes were transient decreases in lymphocytes and increases in C-reactive protein at 10 mg/kg. Chronic inflammation at the injection site at 10 mg/kg was likely due to experimental manipulation since this was seen in the control group but a test-article related change could not be excluded because it occurred at a higher incidence and severity.	T-20[redacted]-060/ 4.2.3.2.2

[a] A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. Cynomolgus monkey was considered to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D. (CTD2.6.2.2.3)

[b] The surrogate antibody (JNJ-64024701) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (CTD2.6.2.2.3).

[c] The buffer formulation contained [redacted] mM [redacted], [redacted]% [redacted], [redacted]% polysorbate 20, and [redacted] µg/mL EDTA at pH [redacted]

[d] Based on the poor cross-reactivity and lack of adverse effects and minimal pharmacodynamic effects observed in the 4-week tolerability study, further nonclinical safety studies with taquetamab in the cynomolgus monkey were not considered useful for human risk assessment. Therefore, for hazard identification, repeat-dose toxicity studies in the cynomolgus monkey were conducted with the surrogate antibody (JNJ-64024701).

cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid; F = female; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IV = intravenous; M = male; No. = number.

2.6.7.7 反復投与毒性試験

Report Title: JNJ-64024701 (GCD[redacted] GPRC5DxCD3): A 1-Month GLP Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys

Test Article: JNJ-64024701 (surrogate antibody)[a]

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: 2.6 to 5.2 years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: [redacted] mM [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted], [redacted]% (w/v) Polysorbate 20, and [redacted] µg/mL EDTA at pH [redacted]
Special Features: Plasma cytokine analysis
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg

Duration of Dosing: 1 month (once weekly; Days 1, 8, 15, and 22); necropsy on Day 29
Duration of Postdose Recovery: None
Route: Intravenous slow bolus once weekly

Study No.: T-20[redacted]-009
Location in CTD: 4.2.3.2.3
GLP Compliance: Yes

Weekly Dose (mg/kg)		0 (Control)		10		30	
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics, Mean (SD) Values [b]							
AUC_{Day1-8} (µg·day/mL)				588.07 (33.26)	513.63 (23.30)	1761.29 (118.04)	1745.81 (271.14)
	combined M + F	BQL		**550.85 (48.19)**		**1753.55 (187.22)**	
$AUC_{Day22-29}$ (µg·day/mL)				52.20 (7.99)	313.70 (458.07)	1128.31 (560.15)	1814.02 (1489.99)
	combined M + F	BQL		**182.95 (323.22)**		**1471.16 (1074.52)**	
C_{max} (µg/mL)							
Following Dose on Day 1				242.77 (3.90)	218.50 (7.88)	682.07 (24.32)	645.63 (99.61)
	combined M + F	BQL		**230.64 (14.41)**		**663.85 (67.85)**	
Following Dose on Day 22				194.01 (37.72)	199.94 (67.62)	755.83 (81.37)	760.79 (196.71)
	combined M + F	BQL		**196.98 (49.08)**		**758.31 (134.66)**	
Anti-drug Antibody-positive animals		2	1	3	2	3	2
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Noteworthy Findings							
Total Mortality		0	0	0	0	0	0
Body Weight		-	-	-	-	-	-
Food Consumption (qualitative)		-	-	-	-	-	-
Clinical Observations		-	-	-	-	-	-
Veterinary Physical Examination		-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations		-	-	-	-	-	-
Blood Pressure, Heart Rate, Body Temperature		-	-	-	-	-	-
Electrocardiography (qualitative)		-	-	-	-	-	-

[a] JNJ-64024701 (surrogate antibody) has cross-reactivity to cGPRC5D that is similar to that of talquetamab (JNJ-64407564) and was considered pharmacologically relevant in cynomolgus monkey. A pharmacologically relevant animal model could not be identified for talquetamab. Cynomolgus monkey was determined to be not pharmacologically relevant because talquetamab poorly bound to cGPRC5D and elicited at least 100-fold lower in vitro pharmacologic activity in cells expressing cGPRC5D compared to hGPRC5D. (CTD2.6.2.2.3)

[b] Most animals had no drug accumulation following 4 weekly dose administrations of 10 and 30 mg/kg. The decrease in drug exposure following repeated dose administrations was likely due to development of anti-drug antibody. The drug exposure in the control group and predose samples was below the lowest quantifiable concentration (0.16 µg/mL).

