

Table 3-1 Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Hematology - List of abbreviations -

Abbreviation	Expansion
RBC	Red blood cell count
HGB	Hemoglobin concentration
HCT	Hematocrit
MCV	Mean corpuscular volume
MCH	Mean corpuscular hemoglobin
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
Retic	Reticulocytes
PLT	Platelet count
WBC	White blood cell count
Diff WBC	Differential white blood cells
Neut	Neutrophils
Lymph	Lymphocytes
Mono	Monocytes
Eos	Eosinophils
Baso	Basophils
LUC	Large unstained cells
PT	Prothrombin time
APTT	Activated partial thromboplastin time

Table 3-2 Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Hematology

Dose method Test article	Sex	Animal No.	Dose levels		RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Retic		PLT (10 <sup>3</sup> /μL)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)
			Observation time								(%)	(10 <sup>9</sup> /L)		
Intratracheal administration Leukine	Males	XTM01	0.005	One day prior to dosing	5.71	13.6	45.6	79.9	23.8	29.8	1.2	66.4	267	7.10
				One day after dosing	5.17	12.0	41.1	79.6	23.2	29.2	1.2	60.9	261	12.35
		XTM02	0.05	One day prior to dosing	6.22	13.9	45.9	73.8	22.3	30.2	1.0	59.4	190	7.64
				One day after dosing	5.71	12.7	41.5	72.6	22.3	30.7	1.0	59.8	183	11.32
		XTM03	0.5	One day prior to dosing	5.76	14.3	46.3	80.4	24.9	30.9	0.7	39.2	317	10.34
				One day after dosing	5.38	13.2	42.9	79.8	24.5	30.7	0.7	40.1	291	20.35
	Females	XTF01	0.005	One day prior to dosing	5.66	14.7	47.6	84.1	25.9	30.8	1.3	71.4	267	11.19
				One day after dosing	5.05	13.1	41.5	82.3	25.9	31.5	1.4	72.8	238	11.60
		XTF02	0.05	One day prior to dosing	5.79	14.0	46.3	80.0	24.2	30.2	1.7	96.0	462	7.17
				One day after dosing	5.27	12.9	43.3	82.1	24.4	29.7	1.9	101.3	395	16.26
		XTF03	0.5	One day prior to dosing	5.68	13.4	44.2	77.9	23.7	30.4	0.8	45.1	404	7.52
				One day after dosing	4.91	11.9	38.7	78.9	24.1	30.6	1.1	53.5	371	26.15
Inhalation administration <sup>a)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	One day prior to dosing	6.05	14.0	49.6	82.0	23.1	28.2	1.0	58.3	280	7.25
				One day after dosing	5.44	12.7	43.3	79.6	23.4	29.4	0.9	47.6	258	16.27
		XTM02	0.5	One day prior to dosing	6.18	14.0	46.9	75.8	22.6	29.8	1.1	66.7	221	10.02
				One day after dosing	5.55	12.5	40.4	72.8	22.6	31.0	1.0	56.1	241	13.54
		XTM03	5	One day prior to dosing	5.80	14.2	46.8	80.6	24.4	30.3	0.9	50.3	322	11.81
				One day after dosing	5.37	13.0	41.9	78.0	24.2	31.0	0.9	50.1	313	19.46
	Females	XTF01	0.05	One day prior to dosing	5.39	13.7	44.7	83.0	25.4	30.6	2.2	117.2	239	13.16
				One day after dosing	4.92	12.3	41.5	84.3	25.1	29.7	2.6	129.0	230	18.81
		XTF02	0.5	One day prior to dosing	5.82	14.1	48.6	83.6	24.3	29.0	1.4	82.3	460	12.54
				One day after dosing	5.27	12.7	42.2	80.0	24.2	30.2	1.2	64.8	462	17.51
		XTF03	5	One day prior to dosing	5.64	13.4	45.8	81.3	23.7	29.2	1.2	67.2	413	10.08
				One day after dosing	5.20	12.3	41.1	79.0	23.7	30.0	1.3	67.5	410	24.00
Inhalation administration 2 <sup>b)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	Prior to dosing	6.18	14.1	48.8	78.9	22.8	28.9	0.4	27.1	263	9.34
				One day after dosing	5.76	13.1	46.2	80.3	22.7	28.2	0.6	32.7	258	14.53
		XTM02	0.5	Prior to dosing	6.21	13.6	46.4	74.7	22.0	29.4	0.7	40.9	232	7.45
				One day after dosing	5.65	12.4	41.5	73.5	21.9	29.8	0.7	39.4	198	12.16
		XTM03	5	Prior to dosing	6.02	14.0	48.2	80.1	23.3	29.1	0.9	54.0	321	14.05
				One day after dosing	5.53	13.1	43.6	78.8	23.6	30.0	0.9	50.3	284	13.61
	Females	XTF01	0.05	Prior to dosing	5.76	13.8	47.3	82.1	23.9	29.1	1.3	77.6	236	14.26
				One day after dosing	5.19	12.8	42.8	82.4	24.6	29.8	1.4	70.5	220	18.61
		XTF02	0.5	Prior to dosing	6.06	14.1	49.2	81.1	23.2	28.6	0.6	36.1	473	13.31
				One day after dosing	5.37	12.4	43.2	80.4	23.2	28.8	0.6	33.1	439	17.67
		XTF03	5	Prior to dosing	5.66	13.0	45.4	80.4	23.0	28.6	0.8	47.2	396	9.86
				One day after dosing	4.85	11.1	39.1	80.7	22.9	28.4	1.1	52.2	355	24.47

<sup>a)</sup> Aeronex<sup>TM</sup> (Covidien Japan Inc.) was used.

