TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
本項で使用する用語・略語 2
1. まとめ 3
2. 単回投与毒性試験 4
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 4
4. 遺伝毒性試験 4
5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 4
6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 5
6.1. 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 5
6.1.1. 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 5
6.2. 胚・胎児発生に関する試験 5
6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 5
6.2.2. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 6
6.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 6
7. 局所刺激性試験 8
8. その他の毒性試験（実施している場合） 8
9. 考察及び結論 9
10. 図表 10

LIST OF TABLES

Table 1. 毒性試験の概要 3

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
AUC_{168}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 168 hours：0 時間から 168 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid：エチレンジアミン四酢酸塩
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
NOAEL	no observed adverse effect level：無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
TFPI	tissue factor pathway inhibitor：組織因子経路インヒビター

1. まとめ

マルスタシマブは血液凝固因子の内因性阻害物質である TFPI と結合することで TFPI を阻害するヒトモノクローナル抗体である。マルスタシマブは「血液凝固第VIII因子又は第IX因子に対するインヒビターを保有しない先天性血友病患者における出血傾向の抑制」を適応症として 2024 年 12 月に承認を取得しており，マルスタシマブの非臨床プロファイルは初回申請承認資料に詳述された一連の薬理試験，薬物動態試験および毒性試験によって広範に評価されている。

今回の「血液凝固第VIII因子又は第IX因子に対するインヒビターを保有する先天性血友病患者における出血傾向の抑制」の適応追加に関する一部変更承認申請にあたり，初回申請以降に追加された毒性試験成績を提出する。

マルスタシマブはラットおよびウサギの TFPI と結合し，ラットを用いた反復投与毒性試験および非血友病ウサギ血小板乏血漿を用いた in vitro 試験において薬理学的活性を示したことから（初回承認申請資料 2.6.2 項および 2.6.6 項），生殖発生毒性試験ではラットおよびウサギを用いた。

生殖発生毒性試験として，雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験ならびにラットまたはウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した（Table 1）。非臨床試験で評価した試験デザインおよび項目は ICH，OECD ガイドラインおよび各国の規制に示される一般に認められた原則および実施基準に従った。すべての重要な試験はデータ相互受け入れ制度に参加する OECD 加盟国である米国の FDA の GLP 規則に従って実施した。

Table 1. 毒性試験の概要

試験種または試験期間/試験番号	投与経路	動物種	GLP 適用
生殖発生毒性試験			
雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験/[redacted]PZ257	静脈内投与	ラット	適用
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験/[redacted]PZ187	静脈内投与	ラット	適用
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験/[redacted]PZ188	静脈内投与	ウサギ	非適用
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験/[redacted]PZ233	静脈内投与	ウサギ	適用

マルスタシマブは，20 mmol/L ヒスチジン，85 mg/mL ショ糖，0.05 mg/mL EDTA 二ナトリウムおよび 0.2 mg/mL ポリソルベート 80 を含む溶液（pH 5.8）を溶媒として用いて投与した。

雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において，マルスタシマブに関連した所見は認められなかった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において，評価した最高用量において胚・胎児毒性として骨格奇形および骨格変異ならびに着床後胚損失がみられた。ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，マルスタシマブ投与に関連した影響は認められなかった。

2. 単回投与毒性試験

本申請における提出データなし。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

本申請における提出データなし。

4. 遺伝毒性試験

本申請における提出データなし。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

本申請における提出データなし。

6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

6.1. 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

6.1.1. 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

報告書番号 ■PZ257，概要表 2.6.7.12

雌の Wistar Han ラット（20 匹/群）にマルスタシマブを 0，20，60 または 120 mg/kg/週の用量で週 1 回，交配の 2 週間前から妊娠 6 日まで静脈内投与した。本試験の最高用量は，ラットを用いた 3 ヵ月間および 6 ヵ月間反復投与毒性試験（初回承認申請資料 2.6.6 項）における無毒性量（NOAEL）が 1000 mg/kg であったことを踏まえ，ヒトの曝露量に対する十分な曝露量比が得られる用量として 120 mg/kg に設定した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，発情周期観察および剖検を行った。妊娠 14 日に帝王切開を実施した。黄体数，着床数および生存胚数を計数した。胎盤は肉眼的に観察した。着床の認められない子宮は，10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し，早期胚死亡の有無を調べた。

