2.6.6 毒性試験の概要文

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 1
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.4 遺伝毒性試験 11
2.6.6.5 がん原性試験 11
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 11
2.6.6.7 局所刺激性試験 11
2.6.6.8 その他の毒性試験 12
2.6.6.9 考察及び結論 12
2.6.6.10 図表 17
2.6.6.11 参考文献 18

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
ADA	antidrug antibody：抗薬物抗体
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$、AUC_{0-inf}：時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
DT	diphtheria toxin：ジフテリア毒素
ECL-IA	electrochemiluminescence immunoassay：電気化学発光免疫測定
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IL-3	interleukin-3：インターロイキン-3
IL-3R	interleukin-3 receptor：インターロイキン-3 受容体
IL-3Rα	interleukin-3 receptor α subunit：インターロイキン-3 受容体 α サブユニット
MTD	maximum tolerated dose：最大耐用量
NOAEL	no-observed-adverse-effect level：無毒性量
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス

2.6.6.1 まとめ

タグラキソフスプはジフテリア毒素（DT）とヒトインターロイキン-3（IL-3）からなる遺伝子組換え融合タンパク質であり、重篤かつ致死性の進行がんである芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍（BPDCN）を適応症とする。タグラキソフスプの製造販売承認申請（申請区分：新有効成分含有医薬品）を行うにあたり、必要な毒性試験として反復投与毒性試験を実施した（表 2.6.6.1-1）。一部試験を除き、反復投与毒性試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。なお、独立した単回投与毒性試験及び局所刺激性試験は実施せず、反復投与毒性試験の中で評価した。遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験は、ICH S6(R1)ガイドライン（「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について、平成 24 年 3 月 23 日付 薬食審査発 0323 第 1 号）又は ICH S9 ガイドライン（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて、平成 22 年 6 月 4 日付 薬食審査発 0604 第 1 号）に基づき実施しなかった。なお、生殖毒性（生殖・発達へのリスク）については、本適応症の重篤度及び限られた治療選択肢を考慮し、胚胎児に及ぼすタグラキソフスプの影響について公表文献により評価した。

表 2.6.6.1-1 タグラキソフスプの毒性試験プログラム

試験の種類	投与期間	動物種	投与経路・投与方法	GLP	試験番号
反復投与毒性試験	5 日間	カニクイザル	静脈内・1 日 1 回	不適	2231-001
	5 日間	カニクイザル	静脈内・1 日 1 回	不適	2231-004
	5 日間＋3 週間回復	カニクイザル	静脈内・1 日 1 回	適	2231-002
	3 ヵ月	カニクイザル	静脈内・1 日 1 回	適	2231-007

毒性試験の概略を以下に示す。

（1） 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施せず、カニクイザルにおける 5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（投与量：0、30、60 μg/kg/日）の中で評価した。60 μg/kg/日群の雌 1 例がタグラキソフスプ投与に起因した腎障害による状態悪化を示し、6 日目に安楽死した。しかし、初回投与後にはタグラキソフスプ投与に起因した変化は認められず、タグラキソフスプの単回静脈内投与による概略の致死量は 60 μg/kg/日超と判断した。

（2） 反復投与毒性試験

カニクイザルを用いた毒性試験を 4 試験実施した。

5 日間静脈内投与毒性試験（投与量：40、60、80 μg/kg/日）では、80 μg/kg/日群で 5 日目にタグラキソフスプ投与に起因した一般状態の悪化によりの雄 1 例が安楽死した。また、同群の生存例の雌で、血小板数及び網状赤血球数の減少、好中球数の増加が認められた。60 μg/kg/日以上の群では食欲不振が認められた。40 μg/kg/日以上の群では、活動性低下、円背位、被毛の菲薄化、体重減少、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加、尿素窒素ないしクレアチニンの増加、グロブリンの増加及びアルブミンの減少等が認められた。以上より、本試験の最大耐用量（MTD）は 60 μg/kg/日であると判断した。

5 日間静脈内投与毒性試験（投与量：30、60 μg/kg/日）では、60 μg/kg/日群で投与部位の腫脹/赤色化、好中球数の増加、網状赤血球数の減少が認められた。30 μg/kg/日以上の群では、AST 及び

ALT の増加、グロブリンの増加及びアルブミンの減少、アルブミン／グロブリン比の減少等が認められた。以上より、本試験の最大耐用量（MTD）は 60 μg/kg/日であると判断した。

5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（投与量：0、30、60 μg/kg/日）では、腎障害による状態悪化により 6 日目に 60 μg/kg/日群の雌 1 例が安楽死した。生存例では、30 μg/kg/日以上の群で食欲不振や体重減少が、血液学的検査では網状赤血球数の減少及び白血球数の減少等が、血液生化学的検査では AST 及び ALT の増加等が、尿検査では尿蛋白の増加や尿量の減少とそれに伴う尿比重の増加が認められた。病理組織学的検査では脳脈絡叢の炎症／壊死／変性、限局性出血、上皮細胞の変性／壊死、脳室内の遊離白血球及び細胞残渣、腎臓の皮質尿細管の変性／壊死、肝臓の小葉中心性肝細胞壊死及び空胞化、並びに胸腺のリンパ球の減少が認められた。60 μg/kg/日群では、血液生化学的検査で尿素窒素及びクレアチニンの上昇が認められた。腎臓、肝臓、胸腺の変化については回復性が認められたが、60 μg /kg/日群の体重減少及び 30 μg/kg/日以上の群の脳脈絡叢の変化については、回復性は認められなかった。60 μg/kg/日群の雌 1 例が状態悪化により安楽死したため、本試験の MTD は 30 μg/kg/日と判断した。また、30 μg/kg/日以上の群で脳脈絡叢の変性／壊死／炎症及び腎皮質尿細管の変性／壊死等が認められたことから、本試験の無毒性量（NOAEL）は 30 μg/kg/日未満と判断した。

3 ヵ月静脈内投与毒性試験（投与量：0、35、45 μg/kg/日）では、9 日目に 45 μg/kg/日群の雌 1 例が状態悪化により安楽死した。生存例では、35 μg/kg/日以上の群で食欲不振、振戦、円背位、皮膚の菲薄化、乾燥、活動性の低下等の変化や体重減少が認められた。また同群において、血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球数の減少等が、血液生化学的検査では、グロブリンの増加及びアルブミンの減少、AST 及び ALT の増加等が認められた。病理組織学的検査では、脳脈絡叢の変性／壊死、単核細胞浸潤及び線維化、胸腺のリンパ球の減少が認められた。45 μg/kg/日群では血小板数の減少が認められた。35 μg/kg/日以上の群で脳脈絡叢に変性／壊死が、胸腺に広範囲のリンパ球の減少等が認められたため、本試験での NOAEL は 35 μg/kg/日未満と判断した。

（3） 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施せず、反復投与毒性試験の投与部位の一般状態観察及び病理組織学的検査にて評価した。

5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（投与量：0、30、60 μg/kg/日）では、タグラキソフスプ投与に起因した投与部位の変化は認められなかった。

3 ヵ月静脈内投与毒性試験（投与量：0、35、45 μg/kg/日）では、投与部位の病理組織学的検査において、35 μg/kg/日群の雌 1 例で軽微な表皮過形成が、45 μg/kg/日群の雄 1 例で血管周囲結合組織の軽度の限局性壊死が認められ、タグラキソフスプの刺激性に起因した変化と考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施せず、カニクイザルにおける 5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（GLP、試験番号 2231-002、投与量：0、30、60 μg/kg/日、2.6.6.3.3 項参照）の中で評価した。60 μg/kg/日群の雌 1 例がタグラキソフスプ投与に起因した腎障害により状態悪化を示し、6 日目に安楽死した。しかし、初回投与後にはタグラキソフスプ投与に起因した変化は認められず、タグラキソフスプを単回静脈内投与した際の概略の致死量は 60 μg/kg/日超と判断した。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 カニクイザルにおける 5 日間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-001、資料番号 4.2.3.2-1、参考資料）

カニクイザルにタグラキソフスプを 5 日間反復静脈内投与した際の毒性、MTD、トキシコキネティクス（TK）及び抗薬物抗体（ADA）について評価した。

およそ 2～4 歳齢の雌雄カニクイザル（雌雄各群 1 例）に、タグラキソフスプ（媒体：リン酸緩衝生理食塩液）を 40、60、及び 80 μg/kg/日の用量で 1 日 1 回、5 分間かけて 5 日間静脈内投与した（表 2.6.6.3.1-1）。毒性は、一般状態観察、体重測定、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施し、評価した。TK は、電気化学発光免疫測定（ECL-IA）法により 1 日目及び 5 日目のタグラキソフスプの血漿中濃度を測定し、評価した。また、試験開始時点での ADA の有無を検討するため、初回投与前（試験開始前）の血清中 ADA を評価した。

表 2.6.6.3.1-1 試験デザイン（2231-001 試験）

投与量（μg/kg）	動物数	投与容量（mL/kg）	投与濃度（μg/mL）	投与速度（mL/kg/分）
40	雌雄各 1	2.5	16	0.5
60	雌雄各 1	3.8	16	0.76
80	雌雄各 1	5.0	16	1

投与期間中、80 μg/kg/日群の雄において、円背位、顕著な活動性の低下、握力障害、運動能力の低下、四肢冷感、後肢の疼痛反応の消失等の状態悪化が認められたため、5 日目に安楽死した。

生存例の一般状態観察では、全ての群の雌雄で活動性の低下、円背位、被毛の菲薄化が用量依存的に観察された。また、全ての群の雌及び 60 μg/kg/日群の雄で食欲不振が認められた。

体重測定では、全ての群の雄並びに 40 及び 80 μg/kg/日群の雌で体重減少が認められた。

血液学的検査では、主に 80 μg/kg/日群において、好中球数の増加、血小板数及び網状赤血球数の減少が散見された。

血液生化学検査では、全ての群の雌雄で AST 及び ALT の増加が初回投与後から認められ、また、40 及び 60 μg/kg/日群の雄及び 40 及び 80 μg/kg/日群の雌で腎機能障害を示唆する尿素窒素ないしクレアチニンの増加が認められた。また、全ての群の雌雄で軽度のグロブリンの増加及びアルブミンの減少が認められた。

TK について、1 日目と 5 日目の TK プロファイルに明らかな差はなく、性差も認められなかった。各投与日において、タグラキソフスプの曝露量［最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）］は、40～80 μg/kg の範囲において概ね投与量に比例して増加した