<sup>b)</sup> TurboBOY<sup>®</sup>N, (PARI GmbH) was used.

Table 3-2 (Continued) Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Hematology

Dose method Test article	Sex	Animal No.	Dose levels (mg/body)	Observation time	Diff WBC (%)						Diff WBC (10 <sup>3</sup> /μL)						PT (s)	APTT (s)
					Neut	Lymph	Mono	Eos	Baso	LUC	Neut	Lymph	Mono	Eos	Baso	LUC		
Intratracheal administration Leukine	Males	XTM01	0.005	One day prior to dosing	16.1	75.7	5.4	1.9	0.4	0.6	1.14	5.37	0.38	0.13	0.03	0.04	10.0	21.4
				One day after dosing	58.4	37.0	3.1	1.0	0.3	0.2	7.22	4.57	0.38	0.12	0.04	0.02	10.0	23.9
		XTM02	0.05	One day prior to dosing	13.9	81.1	3.0	1.0	0.2	0.8	1.06	6.20	0.23	0.08	0.02	0.06	10.5	23.2
				One day after dosing	58.5	34.9	3.0	3.1	0.1	0.5	6.62	3.95	0.33	0.35	0.02	0.05	10.2	25.7
		XTM03	0.5	One day prior to dosing	25.3	70.9	2.6	0.4	0.2	0.5	2.62	7.33	0.27	0.04	0.02	0.05	11.4	23.6
				One day after dosing	74.6	21.7	1.3	1.8	0.2	0.3	15.18	4.42	0.27	0.37	0.05	0.07	10.9	24.2
	Females	XTF01	0.005	One day prior to dosing	29.0	66.9	2.6	0.7	0.4	0.5	3.24	7.49	0.29	0.07	0.04	0.05	9.9	23.5
				One day after dosing	45.9	49.4	2.9	0.8	0.3	0.6	5.33	5.74	0.34	0.09	0.04	0.07	9.6	27.4
		XTF02	0.05	One day prior to dosing	48.9	46.2	3.9	0.5	0.2	0.3	3.51	3.31	0.28	0.04	0.01	0.02	9.9	22.1
				One day after dosing	75.5	18.9	3.6	1.4	0.2	0.4	12.28	3.07	0.59	0.23	0.03	0.06	9.7	22.8
		XTF03	0.5	One day prior to dosing	31.1	61.2	3.3	3.1	0.3	0.9	2.34	4.61	0.25	0.23	0.03	0.07	9.8	22.9
				One day after dosing	82.5	11.7	1.2	4.0	0.2	0.4	21.57	3.07	0.31	1.04	0.05	0.11	9.8	24.9
Inhalation administration <sup>a)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	One day prior to dosing	19.1	73.4	4.8	1.3	0.4	1.0	1.38	5.32	0.35	0.10	0.03	0.07	10.8	22.4
				One day after dosing	61.0	32.4	4.6	0.8	0.4	0.7	9.93	5.28	0.75	0.14	0.06	0.11	10.2	22.2
		XTM02	0.5	One day prior to dosing	23.9	71.2	3.6	0.5	0.3	0.6	2.39	7.13	0.36	0.05	0.03	0.06	10.7	23.7
				One day after dosing	60.0	34.6	2.5	2.4	0.2	0.3	8.12	4.69	0.33	0.33	0.03	0.04	10.0	23.5
		XTM03	5	One day prior to dosing	50.2	46.9	2.0	0.2	0.3	0.3	5.93	5.55	0.24	0.03	0.03	0.04	11.6	23.4
				One day after dosing	77.0	19.6	1.1	1.7	0.2	0.4	14.99	3.82	0.22	0.33	0.03	0.07	11.4	23.6
	Females	XTF01	0.05	One day prior to dosing	27.7	66.8	3.3	0.9	0.4	0.8	3.65	8.80	0.44	0.11	0.05	0.11	10.2	24.1
				One day after dosing	45.0	50.7	2.4	0.7	0.4	0.7	8.46	9.54	0.46	0.13	0.08	0.14	9.3	22.9
		XTF02	0.5	One day prior to dosing	70.4	25.9	2.9	0.3	0.2	0.3	8.83	3.24	0.36	0.03	0.03	0.03	9.9	22.3
				One day after dosing	81.7	13.7	2.6	1.5	0.2	0.2	14.31	2.41	0.45	0.26	0.03	0.04	9.7	21.7
		XTF03	5	One day prior to dosing	35.6	58.4	3.2	1.6	0.4	0.8	3.59	5.89	0.32	0.16	0.04	0.08	9.9	22.2
				One day after dosing	78.3	15.4	1.5	4.0	0.3	0.5	18.79	3.70	0.37	0.96	0.07	0.11	9.8	21.8
Inhalation administration <sup>b)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	Prior to dosing	17.3	76.0	3.7	1.8	0.5	0.7	1.62	7.09	0.34	0.17	0.05	0.06	10.6	21.7
				One day after dosing	56.1	39.6	2.3	0.9	0.5	0.5	8.16	5.76	0.34	0.13	0.08	0.07	10.4	21.9
		XTM02	0.5	Prior to dosing	21.5	73.6	3.0	1.0	0.5	0.4	1.60	5.48	0.22	0.08	0.03	0.03	10.7	23.3
				One day after dosing	55.1	40.4	2.1	1.5	0.3	0.6	6.70	4.91	0.25	0.19	0.04	0.07	10.3	23.8
		XTM03	5	Prior to dosing	40.3	55.4	2.0	1.3	0.5	0.5	5.67	7.79	0.29	0.18	0.06	0.07	11.3	23.3
				One day after dosing	69.8	27.6	0.8	1.2	0.2	0.4	9.50	3.76	0.11	0.16	0.03	0.05	11.6	25.1
	Females	XTF01	0.05	Prior to dosing	21.6	73.1	3.1	0.9	0.8	0.5	3.08	10.43	0.44	0.13	0.11	0.07	10.3	23.2
				One day after dosing	43.1	52.1	2.8	0.8	0.5	0.8	8.02	9.70	0.52	0.15	0.09	0.14	9.7	23.0
		XTF02	0.5	Prior to dosing	64.8	31.4	2.8	0.3	0.4	0.2	8.62	4.18	0.37	0.04	0.05	0.03	10.2	21.5
				One day after dosing	74.5	20.9	2.7	1.0	0.2	0.6	13.17	3.69	0.48	0.17	0.04	0.11	9.7	21.3
		XTF03	5	Prior to dosing	37.5	56.3	2.5	2.6	0.4	0.7	3.70	5.55	0.24	0.26	0.04	0.06	9.8	21.5
				One day after dosing	81.7	12.7	0.8	4.2	0.2	0.4	19.99	3.10	0.21	1.03	0.05	0.10	9.4	21.9