評価したいずれの用量においても，マルスタシマブ投与に関連した死亡，一般状態変化，体重，体重変化，摂餌量，発情周期，交配成立までの日数、雌の生殖能（交尾率、受胎率および妊娠率）ならびに卵巣又は子宮に関するパラメータへの影響がみられなかったことから，雌ラットの一般毒性ならびに生殖および初期胚発生毒性に関する NOAEL はいずれも 120 mg/kg/週と判断した。

試験 8 日におけるマルスタシマブの曝露量（AUC_{168}）は用量にほぼ比例して増加した。NOAEL である 120 mg/kg/週の試験 8 日における C_{max} および AUC_{168} は，それぞれ 2940 µg/mL および 169,000 µg•h/mL であった。

6.2. 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書番号 ■PZ187，概要表 2.6.7.13A

妊娠した Wistar Han ラット（20 匹/群）にマルスタシマブを 0，20，60 または 180 mg/kg の用量で，妊娠 6 日と 12 日に静脈内投与した。本試験の最高用量は，ラットを用いた 3 ヵ月間および 6 ヵ月間反復投与毒性試験（初回承認申請資料 2.6.6 項）における NOAEL が 1000 mg/kg であったことを踏まえ，ヒトの曝露量に対する十分な曝露量比が得られる用量として 180 mg/kg に設定した。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 21 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。

マルスタシマブ投与に関連した胚・胎児毒性として，180 mg/kg で胎児の骨格奇形および骨格変異ならびに着床後胚損失が認められた。着床後胚損失（早期胚吸収）の増加と関連して，対照群と比較して生存胎児数の減少および妊娠子宮重量の低下が認められた。180 mg/kg の母動物で，生存胎児数の減少および妊娠子宮重量の低下に起因すると考えられる体重および体重増加量の減少が認められた。

180 mg/kg の母動物で，マルスタシマブ投与に関連した外陰部からの赤色分泌物が認められる動物数が増加し，多量の赤色分泌物を伴う瀕死状態の 1 例を安楽殺した。赤色分泌物が認められる母動物数の増加および瀕死状態は，いずれも本用量で認められた着床後胚損失に続発したものであり，母動物に対する直接的な毒性ではないと判断した。母動物に対する直接的な毒性変化が認められなかったことから，母動物に関する NOAEL は 180 mg/kg と判断した。また 180 mg/kg において発生毒性が認められたことから、胚・胎児発生に関する NOAEL は 60 mg/kg と判断した。

妊娠 12 日におけるマルスタシマブの曝露量（AUC_{168}）は用量にほぼ比例して増加した。母動物に関する NOAEL である 180 mg/kg の妊娠 12 日における C_{max} および AUC_{168} は，それぞれ 4130 µg/mL および 154,000 µg•h/mL であった。胚・胎児発生に関する NOAEL である 60 mg/kg の妊娠 12 日における C_{max} および AUC_{168} は，それぞれ 1430 µg/mL および 39,400 µg•h/mL であった。

6.2.2. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

報告書番号 ■PZ188，概要表 2.6.7.11

妊娠した New Zealnd White ウサギ（6 匹/群）にマルスタシマブを 0，100，300 または 760 mg/kg の用量で，妊娠 7 日と 14 日に静脈内投与し，用量設定試験を実施した。被験物質の最高濃度は 152 mg/mL であり，投与容量は 5 mL/kg であることから，最高用量である 760 mg/kg が投与可能な最大用量であった。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，卵巣および子宮の検査，胎児体重ならびに胎児の外表検査を行った。