（2.6.5.4.1 項参照）。

ADA について、投与前の動物の 6 例中 3 例は陰性で 3 例が陽性であったが、陽性を示したサンプルの抗体力価は最小であり、TK に及ぼす影響は低いと考えられた。

以上、本試験では 80 μg/kg/日群の雄 1 例で顕著な状態悪化が認められたため、MTD は 60 μg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.2 カニクイザルにおける 5 日間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-004、資料番号 4.2.3.2-2、参考資料）

カニクイザルにタグラキソフスプを 5 日間反復静脈内投与した際の毒性及び MTD を評価した。

およそ 2～4 歳齢の雌雄カニクイザル（雌雄各群 1 例）に、タグラキソフスプ（媒体：5%ブドウ糖溶液）を 30 及び 60 μg/kg/日の用量で 1 日 1 回、5 分かけて 5 日間静脈内投与した。毒性は、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査を実施し、評価した。投与量は先の試験（試験番号 2231-001、2.6.6.3.1 項参照）に基づいて設定した。

表 2.6.6.3.2-1 試験デザイン（2231-004 試験）

投与量（μg/kg）	動物数	投与容量（mL/kg）	投与濃度（μg/mL）
30	雌雄各 1	0.197	152
60	雌雄各 1	0.394	152

投与期間中に死亡は認められなかった。

一般状態観察では、食欲不振は認められず、30 μg/kg/日以上の群の雌雄でタグラキソフスプ投与に関連した注射部位の腫脹ないし赤色化が認められた。

体重測定では、30 及び 60 μg/kg/日群の雌雄で体重減少が認められた。

血液学的検査では、30 μg/kg/日群の雄及び 60 μg/kg/日群の雌雄で網状赤血球数の減少が、30 μg/kg/日群の雌及び 60 μg/kg/日群の雌雄で好中球数の増加がみられた。

血液生化学的検査では、全ての群の雌雄で AST 及び ALT の増加、グロブリンの軽度増加、アルブミンの減少傾向及びこれら変化に伴うアルブミン／グロブリン比の減少が認められた。アルブミン／グロブリン比の減少及び好中球数の増加は炎症反応を反映した変化と考えられた。60 μg/kg/日群の雌雄ではクレアチニンの上昇が観察され、糸球体濾過量の軽度減少を示唆すると考えられたが、意義のある尿素窒素の変動は伴わなかった。認められた血液生化学的検査値の変動は軽度であり、毒性学的意義はないと判断した。

以上、本試験で認められた毒性変化はいずれも忍容性があると考えられたことから、MTD は 60 μg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.3 カニクイザルにおける 5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（試験番号 2231-002、資料番号 4.2.3.2-3、評価資料）

カニクイザルにタグラキソフスプを 5 日間反復静脈内投与した際の毒性並びに 3 週間休薬後の回復性、TK 及び ADA について評価した。

およそ 2～4 歳齢の雌雄のカニクイザル（雌雄各群 3 例）にタグラキソフスプを 0（対照群、媒体：5%ブドウ糖溶液）、30 及び 60 µg/kg/日の用量で 1 日 1 回、5 分間かけて 5 日間静脈内投与した。0 及び 60 µg/kg/日群については、さらに各群雌雄 2 例ずつ動物を設け（回復群）、3 週間の休薬後の回復性を評価した（表 2.6.6.3.3-1）。投与量は 2231-004 試験（2.6.6.3.2 項参照）の結果に基づき決定した。毒性（回復性含む）について、一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査を実施し、評価した。TK は、ECL-IA 法により 1 日目及び 5 日目のタグラキソフスプの血漿中濃度を測定し、評価した。ADA は、投与開始前の全群並びに回復群において 14 及び 28 日目に評価した。

表 2.6.6.3.3-1 試験デザイン（2231-002 試験）

投与量（µg/kg）	動物数	投与容量（mL/kg）	投与濃度（µg/mL）
0（対照群）	雌雄各 5[a]	0.394	0
30	雌雄各 3	0.197	152
60	雌雄各 5[a]	0.394	152

a：5 例のうち 2 例は回復群

投与期間中、60 µg/kg/日の雌 1 例が状態悪化を示し、6 日目に安楽死した。当該動物では、重度の腎機能障害、重度の尿細管変性及び壊死、AST、ALT、アルカリホスファターゼ、ガンマグルタミルトランスフェラーゼの上昇といった肝細胞及び肝胆道系障害の兆候が認められた。

一般状態観察では、生存例において、30 µg/kg/日以上の群の全例で 4 及び 5 日目に、60 µg/kg/日群の雌 2 例で 2 日目に食欲不振が認められた。対照群を含む全ての群の雌雄で注射部位の痂疲ないし注射部位／採血部位の赤色化が観察され、採血や投与手技によるものと考えられた。

体重測定では、30 µg/kg/日以上の群の雌雄で投与期間中に体重減少が認められ、60 µg/kg/日群では回復期間中も持続した。

血液学的検査では、30 µg/kg/日以上の群の雌雄で網状赤血球数の減少及びリンパ球を含む一部の白血球数の減少、Döhle 小体を伴った好中球数の増加、フィブリノーゲンの増加、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）とプロトロンビン時間の延長が認められた。

血液生化学的検査では、30 µg/kg/日群の雄及び 60 µg/kg/日群の雌雄で AST 及び ALT の用量依存的な上昇が、60 µg/kg/日群の雌雄で尿素窒素及びクレアチニンの上昇が認められた。30 µg/kg/日以上の群の雌雄でグロブリンの増加及びアルブミンの減少が認められ、蛋白尿増加、炎症反応、食欲不振と関連していた。

尿検査では、30 µg/kg/日群の雌及び 60 µg/kg/日群の雌雄で尿蛋白の増加が、30 µg/kg/日以上の群の雌で尿量の減少とそれに伴う尿比重の増加が認められた。

器官重量では、60 μg/kg/日群の雄で肝臓及び腎臓重量の増加が認められ、病理組織学的な毒性変化（肝細胞の壊死及び空胞化、腎尿細管の変性／壊死）と関連していた。

病理解剖学的検査では、60 μg/kg/日群の雄 1 例で腎臓の褐色化が認められた。また、回復期間終了後解剖動物では、60 μg/kg/日群の雄 1 例で胸腺の小型化が認められ、病理組織学的にはリンパ球減少であった。

病理組織学的検査では、脳、腎臓、肝臓及び胸腺でタグラキソフスプ投与に起因する変化が認められた。30 μg/kg/日以上の群の雌雄において、脳では脈絡叢の炎症／壊死／変性が認められ、このうち雌 1 例では限局性の出血、脈絡叢の上皮細胞の変性又は壊死、脳室内の遊離白血球及び細胞残渣が観察された。脳脈絡叢の変性／壊死／炎症は回復群の 60 μg/kg/日群の雌雄においても認められたが、脈絡叢の白血球浸潤は減少し、間質の線維化及び脈絡叢の上皮細胞の局所的な菲薄化ないし構造不整が認められた。これらは全て毒性と考えられ、3 週間の休薬により回復しなかった。腎臓では、30 μg/kg/日以上の群の雌及び 60 μg/kg/日群の雄で腎皮質尿細管の変性／壊死、硝子滴増加が認められ、毒性変化と考えられた。肝臓では、60 μg/kg/日群の雄で AST 及び ALT の上昇を伴う、軽微な小葉中心性肝細胞壊死と軽度の空胞化（少葉中心性又はびまん性）が認められた。変化の程度が軽かったものの肝細胞の傷害性変化を伴っていたことから毒性変化と判断した。胸腺では、30 μg/kg/日群の雌（安楽殺した雌 1 例含む）、60 μg/kg/日群の雄及び回復群の 60 μg/kg/日群の雌雄で広範囲のリンパ球減少が認められたが、タグラキソフスプ投与に関連した変化及び／又は状態悪化によるストレス性変化と考えられた。

眼科学的検査及び心電図検査ではタグラキソフスプ投与に関連した変化は認められなかった。

投与期間中に認められた変化は、上述の体重減少及び脳脈絡叢の変化を除き、いずれも回復性が認められた。

TK について、1 日目と 5 日目において概ね投与量に比例した曝露量（C_{max}、$AUC_{0-\infty}$）の増加が認められ、反復投与による影響はなかった。TK プロファイルに顕著な性差はなかった。

ADA について、投与前に陰性であることを確認した個体を試験に組み入れた。回復群について、対照群では陰性であったが、60 μg/kg/日（生存個体は 3/4 例）では、14 及び 28 日目のいずれも陽性であった。

以上、カニクイザルにタグラキソフスプを 5 日間反復静脈内投与した結果、60 μg/kg/日群の雌 1 例が状態悪化により安楽死したため、本試験の MTD は 30 μg/kg/日と判断した。また、脳、腎臓、肝臓及び胸腺ではタグラキソフスプ投与に関連した病理組織学的変化及び関連する一般状態の変化並びに臨床検査値の変動が認められた。30 μg/kg/日以上の群で脳脈絡叢の変性／壊死／炎症及び腎皮質尿細管の変性／壊死が認められたことから、本試験の NOAEL は 30 μg/kg/日未満と判断した。肝臓の変化は毒性学的意義のない変化と考えられ、胸腺の変化はタグラキソフスプ投与に起因した変化及び／又は状態悪化によるストレスに関連した変化と考えられた。脳脈絡叢の変化は 3 週間の休薬後も認められ回復性はなかったが、腎臓、肝臓、胸腺の変化については回復性が認められた。

2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-007、資料番号 4.2.3.2-4、評価資料）

カニクイザルにタグラキソフスプを 3 サイクル反復静脈内投与した際の毒性、TK 及び ADA を評価した。

およそ 2～4 歳齢の雌雄カニクイザル（雌雄各群 3 例）にタグラキソフスプを 0（対照群、媒体：生理食塩液）、35 及び 45 μg/kg/日の用量で 3 サイクル投与した（表 2.6.6.3.4-1 参照）。各投与は 1 日 1 回、5 分間かけて 5 日間静脈内投与し、「5 日間投与＋21～22 日間休薬」を 1 サイクルとして 3 サイクル投与した［投与日は 1～5（1 サイクル）、27～31（2 サイクル）及び 54～58 日目（3 サイクル）］。なお、タグラキソフスプ投与による重篤な過敏症／アナフィラキシー等の免疫反応を予防するため、タグラキソフスプ投与群には 27 日目から、対照群には 27～31 日目に、各投与のおよそ 15～30 分前にジフェンヒドラミン（4 mg/kg）を筋肉内注射した。毒性は、一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査を実施し、評価した。TK は、ECL-IA 法により各サイクルの 1 及び 5 日目のタグラキソフスプの血漿中濃度を測定し、評価した。ADA は、14、26、53 及び 68 日目に評価した。