<sup>a)</sup> Aeroneb™ (Covidien Japan Inc.) was used.

<sup>b)</sup> TurboBOY®N, (PARI GmbH) was used.

Table 4-1 Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Clinical chemistry - List of abbreviations -

Abbreviation	Expansion
AST	Aspartate aminotransferase
ALT	Alanine aminotransferase
ALP	Alkaline phosphatase
LD	Lactate dehydrogenase
CK	Creatine kinase
GLU	Glucose
BIL	Total bilirubin
UN	Urea nitrogen
CRE	Creatinine
CHO	Total cholesterol
TG	Triglycerides
PL	Phospholipids
IP	Inorganic phosphorus
CA	Calcium
NA	Sodium
K	Potassium
CL	Chloride
TP	Total protein
ALB	Albumin
A/G	Albumin/globulin ratio
CRP	C-reactive protein

Table 4-2 Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Clinical chemistry

Dose method	Animal	Dose levels	AST	ALT	ALP	LD	CK	GLU	BIL	UN	CRE	CHO	TG		
Test article	Sex	No.	(mg/body)	Observation time	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)		
Intratracheal administration Leukine	Males	XTM01	0.005	One day prior to dosing	26	27	1625	302	88	66	0.12	16.8	0.69	169	36
				One day after dosing	42	28	1479	442	134	80	0.11	13.4	0.64	117	44
		XTM02	0.05	One day prior to dosing	29	56	1225	239	136	74	0.12	17.3	0.86	153	21
				One day after dosing	65	71	1064	497	350	89	0.15	15.4	0.83	117	13
		XTM03	0.5	One day prior to dosing	22	22	1665	207	257	66	0.17	18.9	0.76	108	30
				One day after dosing	25	22	1395	267	99	77	0.09	14.7	0.75	80	21
	Females	XTF01	0.005	One day prior to dosing	29	46	1141	279	178	75	0.20	18.3	0.73	174	29
				One day after dosing	37	51	974	364	224	86	0.16	12.2	0.72	123	19
		XTF02	0.05	One day prior to dosing	19	34	650	228	108	89	0.09	16.7	0.75	135	32
				One day after dosing	29	38	611	381	528	82	0.10	13.4	0.77	105	20
		XTF03	0.5	One day prior to dosing	20	63	866	204	89	71	0.12	16.8	0.67	112	26
				One day after dosing	41	70	921	349	890	79	0.14	14.8	0.73	74	26
Inhalation administration a) Leukine	Males	XTM01	0.05	One day prior to dosing	24	23	1663	261	97	67	0.08	17.0	0.69	175	20
				One day after dosing	215	64	1397	3262	30788	96	0.21	18.8	0.59	104	66
		XTM02	0.5	One day prior to dosing	33	62	919	236	155	68	0.08	19.7	0.88	143	29
				One day after dosing	212	124	766	1211	3360	86	0.11	24.9	0.89	112	39
		XTM03	5	One day prior to dosing	22	19	1192	175	97	66	0.06	16.2	0.75	95	26
				One day after dosing	103	45	1127	764	4423	73	0.08	13.4	0.71	68	26
	Females	XTF01	0.05	One day prior to dosing	23	43	906	180	173	77	0.08	16.6	0.59	156	20
				One day after dosing	93	77	852	566	1048	94	0.11	19.4	0.67	127	39
		XTF02	0.5	One day prior to dosing	18	38	618	201	131	88	0.06	16.9	0.76	133	35
				One day after dosing	40	42	545	418	400	112	0.10	16.2	0.78	103	21
		XTF03	5	One day prior to dosing	17	54	817	135	104	76	0.06	17.6	0.68	106	28
				One day after dosing	42	64	778	330	290	76	0.08	17.2	0.69	83	27
Inhalation administration 2 b) Leukine	Males	XTM01	0.05	Prior to dosing	26	16	2121	342	181	87	0.11	20.2	0.65	125	32
				One day after dosing	742	208	1845	13808	135590	77	0.16	15.1	0.65	100	56
		XTM02	0.5	Prior to dosing	36	64	1018	292	245	63	0.08	21.6	1.05	118	41
				One day after dosing	470	224	943	5347	32735	79	0.16	23.4	0.92	101	21
		XTM03	5	Prior to dosing	30	18	1620	333	354	60	0.09	15.7	0.81	86	33
				One day after dosing	531	132	1526	17868	177066	75	0.11	14.2	0.75	65	25
	Females	XTF01	0.05	Prior to dosing	29	43	1114	302	213	115	0.12	16.9	0.75	150	32
				One day after dosing	337	234	1042	2687	17192	76	0.12	18.9	0.65	120	59
		XTF02	0.5	Prior to dosing	21	54	726	249	191	72	0.06	20.1	0.84	135	34
				One day after dosing	74	69	664	627	1396	76	0.09	20.3	0.73	103	34
		XTF03	5	Prior to dosing	19	39	970	175	155	74	0.06	19.5	0.73	102	38
				One day after dosing	162	113	854	2067	14995	112	0.11	14.9	0.71	76	30