マルスタシマブ投与に関連した変化は，760 mg/kg での軽度の摂餌量低下のみであった。評価したいずれの用量においても，マルスタシマブ投与に関連した母動物の剖検所見，卵巣又は子宮に関するパラメータへの影響はみられず，また胎児の生存および重量への影響ならびに外表の変化は認められなかった。

6.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書番号 ■PZ233，概要表 2.6.7.13B

妊娠した New Zealnd White ウサギ（20 匹/群）にマルスタシマブを 0，10，40 または 125 mg/kg の用量で，妊娠 7 日と 14 日に静脈内投与した。本試験の最高用量は，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（報告書番号 ■PZ188）において投与可能な最大用量が 760 mg/kg であることを踏まえ，ヒトの曝露量に対する十分な曝露量が得られる用量として 125 mg/kg に設定した。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。

評価したいずれの用量においても，マルスシマブ投与に関連した母動物の死亡，一般状態変化，体重，体重増加量および摂餌量変化ならびに卵巣または子宮パラメータへの影響，剖検所

見は認められなかった。また胎児の生存，胎児重量の変化ならびに外表，内臓および骨格への影響は認められなかった。いずれの用量においてもマルスタシマブ投与に関連した変化が認められなかったことから，母動物ならびに胚・胎児発生に関する NOAEL は 125 mg/kg と判断した。

妊娠 14 日におけるマルスタシマブの曝露量（AUC_{168}）は用量にほぼ比例して増加した。母動物ならびに胚・胎児発生に関する NOAEL である 125 mg/kg の妊娠 14 日における C_{max} および AUC_{168} は，それぞれ 3690 µg/mL および 291,000 µg•h/mL であった。

7. 局所刺激性試験

本申請における提出データなし。

8. その他の毒性試験（実施している場合）

本申請における提出データなし。

9. 考察及び結論

ラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験で，ラットで胎児の骨格奇形および骨格変異ならびに着床後胚損失が認められ，そのときの曝露量はヒトに 300 mg を週 1 回皮下投与した際の AUC_{tau} である 9146 µg•h/mL（初回承認申請資料 2.7.2 項）の 17 倍であった。ラットの胚・胎児発生に関する NOAEL は 60 mg/kg であり，そのときの曝露量はヒトに 300 mg を週 1 回皮下投与した際の AUC_{tau} の 4.3 倍であった。ウサギでは，評価したいずれの用量でも胚・胎児発生への影響は認められず，胚・胎児発生に関する NOAEL は検討した最高用量である 125 mg/kg であり，そのときの曝露量はヒトに 300 mg を週 1 回皮下投与した際の AUC_{tau} の 32 倍であった。ラットで胚・胎児発生への影響が認められたことに伴い，試験結果を添付文章案（1.8.1 項）に追記することで注意喚起を行っている。

10. 図表

表は，本文中の該当箇所または毒性試験概要表（2.6.7 項）に記載した。

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 3
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 4
2.6.7.4 DRUG SUBSTANCE 5
2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 6
2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 7
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 9
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 12

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Marstacimab (PF-06741086)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a,b] (mg/kg/dose)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Reproductive and Developmental Toxicity								
IV Fertility Study in Female Rats	Rat/Wistar Han	Intravenous	Through GD 6	0, 20, 60, 120	Yes	PRD	[redacted]PZ257	NA
IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rats	Rat/Wistar Han	Intravenous	GD 6 and GD 12	0, 20, 60, 180	Yes	PRD	[redacted]PZ187	NA
IV Dose Range-Finding Study in Pregnant Rabbits	Rabbit/NZW	Intravenous	GD 7 and GD 14	0, 100, 300, 760	No	PRD	[redacted]PZ188	NA
IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rabbits	Rabbit/NZW	Intravenous	GD 7 and GD 14	0, 10, 40, 125	Yes	PRD	[redacted]PZ233	NA

GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NA = not applicable; NZW = New Zealand White; PRD = Pfizer Research and Development

a. Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of protein per kg of body weight per dose.