表 2.6.6.3.4-1 試験デザイン（2231-007 試験）

投与量（μg/kg）	動物数	投与容量（mL/kg）	投与濃度（μg/mL）
0（対照群）	雌雄各 3	0.9	0
35	雌雄各 3	0.7	50
45	雌雄各 3	0.9	50

45 μg/kg/日の雌 1 例で、中等度の活動性低下、削痩、中等度の脱水、体温上昇、腹部及び後肢の打撲傷並びに右鼠径部、後肢及び投与部位の腫脹等の状態悪化が認められ、9 日目に安楽死した。当該動物の病理組織学的検査では、脳脈絡叢の変性/壊死に加えて、重度の単核細胞の浸潤／炎症、並びに脳室内腔における壊死細胞及び遊離白血球が認められた。胸腺では中等度のリンパ球減少が認められ、状態悪化によるストレス性変化である可能性が高いと考えられた。胸骨骨髄における顆粒球／赤芽球比率の軽度増加はフィブリノーゲンの増加と相関しており、炎症と関連していると考えられた。

一般状態観察では、生存例において、タグラキソフスプ投与に関連する変化として、35 μg/kg/日以上の群の雌雄で、食欲不振、振戦、円背位、皮膚の菲薄化、乾燥、活動性の低下等が、主に投与後 1～2 及び 4 時間で認められた。皮膚の乾燥はほとんどの測定時点で観察され、投与部位及びその周辺の後肢下部背面で認められた。また、4 週目及び 8 週目に実施した詳細な一般状態観察では、35 μg/kg/日以上の群の雌雄で、脱水を示唆する皮膚の弾力性の喪失が認められた。

体重測定では、雄において対照群に比べて平均体重の低値が認められ、6～22 日目にかけて、35 μg/kg/日群では約 6～11%、45 μg/kg/日群では約 8～14%減少した。同様の傾向が 35 μg/kg/日群では 26～34 日目まで、45 μg/kg/日群では最終投与後まで継続した。

血液学的検査では、35 μg/kg/日以上の群の雌雄で赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球数）の減少が、45 μg/kg/日群の雌雄で血小板数の減少が認

められ、造血抑制に起因する変化と考えられた。これらの変化は 1 及び 2 サイクル後に最も顕著であった。また、骨髄塗抹検査を実施した個体（35 μg/kg/日群の雄 1 例、45 μg/kg/日群の雌雄各 1 例）では、顆粒球／赤芽球比の減少及び多染性赤血球の減少が認められた。また、35 μg/kg/日以上の群の雌雄でフィブリノーゲンの増加及び APTT の延長等が認められ、炎症に関連した変化と考えられた。これらの変化は主に 1 サイクル後に最も顕著であり、両群間で同程度であった。これらの変化に対応する病理組織学的変化は認められなかった。

血液生化学的検査では、35 μg/kg/日以上の群の雌雄において、グロブリン濃度の上昇、アルブミン濃度の低下、AST 及び ALT の用量依存的な上昇が認められた。35 μg/kg/日以上の群の雄及び 45 μg/kg/日群の雌において、主に 1 サイクル後にリン濃度の減少が認められたが、食欲不振に伴う二次的影響と考えられた。

血液学的及び血液生化学的な変化は主に 1 及び 2 サイクルで顕著に認められ、3 サイクルには軽減もしくは消失した。

器官重量測定では、35 μg/kg/日以上の群の雌雄において胸腺の絶対重量並びに体重及び脳に対する相対重量比が用量依存的に減少し（最大 43%減少）、病理組織学的な広範囲のリンパ球減少と一致していた。

病理組織学的検査では、脳、胸腺及び投与部位においてタグラキソフスプ投与に関連した変化が認められた。脳では、35 μg/kg/日以上の群の雌ないし雄において脳脈絡叢の変性／壊死及び単核細胞浸潤、脈絡叢の脳室との癒着、脈絡叢間質の線維化、色素（ヘモジデリン）沈着が認められ、これらの変化は 5 日間投与毒性試験の結果（2.6.6.3.3 項参照）と一致していた。脳脈絡叢の変化は、変化の質（壊死、炎症、線維化）及び重症度に基づき、35 μg/kg/日以上の群の雄及び 45 μg/kg/日群の雌では毒性と判断した。胸腺では、35 μg/kg/日以上の群の雌及び 45 μg/kg/日群の雄で広範囲のリンパ球減少が認められ、タグラキソフスプ投与に関連した変化及び／又は状態悪化によるストレス性変化と考えられた。投与部位では、35 μg/kg/日群の雌 1 例で軽微な表皮過形成が、45 μg/kg/日群の雄 1 例で軽度の血管周囲結合組織の限局性壊死が認められ、タグラキソフスプ投与による局所刺激に起因するものと考えられた。

尿検査、眼科学的検査、心電図検査及び病理解剖学的検査では、タグラキソフスプ投与に関連した変化は認められなかった。

TK について、ばらつきが大きく、雄は雌よりも曝露量が大きい傾向にあるものの、顕著な性差は認められなかった。45 μg/kg/日群では 35 μg/kg/日群に比べ、血漿中タグラキソフスプ濃度が高かった。また、投与量にかかわらず血漿中タグラキソフスプ濃度はサイクルを経るごとに減少し、3 サイクルの 5 日目（58 日目）には全例で定量下限未満となり、TK パラメータは算出できなかった。サイクルに伴うタグラキソフスプの血漿中濃度の減少は ADA 産生による影響と考えられた。

ADA は、タグラキソフスプ投与群の 5/12 例において 14～53 日目に陽性を示した。ADA 陽性例の抗体力価は 1:256～2048 の範囲であり、陽性例数及び抗体力価について両群間で明確な違いはなかった。68 日目には全てのタグラキソフスプ投与群で陰性となり、対照群は全例陰性であった。

以上、カニクイザルにタグラキソフスプを 3 ヵ月間（3 サイクル）静脈内投与した結果、35 μg/kg/日以上の群で脳脈絡叢に変性／壊死が、胸腺に広範囲のリンパ球減少が、投与部位に表皮過形成又は血管周囲結合組織の限局性壊死が認められたことから、本試験での NOAEL は 35 μg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ICH S6(R1)ガイドラインに基づき遺伝毒性試験は実施していない。

2.6.6.5 がん原性試験

ICH S6(R1)ガイドライン及び ICH S9 ガイドラインに基づき、がん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は実施していない。

タグラキソフスプは重篤かつ致死性の進行がんを治療対象としており ICH S9 ガイドラインの適用範囲に含まれること、また、ICH S9 Q&A（「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に関する質疑応答集（Q&A）について、平成 31 年 3 月 27 日付 事務連絡）の Q&A2.9 に基づき、胚・胎児発生に関する試験を実施する意義は低いと判断した。

なお、生殖毒性（生殖・発達へのリスク）については、本適応症の重篤度及び限られた治療選択肢を考慮し、胚胎児に及ぼすタグラキソフスプの影響について公表文献により評価した。タグラキソフスプは DT とヒト IL-3 の遺伝子組換え融合タンパク質であり、配列中に含まれるヒト IL-3 を介して IL-3 受容体（IL-3R）に結合して細胞内に取り込まれた後に、DT に起因する細胞毒性によって薬理作用を発揮する。マウスを用いた検討で、IL-3R を標的とした薬剤（IL-3R 抗体等）によって IL-3R を介したシグナル伝達を阻害すると胎児の造血幹細胞数の減少が認められたとの報告 [1)]があることから、タグラキソフスプが正常細胞における IL-3R を介したシグナル伝達経路を阻害することによって、胎児造血幹細胞の発達（分化や増殖）に有害な影響を及ぼす可能性が懸念される。

2.6.6.7 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施せず、カニクイザルにおける反復投与毒性試験の投与部位の一般状態観察及び病理組織学的検査にて評価した。

5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（GLP、試験番号 2231-002、投与量：0、30、60 μg/kg/日、2.6.6.3.3 項参照）では、タグラキソフスプ投与に起因した投与部位の変化は認められなかった。

3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（GLP、試験番号 2231-007、投与量：0、35、45 μg/kg/日、2.6.6.3.4 項参照）では、投与部位の病理組織学的検査において、35 μg/kg/日群の雌 1 例で軽微な表皮過形成が、45 μg/kg/日群の雄 1 例で軽度の血管周囲結合組織の限局性壊死が認められ、タグラキソフスプ投与の局所刺激に起因した変化と考えられた。

以上より、タグラキソフスプは軽度の局所刺激性を有すると判断した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

該当試験なし。

2.6.6.8.4 依存性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.7 その他の試験

該当試験なし。

2.6.6.9 考察及び結論

タグラキソフスプの毒性試験として、カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験（5 日間投与、3 ヵ月間投与）を実施し、毒性、TK、免疫原性を評価した。なお、単回投与毒性及び局所刺激性は同試験の中で評価した。遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。

タグラキソフスプは、配列中に含まれるヒト IL-3 を介して CD123［IL-3Rα サブユニット（IL-3Rα）］と結合する。IL-3 及び CD123 のアミノ酸配列について、ヒトと実験動物の相同性を EMBOSS Stretcher により解析した結果、ヒトはカニクイザルとの相同性は高いが、げっ歯類を含む他の動物との相同性は低かった[2)]（表 2.6.6.9-1 及び表 2.6.6.9-2）。ヒト IL-3 はカニクイザル以外の動物の CD123（IL-3Rα）への結合親和性は低いと考えられることから、毒性試験の動物種としてカニクイザルを選択した。

表 2.6.6.9-1 IL-3 のアミノ酸配列に関するヒトと動物の相同性及び同一性

動物種	ヒトIL-3との相同性	ヒトIL-3との同一性
Monkey (Macaca fascicularis)	81%	77%
Mouse (Mus musculus)	42%	27%
Rat (Rattus norvegicus)	43%	27%
Rabbit (Oryctolagus cuniculus)	NA	NA
Dog (Canis lupus familiaris)	49%	35%

NA：Not applicable

表 2.6.6.9-2 CD123（IL-3Rα）のアミノ酸配列に関するヒトと動物の相同性及び同一性

動物種	ヒトCD123との相同性	ヒトCD123との同一性
Monkey (Macaca fascicularis)	92%	87%
Mouse (Mus musculus)	43%	30%
Rat (Rattus norvegicus)	45%	30%
Rabbit (Oryctolagus cuniculus)	63%	47%
Dog (Canis lupus familiaris)	57%	41%