a) Aeronex™ (Covidien Japan Inc.) was used.

b) TurboBOY®N, (PARI GmbH) was used.

Table 4-2 (Continued) Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Clinical chemistry

Dose method	Animal	Dose levels		PL	IP	CA	NA	K	CL	TP	ALB	A/G	CRP	
Test article	Sex	No.	(mg/body)	Observation time	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/L)	(mEq/L)	(mEq/L)	(g/dL)	(g/dL)	(mg/dL)	
Intratracheal administration Leukine	Males	XTM01	0.005	One day prior to dosing	215	4.99	9.73	151.6	4.03	113.7	7.55	4.16	1.23	0.09
				One day after dosing	203	2.40	9.16	150.1	3.45	115.0	7.33	3.88	1.12	3.06
		XTM02	0.05	One day prior to dosing	201	5.66	9.43	149.9	4.54	112.1	7.48	4.23	1.30	0.19
				One day after dosing	170	2.80	9.29	147.5	4.35	115.0	7.18	3.85	1.16	2.68
		XTM03	0.5	One day prior to dosing	150	6.38	9.37	147.6	3.98	108.5	7.26	4.32	1.47	0.03
				One day after dosing	130	3.02	9.35	151.5	4.79	116.0	7.24	4.03	1.26	0.71
	Females	XTF01	0.005	One day prior to dosing	224	5.37	9.36	148.9	4.29	112.4	7.14	4.02	1.29	0.18
				One day after dosing	211	2.92	8.90	146.9	3.69	113.6	6.78	3.51	1.07	3.88
		XTF02	0.05	One day prior to dosing	186	4.78	8.92	147.5	4.24	113.0	7.10	4.12	1.38	0.05
				One day after dosing	184	2.83	8.73	148.2	3.36	112.4	7.18	3.94	1.22	1.27
		XTF03	0.5	One day prior to dosing	165	4.06	10.10	147.4	4.80	113.8	7.70	4.26	1.24	0.18
				One day after dosing	176	1.44	10.10	149.2	4.24	113.8	7.45	3.79	1.04	3.94
Inhalation administration <sup>a)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	One day prior to dosing	210	4.75	9.71	153.5	3.87	111.7	7.43	4.09	1.22	0.03
				One day after dosing	201	2.19	10.09	149.2	3.75	108.8	6.82	3.56	1.09	3.68
		XTM02	0.5	One day prior to dosing	203	4.11	9.64	150.2	4.46	109.1	7.31	4.26	1.40	0.10
				One day after dosing	183	0.92	9.75	149.7	4.05	108.2	6.61	3.78	1.34	1.80
		XTM03	5	One day prior to dosing	125	4.70	9.30	150.0	4.21	111.1	7.00	4.02	1.35	0.01
				One day after dosing	132	2.80	9.04	152.5	4.64	115.0	6.75	3.74	1.24	1.13
	Females	XTF01	0.05	One day prior to dosing	184	5.27	8.97	147.7	4.55	113.4	6.35	3.31	1.09	0.13
				One day after dosing	204	3.26	9.27	150.1	3.65	111.3	6.39	3.31	1.07	1.12
		XTF02	0.5	One day prior to dosing	190	3.97	8.96	146.9	3.61	108.4	7.27	4.19	1.36	0.03
				One day after dosing	183	2.38	8.68	145.7	3.79	111.4	6.82	3.88	1.32	1.05
		XTF03	5	One day prior to dosing	168	2.96	10.11	151.2	4.35	110.5	7.49	4.17	1.26	0.14
				One day after dosing	161	1.02	9.55	149.8	4.52	112.8	7.07	3.82	1.18	1.49
Inhalation administration 2 <sup>b)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	Prior to dosing	199	3.04	9.59	148.8	3.60	112.8	6.88	4.03	1.41	0.07
				One day after dosing	186	3.44	9.63	151.9	3.85	110.4	6.61	3.78	1.34	2.03
		XTM02	0.5	Prior to dosing	187	4.14	9.43	147.9	4.81	110.6	6.79	4.03	1.46	0.24
				One day after dosing	173	1.67	9.32	147.8	4.28	106.8	6.65	3.82	1.35	2.67
		XTM03	5	Prior to dosing	128	4.75	8.85	148.7	4.20	111.9	6.36	3.71	1.40	0.04
				One day after dosing	136	3.28	8.57	147.8	3.79	112.3	6.08	3.42	1.29	3.23
	Females	XTF01	0.05	Prior to dosing	195	4.48	8.60	146.9	3.60	111.6	6.01	3.39	1.29	0.33
				One day after dosing	206	2.76	8.92	148.1	3.39	111.8	5.88	3.19	1.19	2.33
		XTF02	0.5	Prior to dosing	204	2.35	9.32	148.3	3.71	113.4	6.68	3.82	1.34	0.13
				One day after dosing	191	2.57	9.59	148.7	4.12	112.1	6.58	3.67	1.26	2.00
		XTF03	5	Prior to dosing	189	1.96	9.98	150.4	4.63	111.3	6.73	3.90	1.38	0.40
				One day after dosing	166	1.30	9.69	149.8	4.23	109.5	6.37	3.48	1.20	3.12