b. All in vivo doses are by once weekly intravenous or subcutaneous injection, unless otherwise noted.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: Marstacimab (PF-06741086)

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a,b] (mg/kg/dose)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
IV Fertility Study in Female Rats	Rat/Wistar Han	Intravenous	0, 20, 60, 120	Yes	[redacted]PZ257
IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rats	Rat/Wistar Han	Intravenous	0, 20, 60, 180	Yes	[redacted]PZ187
IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rabbits	Rabbit/NZW	Intravenous	0, 10, 40, 125	Yes	[redacted]PZ233

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NZW = New Zealand White.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg body weight per dose unless otherwise noted.
b. All doses expressed as mg of protein per kg body weight.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Marstacimab (PF-06741086)

Dose[a] (mg/kg/dose)	Steady State AUC (ng•h/mL)		
	Rat	Rabbit	Human
Clinical Dose: 300 mg SC QW[b]			9146000
Intravenous			
10	-	17600000[e]	
20	19700000[c]	-	
	9120000[d]	-	
40	-	77500000[e]	
60	88500000[c]	-	
	39400000[d]	-	
120	169000000[c]	-	
125	-	291000000[e]	
180	154000000[d]	-	

Dose[a] (mg/kg/dose)	C_{max} (ng/mL)		
	Rat	Rabbit	Human
Clinical Dose: 300 mg SC QW[b]			63930
Intravenous			
10	-	355000[e]	
20	602000[c]	-	
	480000[d]	-	
30	-	1140000[e]	
60	2140000[c]	-	
	1430000[d]	-	
120	2940000[c]	-	
125	-	3690000[e]	
180	4130000[d]	-	

AUC = Area under the concentration time curve; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GD = gestation day; M = male; QW = once weekly; SC = subcutaneous.

a. All doses are expressed as mg of protein per kg of body weight per dose.

b. Human Dose is 300 mg SC QW.

c. Female fertility study (Day 8; AUC_{168}; [redacted]PZ257).

d. Embryofetal development study (GD 12; AUC_{168}; [redacted]PZ187).

e. Embryofetal development study (GD 14; AUC_{168}; [redacted]PZ233).

2.6.7.4 DRUG SUBSTANCE

Test-Article: Marstacimab (PF-06741086)

Proposed Specification	Sections 3.2.S.4.1 and 3.2.P.5.1 Specification(s) (included in the initial marketing authorization application) – Drug Substance							
Lot/Batch Number	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]PZ257	IV Fertility Study in Female Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]PZ187	IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]PZ188	IV Dose Range-Finding Study in Pregnant Rabbits
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]PZ233	IV Embryofetal Development Study in Pregnant Rabbits
[redacted]								

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES Test Article: PF-06741086

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg/dose)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Rabbit/New Zealand White	IV, GD 7 and GD 14, 5 mL/kg (20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate-80, pH 5.8/ Solution) Lot [redacted]	GD 7 and GD 14	0 (vehicle) 100 300 760	6F (timed-pregnant)	760 mg/kg/dose: ↓ Food consumption	[redacted]PZ188/ No

EDTA = edetate disodium dihydrate; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: Intravenous Injection Female Fertility Study of PF-06741086 in Wistar Han Rats

Test Article: PF-06741086

Design Similar to ICH S5(R3): Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose (F) or at Randomization (M):
M: 13 weeks (randomization)
F: 13 weeks (dose initiation)
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period:
M: Not dosed
F: Once weekly, beginning 14 days prior to the mating phase, throughout the mating phase, and continued until GD 6
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 14
Method of Administration: Intravenous injection, once weekly, 10 mL/kg

Study Number: [redacted]PZ257
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate-80, pH 5.8/Solution
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Female Systemic Toxicity: 120 mg/kg/dose
Female Fertility and Early Embryonic Development: 120 mg/kg/dose