（1） 一般毒性

5 日間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-001、投与量：40、60、80 μg/kg/日）において、タグラキソフスプ投与に起因した一般状態の悪化により、80 μg/kg/日群の雄 1 例が 5 日目に安楽死した。5 日間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-004、投与量：30、60 μg/kg/日）では死亡は認められず、MTD は 60 μg/kg/日と判断した。一方で、5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（試験番号 2231-002、投与量：0、30、60 μg/kg/日）では、腎障害による状態悪化により 60 μg/kg/日群の雌 1 例が 6 日目に安楽死した。これらの試験結果より、サルにおける MTD は 30 μg/kg/日と判断した。

一連のタグラキソフスプの反復投与毒性試験の一般状態観察で認められた主な影響は、食欲不振、振戦、円背位、皮膚の菲薄化、乾燥、活動性の低下、皮膚の乾燥等であった。また、体重減少も認められた。タグラキソフスプの主な標的臓器は脳、腎臓、肝臓及び胸腺であった。脳脈絡叢では変性／壊死／炎症等が認められ、腎臓では腎皮質尿細管の変性／壊死や、血中尿素窒素及びクレアチニンの上昇、尿蛋白の増加、尿量の減少等の腎機能障害を示唆する変化が認められたことから毒性変化と判断した。肝臓では、AST 及び ALT の上昇を伴う肝臓の傷害性変化として、軽微な小葉中心性肝細胞壊死及び軽度の空胞化が認められ、毒性変化と判断した。胸腺では広範囲のリンパ球減少が認められ、タグラキソフスプ投与に関連した変化及び／又は状態悪化によるストレス性変化と考えられた。また、造血抑制を示唆する変化として、赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球数）の減少が認められた。脳脈絡叢の変化は 3 週間の休薬後も継続して認められ回復性はなかったが、その他の変化については概ね回復性が認められた。

（2） 局所刺激性

3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-007、投与量：0、35、45 μg/kg/日）の投与部位の病理組織学的検査において、35 μg/kg/日群の雌 1 例で軽微な表皮過形成が、45 μg/kg/日群の雄 1 例で軽度の血管周囲結合組織の限局性壊死が認められ、タグラキソフスプの局所刺激に起因した変化と考えられた。

（3） 全身曝露

5 日間反復静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-002）では、1 日目及び 5 日目において用量依存的に曝露量が増加し、性差はなかった。

3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-007）では、投与量にかかわらず投与サイクルを経るごとにタグラキソフスプの曝露量は低下し、3 サイクルの投与 5 日目（58 日目）には全例で定量下限未満となった。投与サイクルに伴う血漿中タグラキソフスプ濃度の減少は ADA 産生による影響と考えられた。

国内第 I/II 相試験（NS401-P1-02 試験）において、BPDCN 患者にタグラキソフスプ 12 μg/kg/日を投与した際の曝露量は、カニクイザルの 3 ヵ月間（3 サイクル）反復投与毒性試験と同様にサイクルを経るごとに減少し（表 2.6.6.9-3 参照）、ADA 産生による影響と考えられた。ADA の影響が少ない 1 サイクルの曝露量（1 日目及び 5 日目）を比較したところ、いずれの用量においてもヒトに比べてカニクイザルで高かったことから、これらの毒性試験におけるタグラキソフスプの曝露は十分であり、ヒトの安全性を評価するためのタグラキソフスプの毒性プロファイルは得られていると考える［2.6.6.9（1）項参照］。

表 2.6.6.9-3 ヒト及びカニクイザルにおける血漿中タグラキソフスプの曝露量（C_{max}、AUC）

曝露量	測定時点		ヒト[a]	カニクイザル 5 日間[b]		カニクイザル 3 サイクル[c]	
			12 μg/kg/日	30 μg/kg/日	60 μg/kg/日	35 μg/kg/日	45 μg/kg/日
C_{max}（ng/mL）	サイクル 1	1 日目	155	602	1170	543	665
		5 日目	160	566	1110	309	439
	サイクル 3	1 日目	28.4	—	—	9.33	12.7
		5 日目	6.99	—	—	BLQ	BLQ
AUC（μg·min/mL）	サイクル 1	1 日目	12.4	22.8	44.8	19.6	26.3
		5 日目	17.5	26.7	65.3	16.9	23.7
	サイクル 3	1 日目	3.3	—	—	0.2	0.8
		5 日目	0.9	—	—	—	—

BLQ：定量下限未満、—：該当なし

a：国内第 I/II 相試験（NS401-P1-02 試験）において、BPDCN 患者にタグラキソフスプ 12 μg/kg/日を投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$（5.3.5.2-2 参照）

b：2231-002 試験において、カニクイザルにタグラキソフスプ 30 及び 60 μg/kg/日を投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$（雌雄平均）

c：2231-007 試験において、カニクイザルにタグラキソフスプ 35 及び 45 μg/kg/日を投与した際の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\infty}$（雌雄平均）

（4） 免疫原性

5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（試験番号 2231-002）では、回復期間中の 60 μg/kg/日群の 3/4 例で、14 及び 28 日目に ADA 陽性となった。

3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（試験番号 2231-007）では、35 μg/kg/日以上の群の 5/12 例において 14～53 日目に ADA 陽性を示し、68 日目には全てのタグラキソフスプ群で ADA 陰性となった。また、サイクルを経るごとにタグラキソフスプの曝露量は低下し、ADA 産生による影響と考えられた。

（5） 生殖発生毒性

タグラキソフスプは重篤かつ致死性の進行がんを治療対象としていることから、ICH S9 ガイドラインに従って、カニクイザルを用いた生殖発生毒性試験を実施しなかった。

胚・胎児発生に及ぼすタグラキソフスプの影響については、公表文献に基づき評価した。タグラキソフスプは DT とヒト IL-3 の遺伝子組換え融合タンパク質であり、配列中に含まれるヒト IL-3 を介して IL-3R に結合して細胞内に取り込まれた後に、DT に起因する細胞毒性によって薬理作用を発揮する。マウスを用いた検討で、IL-3R を標的とした薬剤（IL-3R 抗体等）によって IL-3R を介したシグナル伝達を阻害すると胎児の造血幹細胞数の減少が認められたとの報告 [1)]があることから、タグラキソフスプが正常細胞における IL-3R を介したシグナル伝達経路を阻害することによって、胎児造血幹細胞の発達（分化や増殖）に有害な影響を及ぼす可能性が懸念される。したがって、タグラキソフスプの薬理作用に起因する胚・胎児毒性は否定できないことから、市販後において適切な情報提供を介した注意喚起が必要と考える。

また、幼若動物を用いた毒性試験は実施していないが、ICH S11（「小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」について、令和 3 年 3 月 30 日付 薬生薬審発 0330 第 1 号）並びに Hashimoto らの報告 [3)]を参考に、小児での安全性を評価した。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験における標的臓器である脳（脈絡叢）、腎臓、肝臓及び胸腺について、毒性所見及びヒトにおける発達状況を表 2.6.6.9-4 に示す。

標的臓器の活発な成長や機能的成熟は 2 歳までに終了していることから、タグラキソフスプの適応年齢である 2 歳以上の小児に投与した場合、毒性発現によりこれらの器官発達に与える影響は小さいと考える。また、反復投与毒性試験では 2～4 歳齢の性成熟前の雌雄カニクイザルを用いているが、この時期は神経系の発達が活発な時期であることから、反復投与毒性試験の中で児童期の神経系への発達影響も含めて評価できていると考える。

表 2.6.6.9-4 タグラキソフスプの標的臓器におけるカニクイザルでの毒性所見及びヒトにおける発達状況

標的臓器	カニクイザルにおける毒性所見	ヒトにおける発達状況
脳	＜2231-002 試験＞ 60 μg/kg： （雌）脈絡叢の出血 30 μg/kg 以上： （雌雄）脈絡叢の変性／壊死／炎症（回復性なし） ＜2231-007 試験＞ 35 μg/kg 以上： （雌雄）脈絡叢の変性／壊死、単核細胞及び炎症性細胞浸潤、脈絡叢の脳室との癒着、脈絡叢間質の線維化、色素（ヘモジデリン）沈着	脈絡叢の構造的な発達は 1.5 歳までに終了する。 神経系組織の構造的及び機能的な活発な発達は性成熟が終了する青少年期まで持続する。
腎臓	＜2231-002 試験＞ 60 μg/kg： （雌雄）血中尿素窒素及びクレアチニン増加 （雄）腎皮質尿細管の変性／壊死、硝子滴増加、尿中タンパク増加 30 μg/kg 以上（雌）： （雌）腎皮質尿細管の変性／壊死、尿中タンパク増加	腎機能の活発な発達は乳幼児期（23 ヵ月未満）までに終了する。それ以降も尿細管及び腎機能の発達が持続するが緩やかである。
肝臓	＜2231-002 試験＞ 60 μg/kg： （雄）肝細胞壊死（小葉中心性）、肝細胞空胞化（小葉中心性又はびまん性） （雌）AST 及び ALT 増加 30 μg/kg 以上： （雄）AST 及び ALT 増加	構造的な発達は新生児期（出生から 27 日）までに、代謝、排泄能の増大は乳幼児期（23 ヵ月）までに終了する。23 ヵ月以降も代謝、排泄機能は持続的に発達するが緩やかである。
胸腺	＜2231-002 試験＞ 30 μg/kg 以上： （雌雄）リンパ球減少 ＜2231-007 試験＞ 45 μg/kg： （雄）リンパ球減少 35 μg/kg 以上： （雌）リンパ球減少	免疫組織の構造的な発達は新生児期（出生から 27 日）に終了する。その後も免疫組織や免疫記憶は持続的に発達するが緩やかである。

2231-002 試験：5 日間静脈内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験
2231-007 試験：3 ヵ月間静脈内投与毒性試験

（6） 総括

カニクイザルを用いた一連の毒性試験を総合すると、タグラキソフスプの標的臓器は脳、腎臓、肝臓及び胸腺であり、病理組織学的検査等においてタグラキソフスプ投与に関連する変化が観察された。脳脈絡叢の変化（変性／壊死／炎症等）は 3 週間の休薬による回復性はなかったが、それ以外の病理組織学的変化は回復性が認められた。また、造血抑制を示唆する変化として赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球数）の減少が認められた。3 ヵ月間静脈内投与毒性試験ではサイクルを経るごとにタグラキソフスプの血漿中濃度の低下が認められたが、ADA 産生の影響と考えられた。