<sup>a)</sup> Aeroneb™ (Covidien Japan Inc.) was used.

<sup>b)</sup> TurboBOY®N, (PARI GmbH) was used.

Table 5 Investigation of Inhalation Method of a Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Volume of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) collected

Dose method Test article	Sex	Animal No.	Dose levels (mg/body)	Observation time	Time of BALF collection						Total
					1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	
Intratracheal administration Leukine	Males	XTM01	0.005	One day after dosing	2.5	3.4	2.6	3.8	3.4	4.4	20.1
		XTM02	0.05		3.2	4.8	4.8	5.0	5.2	5.2	28.2
		XTM03	0.5		3.5	4.2	5.1	5.0	5.0	5.0	27.8
	Females	XTF01	0.005	One day after dosing	3.2	4.2	4.8	4.8	4.6	4.4	26.0
		XTF02	0.05		2.7	4.4	5.2	4.8	5.2	5.2	27.5
		XTF03	0.5		3.0	3.8	5.8	3.4	3.6	5.4 , 0.8 <sup>c)</sup>	25.8
Inhalation administration <sup>a)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	One day after dosing	3.4	4.4	5.0	5.0	4.8	5.2	27.8
		XTM02	0.5		2.8	3.0	4.2	4.0	5.2	5.4	24.6
		XTM03	5		3.4	4.4	5.0	5.0	5.2	5.2	28.2
	Females	XTF01	0.05	One day after dosing	3.2	3.0	5.0	4.4	5.2	5.6	26.4
		XTF02	0.5		3.6	4.2	5.0	5.0	4.8	5.4	28.0
		XTF03	5		2.8	3.6	4.6	4.6	4.0	4.4	24.0
Inhalation administration 2 <sup>b)</sup> Leukine	Males	XTM01	0.05	One day after dosing	2.8	4.0	5.2	5.2	5.2	5.2	27.6
		XTM02	0.5		3.8	4.8	5.2	5.2	5.2	5.6	29.8
		XTM03	5		2.8	3.6	4.2	4.0	4.4	5.4	24.4
	Females	XTF01	0.05	One day after dosing	4.0	4.4	4.8	4.8	5.0	5.4	28.4
		XTF02	0.5		3.6	4.6	5.0	5.4	5.2	5.2	29.0
		XTF03	5		3.2	5.0	5.4	5.0	5.2	5.0	28.8

<sup>a)</sup> Aeroneb™ (Covidien Japan Inc.) was used.

<sup>b)</sup> TurboBOY®N, (PARI GmbH) was used.

<sup>c)</sup> Additionally collected volume since the entire fluid could not be collected at once.