Dose[a] (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**120**
Sex	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics – Day 8				
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	602	2140	2940
AUC_{168} (µg•h/mL)	NA[b]	19700	88500	169000
Number Died or Euthanized Moribund	0	1[c]	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight (g)	-	-	-	-
Premating Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g)	-	-	-	-
Premating Food Consumption (g)	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (g)	-	-	-	-
Estrous Cycle Length (days)	-	-	-	-
Mean Number Days Prior to Mating	-	-	-	-
Number of Females Mated (Confirmed)	20	19	20	20
Number of Pregnant Females	18	17	18	17
Fertility Index (%)[d]	90	85	90	85

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: Intravenous Injection Female Fertility Study of PF-06741086 in Wistar Han Rats

Test Article: PF-06741086 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)	20	60	120
Sex	**F**	**F**	**F**	**F**
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	1	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	18	16	18	17
Mean Number Corpora Lutea	14.4	14.1	14.1	13.9
Mean Number Implantations	12.2	11.9	12.3	12.6
Mean % Preimplantation Loss	14.7	16.2	11.8	9.3
Mean % Postimplantation Loss	11.5	4.2	4.7	6.8
Mean Number Live Embryos	11.3	11.4	11.7	11.7
Mean Number Early Resorptions	0.9	0.5	0.6	0.9

- = no noteworthy findings; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; C_{max} = maximum observed concentration; EDTA = edetate disodium dihydrate; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; M = male; NA = not applicable.

a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.

b. All samples below assay limit of quantitation (<40 ng/mL).

c. Female 031 (20 mg/kg/dose group) without evidence of mating was euthanized at the discretion of the Study Director prior to their presumed GD 14 and underwent a macroscopic examination of the thoracic, abdominal, and pelvic viscera. The pregnancy status was confirmed and a brief description of the uterine contents and corpora lutea counts were recorded.

d. Female Fertility Index = (Number of females with confirmed pregnancy / Total number of females used for mating) x 100.

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: Intravenous Injection Embryo-Fetal Development Study of PF-06741086 in Pregnant Wistar Han Rats

Test Article: PF-06741086

Design Similar to ICH S5(R3): Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ~8-11 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 6 and GD 12
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: IV, GD 6 and GD 12, 10 mL/kg

Study Number: [redacted]PZ187
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate-80, pH 5.8/Solution
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 180 mg/kg/dose
Developmental: 60 mg/kg/dose

Dose[a] (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**180**
Maternal Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics – GD 12				
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	480	1430	4130
AUC_{168} (µg•h/mL)	NA[b]	9120	39400	154000
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	1[c]
Number Pregnant	19	20	19	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	1	3
Clinical Observations				
Discharge, vulva	0	2	5	13
Body Weight – GD 18 (g)[d]	259.19	-	-	0.93*[e]
Body Weight Change – GD 6-18 (g)[d]	67.66	-	-	0.69†
Corrected Maternal Body Weight Change (g)[d]	-	-	-	-
Uterine Weight (g)[d]	62.36	-	-	0.68*
Necropsy Observations				
Number Evaluated	19	20	19	19
Abnormal content	0	0	0	1 [c]

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: [redacted]PZ187 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)	20	60	180
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	20	19	19
Mean Number Corpora Lutea	11.6	11.6	13.1	13.1
Mean Number Implantations	9.8	9.9	9.6	10.5
Mean % Preimplantation Loss	16.63	14.32	20.20	15.25
Mean % Postimplantation Loss	6.30	7.99	17.77*	45.90†
Mean Number Early Resorptions	0.4	0.8	1.3	4.6†
Mean Number Late Resorptions	0.1	0.1	0.0	0.0
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	178/19	182/20	157/18	112/16
Mean Number Live Fetuses	9.4	9.1	8.3	5.9†
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	5.06	5.14	4.97	4.92
Sex Ratios (% males)	55.9	55.3	52.6	45.7
Fetal Observations[f]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	178/19	182/20	157/18	112/16
External Malformation	-	-	-	-
External Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	178/19	182/20	157/18	112/16
Visceral Malformations	-	-	-	-
Visceral Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	178/19	182/20	157/18	112/16
Skeletal Malformations				
Thoracic centrum, hemicentric	0.00/0	0.00/0	0.62/6	2.66/19
Skeletal Variations				
Metatarsal, unossified	0.00/0	0.50/5	0.85/6	5.84†/38†
Zygomatic arch, fused	0.00/0	0.83/5	0.79/6	8.02*/25*
Rib, full supernumerary	6.10/32	1.86/15	5.21/22	15.36/63
Vertebra, 27 presacral	7.66/42	0.95/10*	3.01/17	13.31/44