タグラキソフスプの用法・用量（案）は、タグラキソフスプ 12 μg/kg/日を 1 日 1 回 5 日間、15 分かけて静脈内投与し 16 日間休薬する 21 日間を 1 サイクルとして、サイクルを繰り返す。一連

の毒性試験において観察された毒性変化が回復期間終了後に概ね回復することを考慮すると、臨床使用にあたりヒトで重篤な副作用を発現する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1. Robin C, Durand C. The roles of BMP and IL-3 signaling pathways in the control of hematopoietic stem cells in the mouse embryo. Int J Dev Biol. 2010; 54 :1189-200. ＜資料番号 4.3-6＞

2. EMBOSS Stretcher による相同性解析（IL-3、IL-3Rα）. Available from: https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/psa/emboss_stretcher.（解析日：2024 年 10 月 22 日）. ＜資料番号 4.3-59＞

3. Hashimoto H, Takemoto O, Nishimoto K, Moriguchi G, Nakamura M, Chiba Y. Normal growth curve of choroid plexus in children: implications for assessing hydrocephalus due to choroid plexus hyperplasia. J Neurosurg Pediatr. 2023; 32: 627-37. ＜資料番号 4.3-60＞

2.6.7 毒性試験概要表

目次

2.6.7 毒性試験概要表 1
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
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 3
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 4
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 9
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 10
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 12
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 26
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 26
2.6.7.10 がん原性試験 26
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 26
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 26
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 26
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胎の機能に関する試験 26
2.6.7.15 新生児を用いた試験 26
2.6.7.16 局所刺激試験 27
2.6.7.17 その他の毒性試験 27
2.6.7.18 参考文献 27

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

一覧表

被験物質：tagraxofusp

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（μg/kg/日）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
単回投与毒性試験：反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）の一部として評価								
反復投与毒性試験	サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回	5 日間	40, 60, 80	不適	[redacted] [a]（米国）	2231-001	4.2.3.2-1（参考資料）
	サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回	5 日間	30, 60	不適	[redacted] [a]（米国）	2231-004	4.2.3.2-2（参考資料）
	サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回	5 日間（＋3 週間休薬）	0, 30, 60	適	[redacted] [a]（米国）	2231-002	4.2.3.2-3（評価資料）
	サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回	3 ヵ月 [b]	0, 35, 45	適	[redacted] [a]（米国）	2231-007	4.2.3.2-4（評価資料）
遺伝毒性試験：該当試験なし [c]								
がん原性試験：該当試験なし [c]								
生殖発生毒性試験：該当試験なし [c]								
局所刺激性試験：反復投与毒性試験（4.2.3.2-3、4.2.3.2-4）の一部として評価								
その他の毒性試験（免疫毒性試験）：該当試験なし								

a：現 [redacted]

b：「5 日間投与＋21～22 日間休薬」を 1 サイクルとし、3 サイクル投与

c：造血器悪性腫瘍の治療を目的としたバイオ医薬品であるため、ICH S9 及び ICHS6(R1)ガイドラインに基づき実施していない

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

トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：tagraxofusp

試験の種類	試験系	投与方法	投与量（μg/kg/日）	GLP 適用	試験番号	CTD 記載箇所
サル 5 日間反復投与毒性試験	サル Cynomolgus	静脈内	40, 60, 80	不適	2231-001	4.2.3.2-1 （参考資料）
サル 5 日間反復投与毒性試験	サル Cynomolgus	静脈内	0, 30, 60	適	2231-002	4.2.3.2-3 （評価資料）
サル 3 ヵ月反復投与毒性試験 [a]	サル Cynomolgus	静脈内	0, 35, 45	適	2231-007	4.2.3.2-4 （評価資料）

a：「5 日間投与＋21～22 日間休薬」を 1 サイクルとし、3 サイクル投与

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

C_{max}（平均値）及び $AUC_{0-\infty}$（平均値）

被験物質：tagraxofusp

		C_{max} (ng/mL)							$AUC_{0-\infty}$ (μg·min/mL) [a]							
		ヒト	カニクイザル						ヒト	カニクイザル						
試験番号		NS401-P1-02	2231-001		2231-002		2231-007		NS401-P1-02	2231-001		2231-002		2231-007		
投与期間		複数サイクル [b]	5 日間		5 日間		3 ヵ月 [c]		複数サイクル [b]	5 日間		5 日間		3 ヵ月 [c]		
投与量（μg/kg/日）	測定日		雄	雌	雄	雌	雄	雌		雄	雌	雄	雌	雄	雌	
12	1 サイクル 1 日目	155	-		-	-	-		12.4	-		-	-	-		
	1 サイクル 5 日目	160	-		-	-	-		17.5	-		-	-	-		
	3 サイクル 1 日目	28.4	-		-	-	-		3.3	-		-	-	-		
	3 サイクル 5 日目	6.99	-		-	-	-		0.9	-		-	-	-		
30	1	-	-		655	550	-		-	-		26.2	19.3	-		
	5	-	-		563	568	-		-	-		28.7	24.7	-		
35	1	-	-		-		551	535	-	-		-		24.2	15.1	
	5	-	-		-		339	278	-	-		-		19.7	14.1	
	27	-	-		-		282	221	-	-		-		11.3	7.6	
	31	-	-		-		16.4	ND	-	-		-		1.7	ND	
	54	-	-		-		10.7	6.58	-	-		-		0.2	0.2	
40	1	-	666	626	-		-		-	26.9	20.7	-		-		
	5	-	621	517	-		-		-	21.2	23.0	-		-		
45	1	-	-		-		655	676	-	-		-		29.3	23.3	
	5	-	-		-		437	441	-	-		-		24.7	22.7	
	27	-	-		-		573	84.7	-	-		-		26.5	4.8	
	31	-	-		-		85.9	ND	-	-		-		17.0	ND	
	54	-	-		-		19.6	5.78	-	-		-		1.0	0.4	
60	1	-	1314	1049	1160	1180	-			52.0	43.5	45.7	43.9	-		
	5	-	1080	787	1150	1060	-			53.2	40.4	70.0	60.5	-		
80	1	-	1222	1217	-		-		-	54.6	42.7	-		-		
	5	-	1270	1482	-		-		-	53.8	64.6	-		-		

ND：データなし、-：実施なし

a：ヒトは AUC_{0-inf}

b：「5 日間投与＋16 日間休薬」の 21 日間を 1 サイクルとし、サイクルを繰り返した
c：「5 日間投与＋21～22 日間休薬」を 1 サイクルとし、3 サイクル投与

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

使用ロット

被験物質：tagraxofusp

バッチ番号	規格			試験番号（CTD 記載箇所）
申請規格 [a]	定量（タンパク質含量）		[redacted] ～ [redacted] mg/mL	
	純度	[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]%以上 不純物A*：[redacted]%以下 不純物B*：[redacted]%以下 その他の個々の不純物：[redacted]%を超えない	
		キャピラリー電気泳動（CE-SDS）（還元）	主ピーク：[redacted]%以上 不純物F*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 不純物G*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 不純物H*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 その他の個々の不純物：[redacted]%以下	
		キャピラリー電気泳動（CE-SDS）（非還元）	主ピーク：[redacted]%以上 不純物F*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 不純物G*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 不純物H*（RRT 約[redacted]）：[redacted]%以下 その他の個々の不純物：[redacted]%以下	
		サイズ排除液体クロマトグラフィー（SEC-HPLC）	単量体ピーク：[redacted]%以上 不純物D*　：[redacted]%以下 不純物E*　：[redacted]%以下 [redacted]：[redacted]%以下	
		[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]%以上 不純物J*：[redacted]%以下 不純物K*：[redacted]%以下	
		宿主細胞由来タンパク質	[redacted] ng/mg 以下	
		宿主細胞由来 DNA	[redacted] pg/mg 以下	
		不純物L*	[redacted] mol%以下	
		不純物M*	[redacted]%以下	
	エンドドキシン		[redacted]EU/mL 以下	

＊新薬承認情報提供時に置き換え

使用ロット（続き）

バッチ番号	規格			試験番号（CTD 記載箇所）
184-[redacted]1002-[redacted]001-13[b,c]	定量（タンパク質含量）		[redacted] mg/mL	5 日間静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-3）
	純度	逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）	主ピーク：[redacted]%	
		[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]%	
		SDS-PAGE（Coomassie 還元）	主ピーク：[redacted]%	
		SDS-PAGE（Coomassie 非還元）	主ピーク：[redacted]%	
		サイズ排除液体クロマトグラフィー（SEC-HPLC）	単量体ピーク：[redacted]% 不純物D+E*：[redacted]% [redacted]：[redacted]%	
		[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]% 不純物J*：[redacted]% 不純物K*：[redacted]%	
		宿主細胞由来タンパク質	[redacted] ng/mg	
		宿主細胞由来 DNA	[redacted] pg/mg 以下	
		不純物L*	[redacted] mol%	
	エンドトキシン		[redacted] EU/mg	
184-[redacted]1002[redacted]-[redacted]002-13[b,c]	定量（タンパク質含量）		[redacted] mg/mL	3 ヵ月間静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-4）
	純度	逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）	主ピーク：[redacted]%	
		[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]%	
		SDS-PAGE（Coomassie 還元）	主ピーク：[redacted]%	
		SDS-PAGE（Coomassie 非還元）	主ピーク：[redacted]%	
		サイズ排除液体クロマトグラフィー（SEC-HPLC）	単量体ピーク：[redacted]% 不純物D+E*：[redacted]% [redacted]：[redacted]%	
		[redacted]（[redacted]）	主ピーク：[redacted]% 不純物J*：[redacted]% 不純物K*：[redacted]%	
		宿主細胞由来タンパク質	[redacted] ng/mg	
		宿主細胞由来 DNA	[redacted] pg/mg 以下	
		不純物L*	[redacted] mol%	
	エンドトキシン		[redacted] EU/mg	

RRT：相対保持時間、SDS-PAGE：SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

＊新薬承認情報提供時に置き換え

a：3.2.S.4.1 項参照
b：3.2.S.4.4 項参照
c：申請規格では、[redacted] を [redacted] に、SDS-PAGE を CE-SDS に変更（3.2.S.4.5 項参照）