## 最終報告書

### カニクイザルでのヒトリコンビナント顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 製剤の抗体産生観察試験

試験期間: 2013年12月16日～2014年3月28日

試験委託者: 新潟大学 医歯学総合病院 生命科学医療センター  
〒951-8520 新潟県新潟市中央区旭町通 1-754

試験施設: 株式会社イナリサーチ  
〒399-4501 長野県伊那市西箕輪 2148 番地 188

試験責任者: 年 月 日

株式会社イナリサーチ  
試験研究センター 試験管理部

---

藤原 淳



## 目次

	ページ
1. 要約 .....	3
2. 試験目的 .....	3
3. 試験分担責任者 .....	3
4. 試験期間 .....	3
5. 遵守基準及び参照ガイドライン .....	4
6. 動物愛護 .....	4
7. 材料及び方法 .....	4
7.1 被験物質 .....	4
7.2 試験系 .....	5
7.3 飼育条件 .....	5
7.4 飼育材料と分析 .....	6
7.4.1 飼料 .....	6
7.4.2 飲料水 .....	6
7.5 個体識別 .....	6
7.6 投与量 .....	6
7.7 投与 .....	6
7.8 観察及び検査 .....	7
7.8.1 一般状態 .....	7
7.8.2 体重 .....	7
7.8.3 体温 .....	7
7.8.4 血液検査 .....	7
7.8.4.1 採血 .....	7
7.8.4.2 血液学的検査 .....	7
7.8.4.3 血液生化学的検査 .....	8
7.8.5 気管支肺胞洗浄液 (BALF) 採取 .....	9
7.9 血清サンプル採取 .....	10
7.10 動物の処置 .....	10
8. 試験計画書からの逸脱及び予見することができなかった事態 .....	10
9. 試験関係資料 .....	10
10. 成績及び考察 .....	10
10.1 一般状態 .....	10
10.2 体重 .....	10
10.3 体温 .....	10
10.4 血液学的検査 .....	11
10.5 血液生化学的検査 .....	11
10.6 BALF 採取 .....	11
10.7 BALF の一般細菌及び真菌検査 .....	11
11. 結論 .....	11

### Annexes

Tables 1～6

## 1. 要約

カニクイザルにおける GM-CSF の免疫原性を検討するため、CHO 細胞及び大腸菌由来の 2 種の GM-CSF を、それぞれ 2 匹の雄性カニクイザルに 1 週間に 2 回、3 又は 4 日間隔で 12 週間、間歇気管内投与した。抗体測定用の血清採取、体重測定及び体温測定を 1 週間間隔、血液検査を 2 週間間隔で実施し、最終投与後に気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取した。採取した血清及び BALF は試験委託者に送付した。また、BALF の一部を用いて一般細菌及び真菌検査を実施した。その他、一般状態を毎日観察した。

一般状態、体重及び体温に異常は認められず、両群ともに BALF 採取量に差はなかった。また、BALF の一般細菌及び真菌検査の結果は両群ともに陰性であった。

血液学的検査において、好中球及び好酸球数及び比が Day 28 まで増加する傾向が認められ、CHO 細胞由来 GM-CSF 製剤群ではその後、漸減する傾向が認められたが、大腸菌由来 GM-CSF 製剤群では維持される傾向が認められた。

血液生化学的検査では、いずれの群においても、投与前と比較して、Day 28 又は 42 をピークとする C 反応性蛋白が漸増又は高値を示し、その後、低下する傾向が認められた。

以上の通り、CHO 細胞及び大腸菌由来の 2 種の GM-CSF 製剤の間歇気管内投与により、GM-CSF に起因する好中球及び好酸球数の増加及び C 反応性蛋白の高値が認められた。また、好中球及び好酸球数において、CHO 細胞由来 GM-CSF では増加の後、減少する傾向が認められたが、大腸菌細胞由来 GM-CSF では CHO 細胞由来 GM-CSF と比較して、これらの増加が維持される傾向が認められた。

## 2. 試験目的

カニクイザルにおける GM-CSF の免疫原性を検討するため、2 種の GM-CSF を 1 週間に 2 回の頻度で間歇気管内投与し、1 週間ごとに血清を採取して、試験委託者に送付した。また、GM-CSF の血液に対する影響を確認するため、2 週間ごとに血液検査を実施した。さらに、間歇投与による GM-CSF の肺への影響を確認するため、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取して試験委託者に送付した。

## 3. 試験分担責任者

飼育、投薬及び臨床観察: 西村 正吾

被験物質の取扱い: 伯耆原 淳

血液検査、BALF 採取及び送付:  
米山 昭宏

血清サンプル送付: 小池 和恵

## 4. 試験期間

試験開始日: 2013 年 12 月 16 日

実施日程: 投与開始日を Day 1 とし, その翌日を Day 2, 前日を Day -1 とする.

項目	実施日 (Day)	実施日 (年/月/日)
本試験への動物入手日 (移管日)	-2	2013/12/17
投与	1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, 26, 29, 33, 36, 40, 43, 47, 50, 54, 57, 61, 64, 68, 71, 75, 78, 82	2013/12/19, 2013/12/23, 2013/12/26, 2013/12/30, 2014/1/2, 2014/1/6, 2014/1/9, 2014/1/13, 2014/1/16, 2014/1/20, 2014/1/23, 2014/1/27, 2014/1/30, 2014/2/3, 2014/2/6, 2014/2/10, 2014/2/13, 2014/2/17, 2014/2/20, 2014/2/24, 2014/2/27, 2014/3/3, 2014/3/6, 2014/3/10
血清送付用採血	-1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84	2013/12/18, 2013/12/25, 2014/1/1, 2014/1/8, 2014/1/15, 2014/1/22, 2014/1/29, 2014/2/5, 2014/2/12, 2014/2/19, 2014/2/26, 2014/3/5, 2014/3/12
血液学的検査及び血液生化学的検査	-1, 14, 28, 42, 56, 70, 84	2013/12/18, 2014/1/1, 2014/1/15, 2014/1/29, 2014/2/12, 2014/2/26 2014/3/12
BALF 採取及び送付	85	2014/3/13
血清サンプル送付	29 (-1~28) 57 (35~56) 85 (63~84)	2014/1/16 2014/2/13 2014/3/13