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: [redacted]PZ187 (continued)

∗ p≤0.05; † p≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC168 = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; Cmax = maximum observed concentration; EDTA = edetate disodium dihydrate; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; IV = intravenous; NA = not applicable.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.
b. All samples below assay limit of quantitation (<40 ng/mL).
c. Animal 063 in the 180 mg/kg/dose group was euthanized on GD 15 in moribund condition (rough haircoat, hunched posture, decreased activity) that was secondary to vulva discharge (red). A dark red fluid filled uterus with both early resorptions and apparently normally developing embryos was observed upon macroscopic observation. This mortality was PF-06741086-related since the vulva (red) discharge was observed in other animals at this dose and is associated with the developmental toxicity observed.
d. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
e. The statistically significant lower maternal body weight gain and lower maternal body weight was considered secondary to the lower number of live fetuses and uterine weight at 180 mg/kg/dose as demonstrated by no effect on body weight following correction for uterine weight.
f. Values shown are fetuses affected (mean %/litter) followed by litter incidence (%).

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: Intravenous Injection Embryo-Fetal Development Study of PF-06741086 in Pregnant New Zealand White Rabbits

Test Article: PF-06741086

Design Similar to ICH S5(R3): Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Age at First Dose: 4-6 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 7 and GD 14
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Intravenous injection, once on GD 7 and GD 14, 5 mL/kg

Study Number: [redacted]PZ233
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 20 mM histidine, 85 mg/mL sucrose, 0.05 mg/mL EDTA, 0.2 mg/mL polysorbate-80, pH 5.8/Solution
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal and Developmental: 125 mg/kg/dose

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)	10	40	125
Maternal Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics – GD 14				
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	355	1140	3690
AUC_{168} (µg•h/mL)	NA[b]	17600	77500	291000
Number Died or Euthanized Moribund	0	1[c]	0	0
Number Pregnant	17	15	19	16
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	2	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-
Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-
Uterine Weight (g)	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	19	20	20

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: [redacted]PZ233 (continued)

Dose[a] (mg/kg/dose)	0 (Control)	10	40	125
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	17	15	19	16
Mean Number Corpora Lutea	10.1	10.1	9.5	10.1
Mean Number Implantations	8.9	8.5	8.3	8.9
Mean % Preimplantation Loss	11.30	14.35	11.04	10.58
Mean % Postimplantation Loss	1.27	8.96	16.24*	3.82
Mean Number Early Resorptions	0.1	0.6	0.6	0.3
Mean Number Late Resorptions	0.0	0.1	0.2	0.1
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	149/17	118/15	142/17	138/16
Mean Number Live Fetuses	8.8	7.9	7.5	8.6
Mean Number Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean Fetal Body Weight (g)	39.72	41.17	41.11	37.20
Sex Ratios (% males)	39.7	49.0	55.2	53.6
Fetal Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	149/17	118/15	142/17	138/16
External Malformation and Variations	-	-	-	-
Visceral Malformation and Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformation and Variations	-	-	-	-

∗ p≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; AUC_{168} = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; C_{max} = maximum observed concentration; EDTA = edetate disodium dihydrate; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; NA = not applicable.

a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose.

b. All samples below assay limit of quantitation (<40 ng/mL).

c. Animal 027 (Group 2) was euthanized on GD 7 prior to the initiation of the first dose due to a laceration on the neck that was unrelated to the test article.