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：tagraxofusp

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（μg/kg/日）	性別及び一群の動物数	最大非致死量（μg/kg/日）	概略の致死量（μg/kg/日）	特記所見	試験番号 CTD 記載箇所）
サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回（5%ブドウ糖溶液）	5 日間（＋3 週間休薬）	0, 30, 60	雌雄 各 3 例	60 [a]	＞60[a]	60 μg/kg/日の雌 1 例がタグラキソフスプ投与に起因した重度の腎障害により状態悪化を示し、6 日目に安楽死した。初回投与後にはタグラキソフスプ投与起因の変化は認められず、単回静脈内投与による概略の致死量は 60 μg/kg/日超と判断した。	2231-002（4.2.3.2-3 、評価資料）

a：単回静脈内投与した場合

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の試験

Test Article：tagraxofusp

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Control)	Duration of Dosing	Dose Level (μg/kg/day)	Number/ Sex/Group	Maximum Tolerated Dose (MTD) (μg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number /GLP Compliance (CTD lacation)
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous injection (PBS, pH 7.4)	5 days (once daily)	40, 60, 80	1	60	**Clinical observations** ≥40: Decreased activity, hunched posture, and hair sparse. 60: Inappetence. 80: Trouble gripping, decreased motor skills, limbs cold to touch, and no pain response in feet. 1M died. **Body weight** ≥40 (Excluding 60F): Decreased body weight. **Clinical pathology** ≥40: Increases in AST, ALT, globulin. Decreases in albumin, albumin/globulin ratios, and calcium. 40/60M and 40/80F: Increase in urea nitrogen and creatinine. 60F: Increase in neutrophil. 80F: Decreased platelets and reticulocytes; increase in neutrophils. **Anti-drug antibodies** Three out of six animals were classified as being negative and the other three animals were confirmed as positive for the presence of reactive antibodies. The positive responders displayed minimal titers, i.e. only positive at the assay's minimal required dilution.	2231-001 /Non-GLP (4.2.3.2-1)

（Continued）

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Control)	Duration of Dosing	Dose Level (μg/kg/day)	Number/ Sex/Group	Maximum Tolerated Dose (MTD) (μg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number /GLP Compliance (CTD lacation)
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous injection (5% Dextrose in water USP)	5 days (once daily)	30, 60	1	60	**Detailed clinical observations** ≥30: Injection site redness. 30F: injection site swelling. 60M: injection site swelling. **Body weights** ≥30: Decrease in body weight. **Hematology** 30F: Increased neutrophils 30M: Decreased reticulocytes,and red cell mass. Increased platelets. 60: Increased neutrophils. Decreased reticulocytes. **Clinical chemistry** ≥30: Increased AST, ALT and globulin. Decreased albumin and albumin/globulin ratios. 60: Increased creatinine.	2231-004 /Non-GLP (4.2.3.2-2)

ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; F: Female; M: Male.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験（サル 5 日間静脈内投与毒性試験並びに 3 週間回復性試験）

報告書の題名：SL-401: A 5-day intravenous toxicity study in cynomolgus monkeys with a 3-week recovery period.

Test Article：tagraxofusp

Species/Strain: Monkey/ Cynomolgus
Initial Age: Approximately 2 years 7 months to 3 years 8 months of age at transfer
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle: 5% Dextrose for Injection, USP
Special Features: Anti-drug antibody
Highest Non-Severely Toxic Dose: 30 µg/kg/day

Duration of Dosing: 5 days
Duration of Postdose: 3 weeks

Method of Administration: Intravenous injection

Study Number: 2231-002
Location in CTD: 4.2.3.2-3

GLP Compliance: Yes

Gender	**Males and Females**					
Dose Level (µg/kg/day)	**0**		**30**		**60**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics [a]:						
C_{max} (ng/mL)						
Day 1	-	-	655±48.3	550±26.8	1160±114	1180±129
Day 5	-	-	563±90.7	568±35.7	1150±177	1060±144
$AUC_{0-\infty}$ (µg·min/mL)						
Day 1	-	-	26200±2460	19300±1960	45700±6890	43900±6950
Day 5	-	-	28700±6190	24700±2490	70000±27700	60500±18800
Anti-Drug Antibody	Because of the wide prevalence of anti-diphtheria antibodies, the monkeys in this GLP toxicology study were pre-screened by a qualified ADA assay for the presence of preexisting tagraxofusp reactive antibodies. Initial ADA screening occurred prior to randomization and assignment to specific treatment groups. Of the thirty animals that were pre-screened for ADA, the results for all the animals were negative (ADA result "Not Detected"). Some of the animals then had additional ADA testing during the execution of the study following exposure to tagraxofusp. Specifically, ADA samples were collected on Study Day 14 and on Study Day 28. Because of the specific design procedure to necropsy the animals on Study Day 6 (except the animals assigned to "Recovery") only animals included in the recovery group (4 animals in Group 1 and 3 animals in Group 3) had ADA samples obtained on Study Day 14 and Study Day 28. Animals in Group 1 received vehicle (or a dose of 0 µg/kg/day) and all the ADA results for these animals continued to be negative (ADA result "Not Detected"). There were 4 animals in Group 3 (or a dose of 60 µg/kg/day) assigned to recovery but only 3 of the animals survived to Study Day 14 and 28. All the ADA results for these 3 animals were positive (antibody titer >100) on both Day 14 and Day 28. These results confirm, as expected, that animals exposed to tagraxofusp can develop ADA within 14 to 28 days of being exposed to the drug.					

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Animals	**5**	**3**	**5**	**5**	**3**	**5**
Noteworthy Findings:						
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	There were tagraxofusp-related clinical signs of inappetence in two females at 60 µg/kg/day on Day 2 and in all animals at 30 and 60 µg/kg/day on Days 4 and 5.					
Body Weight [b] (kg) (%)						
Day -1	3.09	+2	-4	2.97	+11	-7
Day 1	3.07	+3	-4	2.92	+9	-8
Day 2	3.11	+1	-6	2.96	+8	-8
Day 3	3.09	+3	-8	2.91	+6	-9
Day 4	3.16	-2	-12	2.98	+4	-13
Day 5	3.12	-2	-11	2.91	+7	-10
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-
Hematology [c]						
Absolute Reticulocytes (10^3/µL)						
Pretest	58.86	54.63	52.82	65.82	65.03	65.96
Day 3	57.36	13.47**	23.32*	51.76	42.77	28.20
Terminal	178.44	42.40**	38.94**	172.88	58.40**	34.68**
Neutrophils [d] (10^3/µL)						
Pretest	4.736	5.743	4.498	8.460	6.653	6.572
Day 3	4.460	10.303**	11.850**	7.858	9.757	11.536
Terminal	6.384	7.240	10.634	7.048	7.537	9.670
Lymphocytes (10^3/µL)						
Pretest	5.956	4.530	8.038	4.456	4.317	6.834
Day 3	8.426	3.420*	5.210	7.164	2.570**	4.204*
Terminal	4.320	3.653	7.384	4.602	3.200	6.645
Monocytes (10^3/µL)						
Pretest	0.382	0.400	0.350	0.280	0.227	0.248
Day 3	0.474	0.220	0.220	0.448	0.133**	0.120**
Terminal	0.298	0.243	0.250	0.250	0.160	0.288
Eosinophils (10^3/µL)						
Pretest	0.120	0.047	0.136	0.182	0.117	0.120
Day 3	0.082	0.067	0.022**	0.328	0.073**	0.064**
Terminal	0.078	0.013	0.012*	0.244	0.013	0.038

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (μg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Animals	**5**	**3**	**5**	**5**	**3**	**5**
Basophils (10^3/μL)						
Pretest	0.056	0.053	0.094	0.050	0.040	0.096
Day 3	0.070	0.037	0.058	0.062	0.023**	0.036*
Terminal	0.016	0.030	0.126*	0.020	0.023	0.065
Other Cells (10^3/μL)						
Pretest	0.080	0.087	0.124	0.050	0.073	0.088
Day 3	0.194	0.100	0.148	0.122	0.053*	0.094
Terminal	0.070	0.243*	0.294**	0.054	0.147	0.463*
Coagulation [c]						
APTT (sec)						
Pretest	20.08	20.13	20.78	21.00	20.73	20.16
Day 3	19.32	24.03*	27.90**	19.90	24.53*	25.96**
Terminal	19.68	25.43	33.80*	19.78	25.07**	26.05**
Prothrombin Time (sec)						
Pretest	11.16	11.70	11.52	11.62	11.47	11.68
Day 3	11.32	12.53*	13.26**	11.62	12.40	13.48**
Terminal	10.82	12.27**	12.90**	11.18	12.30*	12.63**
Fibrinogen (mg/dL)						
Pretest	233.4	260.0	210.8	206.8	206.3	229.8
Day 3	336.0	641.0**	668.6**	316.4	492.7	720.0**
Terminal	335.8	611.7**	446.8*	305.8	475.0*	560.5**
Clinical Chemistry [c]						
Phosphorus (mg/dL)						
Pretest	6.36	6.13	5.74	5.50	5.57	5.68
Day 3	5.60	4.80	5.58	5.74	4.80	4.32
Terminal	6.32	4.17*	3.70**	4.92	3.83	3.23*
AST (U/L)						
Pretest	41.4	36.7	39.8	43.0	30.0	32.8
Day 3	120.4	230.3	490.8*	110.0	114.3	522.8
Terminal	86.4	265.3	759.2	114.2	112.7	503.0*

（Continued）

Gender	**Males**			**Females**		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Animals	**5**	**3**	**5**	**5**	**3**	**5**
ALT (U/L)						
Pretest	38.2	36.0	38.2	42.8	24.0*	35.2
Day 3	100.6	157.0	161.2	93.4	64.7	152.0
Terminal	119.0	185.0	297.4*	112.4	93.3	266.8*
Urea Nitrogen (mg/dL)						
Pretest	21.8	21.0	20.0	19.2	17.0	20.0
Day 3	19.8	20.7	26.2*	18.0	17.0	24.6*
Terminal	21.6	22.3	42.6*	19.8	18.3	30.5**
Creatinine (mg/dL)						
Pretest	0.70	0.80	0.62	0.66	0.63	0.68
Day 3	0.66	0.90	0.90	0.64	0.80	0.86*
Terminal	0.62	0.83	1.42*	0.60	0.80	1.00**
Albumin (g/dL)						
Pretest	4.22	4.57	4.44	4.42	4.40	4.34
Day 3	4.00	3.83	3.58**	4.08	4.00	3.44**
Terminal	3.84	3.17**	2.84**	3.96	3.50	2.78**
Globulin (g/dL)						
Pretest	2.96	3.23	3.06	2.96	3.27	3.30
Day 3	2.62	3.10	3.30*	2.66	2.93	3.28*
Terminal	2.44	3.13**	3.16**	2.50	2.97	3.05*
Triglyceride (mg/dL)						
Pretest	57.6	33.7	46.6	55.6	44.7	50.8
Day 3	49.4	35.0	280.8**	48.2	51.3	75.4
Terminal	47.4	27.7	81.6	47.2	29.0	51.5
Urinalysis [c]						
Volume (mL)						
Pretest	69.00	81.67	68.00	68.00	83.33	61.00
Terminal	44.00	48.33	44.00	32.00	11.67	10.00*
Specific Gravity						
Pretest	1.0214	1.0130	1.0252	1.0246	1.0217	1.0222
Terminal	1.0208	1.0200	1.0302	1.0252	1.0437	1.0490
Proteinuria	The magnitude of proteinuria (protein in urine; ≥300 mg/dL) was increased among individual animals administered 30 µg/kg/day (2 of 3 females) and 60 µg/kg/day (3 of 5 males; 4 of 4 females), relative to controls and pretest values.					