試験終了日: 2014年3月28日

## 5. 遵守基準及び参照ガイドライン

GLP: なし

ガイドライン: なし

## 6. 動物愛護

本試験は, 「動物の愛護及び管理に関する法律」及び「株式会社イナリサーチ動物実験指針」を遵守し, 試験施設の動物実験審査委員会 (IACUC) による審査を受けた試験計画書に従って適正に実施された。なお, 試験施設は AAALAC International により認証されている (認証番号: 001107)。

## 7. 材料及び方法

### 7.1 被験物質

名称	ロット番号	製造元, 製品名など	保存条件	保存場所
CHO 細胞由来 GM-CSF 製剤	GMJ121012	日本ケミカルリサーチ株式会社, ラボラベル品	冷凍 (許容範囲: -30°C~ -10°C)	被験物質 保管室のメ ディカル フリーザー
大腸菌由来 GM-CSF 製剤	201105A09	Xiamen Amoytop Biotech Co., Ltd, rHuGM-CSF		

提供元: 試験委託者から調製済みの投与液を入手した。

投与後残液の処置: 焼却専用の産業廃棄物容器に廃棄した。

残余分の処置: 試験委託者に返却した.

## 7.2 試験系

種: カニクイザル  
生産所: Hainan Jingang Biotech Co., Ltd. (中国)  
供給源: 株式会社 GMJ (輸入検疫場所: ハムリー株式会社)  
試験系選択の理由: ヒトの GM-CSF が生理活性を示す動物種を選択した.  
性別及び入手匹数: 雄: 4 匹

動物番号	識別番号	生年月日 (年/月/日)
DYM01	C1004017	2010/4/9
DYM02	C1005039	2010/5/6
DYM11	C1005047	2010/5/7
DYM12	C1003179	2010/3/29

動物選抜: 30 日間以上の法定検疫済のプール動物で、一般状態に異常のない動物を本試験用とした.

投与開始時齢: 3 歳  
使用開始時体重: 2.65~3.20 kg

## 7.3 飼育条件

飼育室: 521 号飼育室  
温度: 許容範囲: 22.0~28.0°C (実測値: 22.5~24.7°C)  
湿度: 許容範囲: 40.0~80.0% (実測値: 54.6~77.8%)  
換気回数: 許容範囲: 12~19 回/時間  
照明時間: 12 時間/日 (7 時から 19 時までの人工照明)  
給餌方法:  
給餌量: 100 g/匹/日 (ステンレス製給餌器使用)  
また、エンリッチメントとして、毎日バナナを約 1/4 本与えた.  
給餌時間: 9:00~13:00 の間  
ただし、投与日及び採血日は操作終了後に給餌した。また、BALF 採取日は採取後 2 時間以降に給餌した。  
残餌の廃棄: 翌朝、残餌が認められた場合には、記録後に廃棄した。  
なお、血液検査採血の前日は、夕刻 (16:00~17:00) に残餌がないことを確認した。  
給水方法: 自動給水装置から自由に摂取させた。  
ケージへの収容: ステンレス・高圧メラミン化粧板製ケージ (48W × 85D × 80H cm, エンリッチメント用のステンレス製遊具付き) に個別に収容した。  
ケージの交換: ケージ交換は行わず、毎日水洗した。

## 7.4 飼育材料と分析

### 7.4.1 飼料

名称:	PS-A (固型)
供給源:	オリエンタル酵母工業株式会社 (千葉)
ロット番号:	131001, 131112, 131224, 140115
分析:	
栄養組成及び微生物:	供給源でのロットごとの分析
重金属などの混入物:	第三者機関によるロットごとの分析 (分析機関: Eurofins Scientific 社, ドイツ)
分析結果:	試験評価に影響を及ぼす可能性のある混入物はなかった。

### 7.4.2 飲料水

種類:	市営上水道水
分析:	伊那市水道局による毎月の分析 (分析機関: 上伊那圏域水道水質管理協議会 水質管理センター) 飼育区域内から採取した水について, 年に4回の分析 (分析機関: 一般社団法人 上伊那薬剤師会)
分析結果:	試験評価に影響を及ぼす可能性のある混入物はなかった。

## 7.5 個体識別

動物:	動物入荷前 (生産所において実施) に, 胸部又は大腿内側に番号 (記号) が入墨されており, その番号によって動物を識別した。
ケージ:	ケージカードを用い, 動物入手日に試験番号, 種, 性別, 識別番号及び動物番号を表示した。

## 7.6 投与量

群	物質名	投与量 ( $\mu\text{g}/\text{body}$ )	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	投与容量 ( $\text{mL}/\text{body}$ )	動物番号
I	CHO 細胞由来 GM-CSF 製剤	15	30	0.5	DYM01, DYM02
II	大腸菌由来 GM-CSF 製剤	15	30	0.5	DYM11, DYM12

## 7.7 投与

投与時期:	Day 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, 26, 29, 33, 36, 40, 43, 47, 50, 54, 57, 61, 64, 68, 71, 75, 78, 82 (給餌前)
投与方法:	動物を保定し, キシロカイン 8% (キシロカイン <sup>®</sup> ポンプスプレー 8%, アストラゼネカ株式会社) の約 0.1~0.3 mL を口腔内に散布して喉頭を局所麻酔後, マイクロスプレイヤー (Penn-Century, Inc.) を用いて気管内に被験物質を投与した。 なお, 動物番号 DYM11 では Day 8 及び 12, また, DYM12 では Day 12 の投与時に動物が暴れたため, ケタミン (ケタミン注 5%「フ

ジタ」, フジタ製薬株式会社) 約 4 mg/kg を筋肉内投与して鎮静させた後, 投与を実施した.