(Continued)

Report Title: JNJ-64024701 (GCD[redacted] GPRC5DxCD3): A 1-Month GLP Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys **Test Article:** JNJ-64024701 (surrogate antibody)

Weekly Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**10**		**30**	
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Hematology [a]							
Lymphocytes (10^3 µL)	**Prestudy (Day-7)**	7.153	7.927	6.033	5.800	5.790	3.973
	Day 2	0.69x	0.73x	0.36x	0.33x	0.45x	0.58x
Large unstained cells (10^3 uL)	**Prestudy (Day-7)**	0.093	0.077	0.057	0.067	0.070	0.073
	Day 23	0.35x	0.69x	1.35x	0.90x	1.76x	2.70x
	Day 28	0.51x	0.65x	1.00x	1.15x	1.76x	2.56x
Coagulation [a,b]							
Fibrinogen (mg/dL)	**Prestudy (Day-7)**	277.0	248.0	242.7	230.7	237.3	-
	Day 2	1.10x	1.21x	1.52x	1.35x	1.37x	-
	Day 6	1.05x	-	1.49x	-	-	-
Clinical Chemistry [a]							
Globulin (g/dL)	**Prestudy (Day -7)**	3.13	2.80	2.73	3.03	3.07	3.37
	Day 28	0.99x	1.00x	1.18x	1.17x	1.21x	1.17x
Albumin:Globulin ratio	**Prestudy (Day -7)**	1.40	1.60	1.47	1.33	1.40	1.33
	Day 28	1.02x	0.98x	0.84x	0.90x	0.81x	0.80x
Urinalysis		-	-	-	-	-	-
Cytokines [c]							

[a] Multiples of prestudy (Day -7) are shown. Absolute mean values for prestudy are shown for reference. Statistical analysis was not conducted due to limited number of animals.

[b] These findings were considered of uncertain relationship to the administration of JNJ-64024701.

[c] JNJ-64024701-related transient increases to IL-10 concentrations were observed at Day 1: 2 h postdose in the animals from 10 and 30 mg/kg dose groups. All 3 male animals and 1 of 3 female animals from the 10 mg/kg dose group had increases at Day 1: 2 h postdose that ranged from 779.613 to 2363.323 pg/mL. In the 30 mg/kg dose group, 2 of 3 male and 2 of 3 female animals had increases in IL-10 at Day 1: 2 h postdose that ranged from 752.516 to 4197.373 pg/mL. These increases in the JNJ-64024701-dosed animals were considered test article related, as the increases were observed at the same time point and there were no increases in plasma IL-10 concentrations in the animals from the control dose group and all values were <LLOQ (750.000 pg/mL). All other tested cytokines (IL-2, IL-6, IFN-γ, and TNF-α) were either at the LLOQ or showed sporadic and mild increases among the control and JNJ-64024701-treated animals.

(Continued)

2.6.7.7　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: JNJ-64024701 (GCD[redacted] GPRC5DxCD3): A 1-Month GLP Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys　**Test Article:** JNJ-64024701 (surrogate antibody)

Weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**10**		**30**	
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Terminal Necropsy (Day 29)						
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings

AUC_{t1-t2} = area under the serum concentration versus time curve from time point t1 to t2; BQL = below the lowest quantifiable concentration in a sample (<0.16 µg/mL); CD3 = cluster of differentiation 3; cGPRC5D = cynomolgus monkey GPRC5D; C_{max} = maximum observed serum concentration; EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; hGPRC5D = human GPRC5D; IFN = interferon; IL = interleukin; LLOQ = lower limit of quantification; M = male; No. = number; TNF = tumor necrosis factor.

Confidential

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

In vitro genotoxicity studies have not been conducted with talquetamab. Genotoxicity studies, routinely conducted for pharmaceuticals, are not applicable to biotechnology-derived pharmaceuticals. Because of its large molecular size (approximately 147 kDa), an antibody such as talquetamab is not expected to pass through the cellular and nuclear membranes of intact cells and interact with DNA or other chromosomal material. Therefore, the use of standard genotoxicity studies is not considered appropriate.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

In vivo genotoxicity studies have not been conducted with talquetamab. Genotoxicity studies, routinely conducted for pharmaceuticals, are not applicable to biotechnology-derived pharmaceuticals. Because of its large molecular size (approximately 147 kDa), an antibody such as talquetamab is not expected to pass through the cellular and nuclear membranes of intact cells and interact with DNA or other chromosomal material. Therefore, the use of standard genotoxicity studies is not considered appropriate.

2.6.7.10 がん原性試験

No carcinogenicity studies have been performed because talquetamab is an antibody for the treatment of advanced cancer.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

Reproductive and developmental toxicology studies have not been conducted. Reproductive and developmental risks potentially associated with talquetamab were assessed using a weight-of-evidence approach.

2.6.7.12 生殖発生毒性試験 - 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Fertility and early embryonic develeopmtnet to implantation studies have not been conducted.

Confidential

2.6.7.13　生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

Embryo-fetal development toxicity studies were not conducted. Reproductive and developmental risks potentially associated with talquetamab were assessed using a weight-of-evidence approach (CTD.2.6.6.6).

2.6.7.14　生殖発生毒性試験 - 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

Prenatal and postnatal development studies were not conducted. Risk during pregnancy was assessed through a weight-of-evidence approach (CTD2.6.6.6).

2.6.7.15　生殖発生毒性試験 - 新生児を用いた試験

No juvenile toxicity studies were conducted because talquetamab is intended for the treatment of adult patients.