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Animals	**5**	**3**	**5**	**5**	**3**	**5**
Organ Weights [b] (%)						
Number Examined	3	3	3	3	3	3
Kidneys (g)	12.858	+9	+20	13.451	+12	-6
Kidneys/BWt (%)	0.4417	+11	+29	0.5005	+4	+10
Kidneys/BrWt (ratio)	0.1779	+17	+30*	0.2139	+14	-2
Liver (g)	53.487	+11	+34*	55.86	+20	0
Liver/BWt (%)	1.8356	+14	+44**	2.0912	+10	+16
Liver/BrWt (ratio)	0.7406	+20	+44**	0.8913	+24	+4
Gross Pathology [e]						
Number Examined	3	3	3	3	3	4[f]
kidneys						
discoloration, tan						
mild	0	0	1	0	0	0
Histopathology [e]						
Number Examined	3	3	3	3	3	4[f]
brain						
infiltration, mixed leukocyte						
minimal	0	1	0	0	2	3
mild	0	1	2	0	0	1
brain, choroid plexus						
hemorrhage						
minimal	0	0	0	0	0	1
inflammation/necrosis/degeneration						
minimal	0	1	1	0	1	0
mild	0	2	1	0	1	2
moderate	0	0	1	0	0	2
kidneys						
degeneration/necrosis, tubular						
minimal	0	0	0	0	1	2
mild	0	0	1	0	1	1
moderate	0	0	2	0	0	0
severe	0	0	0	0	0	1

（Continued）

Gender	**Males**			**Females**		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Animals	**5**	**3**	**5**	**5**	**3**	**5**
hyaline, droplets, increased						
mild	0	0	1	0	0	0
liver						
necrosis, hepatocytes, centrilobular						
minimal	0	0	1	0	0	0
vacuolation, centrilobular						
mild	0	0	1	0	0	0
vacuolation, diffuse						
mild	0	0	2	0	0	0
vacuolation, periportal						
minimal	0	0	0	0	0	1
thymus						
depletion, lymphoid, generalized						
minimal	0	0	1	0	1	1
mild	0	0	1	0	1	2
moderate	0	0	1	0	0	1
RECOVERY ANIMALS						
Gender	**Males**			**Females**		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Recovery Animals	**2**	**0**	**2**	**2**	**0**	**2**
Noteworthy Findings:						
Died or Sacrificed Moribund [g]	0	NA	0	0	NA	1
Clinical Observations [h]	Inappetence persisted during the recovery period in animals at 60 µg/kg/day.					
Body Weight [b,@] **(kg) (%)**						
Day 6	3.23	NA	-22	3.10	NA	-10
Day 7	3.29	NA	-23	3.15	NA	-15
Day 8	3.33	NA	-25	3.18	NA	-18
Day 9	3.33	NA	-26	3.20	NA	-22
Day 10	3.30	NA	-24	3.18	NA	-21
Day 11	3.35	NA	-27	3.18	NA	-21

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Recovery Animals	**2**	**0**	**2**	**2**	**0**	**2**
Day 12	3.35	NA	-26	3.20	NA	-22
Day 13	3.30	NA	-27	3.15	NA	-22
Day 14	3.33	NA	-27	3.13	NA	-20
Day 15	3.35	NA	-28	3.15	NA	-21
Day 16	3.33	NA	-26	3.15	NA	-21
Day 17	3.38	NA	-29	3.15	NA	-19
Day 18	3.40	NA	-29	3.20	NA	-20
Day 19	3.33	NA	-28	3.13	NA	-22
Day 20	3.35	NA	-28	3.18	NA	-21
Day 21	3.38	NA	-30	3.18	NA	-21
Day 22	3.33	NA	-29	3.10	NA	-21
Day 23	3.33	NA	-29	3.15	NA	-21
Day 24	3.33	NA	-30	3.18	NA	-21
Day 25	3.35	NA	-29	3.15	NA	-21
Day 26	3.33	NA	-29	3.13	NA	-18
Day 27	3.33	NA	-29	3.15	NA	-21
Ophthalmology	-	NA	-	-	NA	-
Electrocardiography	-	NA	-	-	NA	-
Hematology	-	NA	-	-	NA	-
Clinical Chemistry [c,h,@]						
Phosphorus (mg/dL)	6.00	NA	4.50	5.95	NA	4.50
Urea Nitrogen (mg/dL)	22.0	NA	24.0	18.5	NA	28.0
Urinalysis	-	NA	-	-	NA	-
Organ Weights	-	NA	-	-	NA	-
Gross Pathology [e]						
Number Examined	2	NA	2	2	NA	1[f]
thymus						
small						
mild	0	NA	1	0	NA	0

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg/day)	**0**	**30**	**60**	**0**	**30**	**60**
Number of Recovery Animals	**2**	**0**	**2**	**2**	**0**	**2**
Histopathology [e]						
Number Examined	2	NA	2	2	NA	1[f]
brain, choroid plexus						
inflammation/necrosis/degeneration						
moderate	0	NA	2	0	NA	0
severe	0	NA	0	0	NA	1
thymus						
depletion, lymphoid, generalized						
mild	0	NA	1	0	NA	1
severe	0	NA	1	0	NA	0

ALT: Alanine aminotransferase; APTT: Activated partial thromboplastin time; AST: Aspartate aminotransferase; BWt: Body weight; BrWt:Brain weight; F:Female; M:Male; NA:Not applicable;
-: No noteworthy findings.
*: Significantly different from control ($p<0.05$); **: Significantly different from control ($p<0.01$); @: No statistics performed due to lack of variability or sample size.

a: Means ± SD are shown.
b: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
c: Group means are shown.
d: Increases in neutrophils were consistent with an inflammatory response, as further supported by the presence of Döhle bodies noted microscopically on blood smears among individual animals administered 60 µg/kg/day.
e: Reported as number observed.
f: One female at 60 µg/kg/day (animal number 225), designated for the recovery phase, was euthanized in extremis on Day 6 and was included with the postmortem examinations of the terminal group, also on Day 6.
g: Tagraxofusp-related moribundity was observed in one female at 60 µg/kg/day. The monkey was euthanized in extremis on Day 6, due to signs of moribundity caused by severe renal dysfunction, severe tubular degeneration, and necrosis (the cause of morbundity was the severe necrosis of renal cortical tubules).
h: One female at 60 µg/kg/day (animal number 225), designated for the recovery phase, was euthanized in extremis on Day 6 due to clinical signs and these findings are not summarized.

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験（サル 3 ヵ月静脈内投与毒性試験）

報告書の題名：SL-401: A 3-month intravenous toxicity study in monkeys.

Test Article：tagraxofusp

Species/Strain: Monkey/ Cynomolgus
Initial Age: Approximately 2 years and 5 months to 4 years and 1 month of age at transfer
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle: 0.9% Sodium Chloride for Injection, USP
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), Bone Marrow Smear Examination

Duration of Dosing: 3 months[a]
Duration of Postdose: NA
Method of Administration: Intravenous injection

Study Number: 2231-007
Location in CTD: 4.2.3.2-4
GLP Compliance: Yes

Conclusion: Administration of tagraxofusp to Cynomolgus monkeys as a slow intravenous bolus over a 5 minute period for three five day-dose cycles, with 21 or 22-day dose-free intervals between cycles, induced microscopic changes in the choroid plexus of the brain in males and females at ≥ 35 µg/kg, and in the thymus of females at ≥ 35 µg/kg and in males at 45 µg/kg. The findings in the choroid plexus were considered adverse in males at ≥ 35 µg/kg and in females at 45 µg/kg based on the nature (including necrosis, inflammation, and fibrosis) and severity of the changes.

Gender	**Males and Females**					
Dose Level (µg/kg)	**0**		**35**		**45**	
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics [b]:						
C_{max} (ng/mL)						
Day 1	-	-	551	535	655	676
Day 5	-	-	339	278	437	441
Day 27	-	-	282	221	573	84.7 (n=1)
Day 31	-	-	16.4 (n=2)	NA	85.9	NA
Day 54	-	-	10.7 (n=2)	6.58 (n=1)	19.6 (n=2)	5.78 (n=2)
Day 58	-	-	NA	NA	NA	NA
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)						
Day 1	-	-	403	251	488	388
Day 5	-	-	328	235	412	378
Day 27	-	-	189	127	442	80.8 (n=1)
Day 31	-	-	28.9 (n=2)	NA	283 (n=1)	NA
Day 54	-	-	2.84 (n=1)	3.97 (n=1)	16.3 (n=2)	6.57 (n=1)
Day 58	-	-	NA	NA	NA	NA

（Continued）

Anti-drug Antibody	Anti-drug antibodies (ADAs) were detected in 5 of 12 animals that received the test article at any point in the study. No ADAs were observed in the placebo treated animals, which accounted for 24 of the 68 available samples. ADAs were detected in 7 of the remaining 44 ADA samples collected from active drug treated animals. Titers ranged from 1:2048 to 1:256. Four of the 7 positive ADA samples were observed at the 35 µg/kg dose level, while the remaining 3 positive samples were observed at the 45 µg/kg dose level. Titers were typically similar between the 35 µg/kg and 45 µg/kg dose levels. Six of the 7 samples with positive ADAs occurred in males. Only two animals (35 µg/kg and 45 µg/kg dose level) on the study had detectable ADAs at more than one time point (Day 14 and Day 26) and both animals were both male. When detected, ADAs were typically observed on Day 14(35 µg/kg dose level male) or 26 (35 µg/kg dose level female). ADAs in one animal were detected on Day 53 (45 µg/kg dose level male). The presence of ADAs was not detectable in any samples on Day 68. The observed decrease in tagraxofusp plasma concentrations when comparing peak concentrations for Cycle 1 with Cycles 2 or 3 is likely attributable to the effects of ADAs on the pharmacokinetics and/or interference with the bioanalytical assay. These observations are consistent with observations in human studies. While ADAs were not detected in samples from animals with previously detectable ADAs and were also not detected in some animals in which a reduction in exposure was observed, these results are most likely due to a lack of assay sensitivity.

Gender	**Males**			**Females**		
Dose Level (µg/kg)	**0**	**35**	**45**	**0**	**35**	**45**
Number of Animals	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Noteworthy Findings:						
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	1[c]
Clinical Observations [d]						
Activity decreased	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	4/3
Inappetence	0/0	3/3	6/3	0/0	0/0	17/3
Tremors	0/0	0/0	2/2	0/0	1/1	4/2
Posture hunched	0/0	20/2	26/3	0/0	7/2	31/3
Thin	0/0	68/1	44/1	0/0	142/2	0/0
Skin dry	32/1	61/3	178/3	8/1	248/3	99/3
Body Weight [e] **(kg) (%)**						
Day -1	3.200	+6	+2	2.733	+2	+10
Day 7	3.217	-4	-8	2.733	-4	+3
Day 12	3.217	-6	-12	2.683	-5	+11[@]
Day 19	3.267	-8	-13	2.767	-5	+7[@]
Day 26	3.250	-4	-12	2.767	-5	+6[@]
Day 33	3.383	-3	-13	2.767	-1	+5[@]
Day 40	3.400	-2	-11	2.833	-4	+4[@]

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (μg/kg)	**0**	**35**	**45**	**0**	**35**	**45**
Number of Animals	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Day 47	3.467	-2	-11	2.867	-4	+6@
Day 54	3.367	-1	-9	2.850	-4	+8@
Day 61	3.583	-6	-14	2.900	-3	+6@
Day 67	3.533	-5	-13	2.900	-3	+7@
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-
Hematology [f]						
Erythrocytes (10^6 cells/μL)						
Day -13	5.660	5.467	5.743	6.073	5.513	5.807
Day -9	5.560	5.347	5.613	5.690	5.350	5.693
Day 7	4.907	4.630	4.940	5.083	4.410	4.640
Day 34	4.940	4.323*	4.663	5.120	4.507*	5.040@
Day 68	5.403	5.287	5.423	5.473	5.253	5.285@
Hemoglobin (g/dL)						
Day -13	13.87	14.13	13.73	14.73	14.03	13.90
Day -9	13.53	13.73	13.57	14.00	13.50	13.67
Day 7	11.87	11.53	11.40	12.27	10.77	10.80
Day 34	12.00	10.70*	10.57*	12.30	11.10*	11.60@
Day 68	13.10	12.97	12.37	13.00	12.97	12.20@
Hematocrit (%)						
Day -13	45.27	47.03	45.70	48.03	45.10**	45.77**
Day -9	45.07	45.93	44.53	45.03	43.00	44.93
Day 7	38.87	38.87	37.97	39.97	35.57	35.83
Day 34	40.30	36.83	35.97	41.23	37.03**	39.50@
Day 68	44.73	45.77	42.97	44.20	43.93	42.35@
Platelets (10^3 cells/μL)						
Day -13	459.0	389.0	365.0	496.7	546.3	411.0
Day -9	447.7	391.0	365.3	524.7	533.0	438.7
Day 7	444.7	474.0	331.7	520.7	536.0	346.0
Day 34	502.7	521.7	375.7	564.0	619.7	469.0@
Day 68	453.3	474.0	467.7	548.7	565.7	518.0@

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (μg/kg)	**0**	**35**	**45**	**0**	**35**	**45**
Number of Animals	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Absolute Reticulocyte (10^3 cells/μL)						
Day -13	50.70	59.03	52.03	61.30	71.67	55.60
Day -9	68.27	67.40	68.83	69.63	67.67	65.40
Day 7	194.30	70.27**	58.20**	267.80	118.00**	41.47**
Day 34	198.33	128.23	78.40	206.50	156.93	62.55@
Day 68	89.07	65.67	60.10	110.13	115.07	48.75@
APTT (sec)						
Day -13	20.20	19.60	19.30	21.10	18.77*	19.73
Day -9	20.13	19.93	19.17	20.73	18.80	19.60
Day 7	19.90	23.47	23.87	19.80	22.03	23.63*
Day 34	20.00	19.53	19.83	20.07	18.43	19.25@
Day 68	19.63	19.93	18.27	20.20	18.03	18.60@
Fibrinogen (mg/dL)						
Day -13	275.3	315.7	297.0	278.7	242.0	224.0
Day -9	284.3	302.0	288.7	269.0	246.3	228.7
Day 7	304.0	592.7**	569.7**	328.3	501.0	495.3
Day 34	267.7	400.3*	381.7*	288.7	326.0	335.0@
Day 68	249.7	230.3	222.0	248.7	202.0*	174.0@
Bone Marrow Smear Examination[f]						
Myeloid:erythroid ratio	NA	↓	↓	-	NA	↓
Polychromasia	NA	↓	↓	-	NA	↓
Clinical Chemistry[g]						
Phosphorus (mg/dL)						
Day -13	5.50	5.61	5.18	5.15	4.85	5.06
Day -9	5.32	5.51	4.84	4.62	4.83	5.31
Day 7	6.87	4.33**	3.30**	6.13	4.39*	2.71**
Day 34	6.31	5.72	3.91*	5.31	5.39	4.27@
Day 68	5.06	6.26	4.78	5.22	6.45	5.66@
AST (U/L)						
Day -13	119.6	172.8	83.0	45.6	68.7	49.6
Day -9	92.8	135.8	83.6	47.1	111.2	60.7
Day 7	38.6	195.4*	187.9*	36.7	176.6*	172.8*
Day 34	35.7	68.6	122.4	29.7	85.1*	56.2@
Day 68	29.9	35.5	36.5	28.7	28.3	35.3@

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg)	**0**	**35**	**45**	**0**	**35**	**45**
Number of Animals	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
ALT (U/L)						
Day -13	83.2	81.8	48.6	46.4	56.0	62.6
Day -9	91.0	123.6	56.6	65.1	85.6	77.5
Day 7	70.2	178.5	134.1	74.8	203.3	203.4
Day 34	91.6	119.3	117.3	80.5	115.2	101.2@
Day 68	40.1	46.2	37.7	34.5	31.6	38.9@
Albumin (g/dL)						
Day -13	4.20	4.62	4.61	4.23	4.34	4.07
Day -9	4.12	4.31	4.36	4.13	4.07	4.03
Day 7	4.11	3.46*	3.44*	4.02	3.34*	2.86**
Day 34	4.10	3.81	3.44	4.04	3.70	3.52@
Day 68	4.16	4.41	4.23	3.95	4.07	4.06@
Globulin (g/dL)						
Day -13	2.66	3.15	2.65	2.92	2.73	2.96
Day -9	2.91	3.17	2.81	3.07	2.85	3.17
Day 7	2.74	3.63**	3.44*	2.95	3.32	3.43
Day 34	2.83	3.91**	3.59*	3.13	3.81*	4.19@
Day 68	2.81	3.46	3.32	3.20	3.20	3.39@
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Organ Weights [c](%)						
Number Examined	3	3	3	3	3	2
Thymus (g)	3.106	-22	-42	2.037	-14	-10
Thymus/BWt (%)	0.0926	-18	-35	0.0737	-11	-14
Thymus/BrWt (ratio)	0.0454	-29	-43	0.0317	-7	-14
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Histopathology [h]						
Number Examined	3	3	3	3	3	3
brain, choroid plexus						
fibrosis						
minimal	0	2	1	0	0	1
mild	0	0	1	0	0	0

（Continued）

Gender	Males			Females		
Dose Level (µg/kg)	**0**	**35**	**45**	**0**	**35**	**45**
Number of Animals	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
infiltration/inflammation, mononuclear cell						
minimal	0	2	2	0	2	1
mild	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	0	1
degeneration/necrosis						
minimal	0	0	1	0	2	1
mild	0	1	0	0	0	2
moderate	0	1	2	0	0	0
thymus						
depletion, lymphoid, generalized						
minimal	0	0	1	0	1	0
mild	0	0	1	0	1	1
moderate	0	0	0	0	0	1

ALT: Alanine aminotransferase; APTT: Activated partial thromboplastin time; AST: Aspartate aminotransferase; BWt: Body weight; BrWt: Brain weight; F: Female; M: Male; NA: Not applicable; -: No noteworthy findings.
*: Significantly different from control ($p<0.05$); **: Significantly different from control ($p<0.01$); @: No statistics performed due to lack of variability or sample size.

a: The vehicle and test article were administered for three cycles of five consecutive daily doses (on Days 1, 2, 3, 4, 5, 27, 28, 29, 30, 31, 54, 55, 56, 57, and 58) separated by 21-day or 22-day periods without dosing.
b: In some animals administered with tagraxofusp, a sufficient number of quantifiable samples required for analysis could not be collected due to various reasons.
c: Due to clinical observations of decreased activity, thin, dehydration, increased body temperature and bruising, one female in the 45 µg/kg group was euthanized in extremis on Day 9. The study pathologist was not able to determine an overall cause for this monkey's morbidity.
d: Reported as number observed/number of animals affected.
e: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
f: Animal number 2002, 3003, 1503, 3502 were examined.
g: Group means are shown.
h: Reported as number observed.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.10 がん原性試験

該当試験なし。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当試験なし。

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

該当試験なし。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当試験なし。

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

該当試験なし。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当試験なし。

2.6.7.16 局所刺激試験

被験物質：tagraxofusp

動物種/系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 （μg/kg/日）	性別及び 一群の動物数	特記所見	試験番号 （CTD 記載箇所）
サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回 （5% Dextrose）	5 日間（＋3 週間休薬）	0, 30, 60	雌雄各 3 例	タグラキソフスプに起因する変化は認められなかった。	2231-002 （4.2.3.2-3、評価資料）
サル/ Cynomolgus	静脈内、1 日 1 回 （生理食塩液）	3 ヵ月 [a]	0, 35, 45	雌雄各 3 例	35 μg/kg/日の雌 1 例で軽微な表皮過形成が、45 μg/kg/日の雄 1 例で軽度の血管周囲結合組織の限局性壊死が認められ、タグラキソフスプに起因する局所刺激に起因するものと考えられた。	2231-007 （4.2.3.2-4、評価資料）

a：「5 日間投与＋21～22 日間休薬」を 1 サイクルとし、3 サイクル投与

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.18 参考文献

該当なし。