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rabbit/ New Zealand White 6M/group	SC (final vialed product with buffer formulation[b])	0[c], 20 (2 mL at 10 mg/mL)	Well tolerated. No adverse dermal reactions (erythema, edema, flaking, ulceration, scabbing, or wrinkling) occurred at the injection sites. No talquetamab-related gross or microscopic findings in the injection sites or draining lymph nodes.	T-20[redacted]-019/ 4.2.3.6.1

[a] The New Zealand White rabbit was chosen as the animal model because it is a generally accepted species for tolerability/irritancy testing. Because the rabbit was not considered a pharmacologically relevant species (CTD2.6.2.2.3), the study tested the local tolerance of the formulation for the 10 mg/mL final vialed product.

[b] The buffer formulation contained [redacted] mM [redacted] ([redacted] mg/mL [redacted], [redacted] mg/mL [redacted]), [redacted]% [redacted], [redacted]% Polysorbate 20, and [redacted] mg/mL EDTA disodium at pH [redacted].

[c] The control group received sterile saline on the right side and buffer formulation on the left side of the scapular region.

EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid; M = male; No. = number.

2.6.7.17　その他の毒性試験

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies					
Tissue cross-reactivity GLP 38 normal human tissues (cryosections) 3 donors/tissue	In vitro	NA	2, 10 µg/mL biotinylated talquetamab	Membrane and cytoplasm staining of mononuclear cells in: bladder, breast, fallopian tube, GALT in the gastrointestinal tract (colon, esophagus, small intestine, and stomach), kidney, liver, BALT in the lung, ovary, parathyroid, peripheral nerve, pituitary, placenta, prostate, salivary gland, lymph node, spleen, thymus, thyroid, tonsil, ureter, and uterus (cervix, endometrium) CD3 is expressed by T cells; therefore, staining of mononuclear cells (which includes T cells) was anticipated. All other staining was cytoplasmic in nature and is considered of little to no toxicologic significance.	T-20[redacted]-040/ 4.2.3.7.7.1
Serum compatibility Human serum 3 donors	In vitro (diluent: buffer formulation)	40 minutes	0.01 to 10 mg/mL	Compatible with human serum (no precipitation)	T-20[redacted]-003/ 4.2.3.7.7.2
Hemolytic potential Human whole blood 3 donors	In vitro (diluent: buffer formulation)	40 minutes	0.01 to 10 mg/mL	Compatible with human blood (no hemolysis)	T-20[redacted]-002/ 4.2.3.7.7.3
Cytokine release, soluble format assay Human whole blood 16 normal healthy donors (same donors as T-20[redacted]-024)	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	0.0106 to 200 µg/mL (0.068 to 1333 nM)	Statistically significant, dose-dependent increases (relative to the PBS negative control) in IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN-γ, and TNF-α. Estimates of population EC_{20} values of JNJ-64407564 were: IL-1β, 346.39 nM; IL-2, 195.49 nM; IL-8, 519.20 nM; IFN-γ, 6616.99 nM; and TNF-α, 859.97 nM. Estimates of EC_{20} values could not be calculated for IL-6, IL-10, and IL-13 due to lack of 4-parameter curve fit, from either insufficient induction across the dose range or high donor-to-donor variability. IL-4 and IL-12p70 were not different than control.	T-20[redacted]-001/ 4.2.3.7.7.4

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-64407564 (talquetamab)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies (Continued)					
Cytokine release, wet-coated, plate-bound solid format assay[a] Human whole blood 16 normal healthy donors (same donors as T-20[redacted]-001)	In vitro (diluent: PBS)	48 hours	0.0106 to 200 µg/mL (0.068 to 1333 nM)	Statistically significant release (relative to the PBS negative control) in 9 of 10 cytokines: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN-γ, and TNF-α. Population estimates of EC_{20} values for cytokine release, using a 4-parameter curve fit, could not be calculated for any of the cytokines induced, due either to a lack of dose-dependent activity and/or high donor-to-donor variability across the dose range. Cytokine responses for talquetamab had a similar profile to the CD3[redacted] (CD3xNull) control, suggesting that the cytokine response was likely due to crosslinking of the CD3 receptor on T cells.	T-20[redacted]-024/ 4.2.3.7.7.5

[a] The induction of IL-6 and IL-8 by the isotype control ([redacted]) suggested that activity of CD3[redacted] and talquetamab may not be exclusive to the complementary binding domain. The response to talquetamab also appeared to be biphasic and suboptimal. Taken together, these data call into question the biological relevance of the plate-bound assay format for quantitative assessment of cytokine release by talquetamab.

BALT = bronchus-associated lymphoid tissue; CD3 = cluster of differentiation 3; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; EC_{20} = 20% maximal effective concentration; GALT = gut-associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; IFN = interferon; IL = interleukin; No. = number; PBS = phosphate buffered saline; TNF = tumor necrosis factor.