## 7.8 観察及び検査

### 7.8.1 一般状態

観察対象: 全例  
観察時期: Day -2 (動物入手日) から Day 85 (BALF 採取日) まで  
観察頻度: 投与日: 1 日 2 回 (投与前及び投与後 30 分~1 時間)  
その他の日: 1 日 1 回 (午前中)  
観察方法: ケージの外からの個体別観察を実施した.

### 7.8.2 体重

測定対象: 全例  
測定時期: Day -1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84 (血清送付用採血日の採血前)  
使用機器: デジタル台ばかり FV-150K (株式会社エー・アンド・デイ)

### 7.8.3 体温

測定対象: 全例  
測定時期: Day -1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84 (血清送付用採血日の採血前)  
Day 85 (麻酔前及び麻酔からの覚醒後の給餌前の 2 回)  
測定方法: 電子体温計を用いて直腸内温度を測定した.

### 7.8.4 血液検査

#### 7.8.4.1 採血

検査対象: 全例  
検査時期: Day -1, 14, 28, 42, 56, 70, 84 の午前中 (給餌前)  
採血部位: 大腿静脈  
採血量:  
血液学的検査: 凝固の検査に 0.9 mL  
その他の検査に約 1 mL  
血液生化学的検査: 約 3 mL  
採血方法: 無麻酔で, ポリプロピレン製注射筒及び 22 ゲージの注射針 (いずれも滅菌済ディスポーザブル製品) を用いて採血し, 各検査の必要量を分注した.

#### 7.8.4.2 血液学的検査

使用機器:

- 総合血液学検査装置 ADVIA120 (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社, 以下 ADVIA120)
- 全自動血液凝固測定装置 CA-510 (シスメックス株式会社, 以下 CA-510)

血液の処理:

- ADVIA120: 抗凝固剤 EDTA-2K 入りの採血管に約 1 mL 分注した.
- CA-510: 抗凝固剤として 3.2 w/v%クエン酸ナトリウム液 0.1 mL を入れた採血管に, 抗凝固剤とあわせて 1.0 mL になるように分注し, 遠心分離 (1600 ×g, 10 分, 4°C) して血漿を採取した.
- 標本作製: 全例について, May-Grunwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本を作製した.

検査項目:

項目	略語	単位	測定方法	使用機種
赤血球数	RBC	10 <sup>6</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120
ヘモグロビン濃度	HGB	g/dL	シアンメトヘモグロビン変法	ADVIA120
ヘマトクリット値	HCT	%	(MCV×RBC)/10	ADVIA120
平均赤血球容積	MCV	fL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120
平均赤血球色素量	MCH	pg	(HGB/RBC)×10	ADVIA120
平均赤血球色素濃度	MCHC	g/dL	[HGB/(RBC×MCV)]×1000	ADVIA120
網赤血球 百分率	Retic	%	RNA 染色によるレーザーフローサイト	ADVIA120
網赤血球 絶対数		10 <sup>9</sup> /L	メトリー法	
血小板数	PLT	10 <sup>3</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120
白血球数	WBC	10 <sup>3</sup> /μL	2 角度レーザーフローサイトメトリー法	ADVIA120
白血球分類 <sup>a)</sup> 百分率	Diff	%	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメト	ADVIA120
白血球分類 <sup>a)</sup> 絶対数	WBC	10 <sup>3</sup> /μL	リー法+2 角度レーザーフローサイトメトリー法	
プロトロンビン時間	PT	s	光散乱検出方式	CA-510
活性化部分トロンボ プラスチン時間	APTT	s	光散乱検出方式	CA-510

<sup>a)</sup> 好中球 (Neut), リンパ球 (Lymph), 単球 (Mono), 好酸球 (Eos), 好塩基球 (Baso), 大型非染色球 (LUC)

### 7.8.4.3 血液生化学的検査

- 使用機器: 7180 形自動分析装置 (株式会社日立ハイテクノロジーズ)
- 血液の処理: ヘパリンナトリウム入りの採血管に分注し, 遠心分離 (約 1600 ×g, 10 分, 4°C) して血漿を採取した.
- 試料の保存: 試料の残余分は予備試料として-65°C 以下で凍結保存し, 最終報告書提出前に廃棄した.

検査項目:

項目	略語	単位	測定方法
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	AST	U/L	日本臨床化学会標準化対応法
アラニンアミノトランスフェラーゼ	ALT	U/L	日本臨床化学会標準化対応法
アルカリホスファターゼ	ALP	U/L	日本臨床化学会標準化対応法
乳酸デヒドロゲナーゼ	LD	U/L	日本臨床化学会標準化対応法
クレアチンキナーゼ	CK	U/L	日本臨床化学会標準化対応法

項目	略語	単位	測定方法
グルコース	GLU	mg/dL	酵素法 (Gluc-DH 法)
総ビリルビン	BIL	mg/dL	酵素法 (BOD 法)
尿素窒素	UN	mg/dL	酵素法 (ウレアーゼ-LEDH 法)
クレアチニン	CRE	mg/dL	酵素法
総コレステロール	CHO	mg/dL	酵素法 (コレステロール酸化酵素法)
中性脂肪	TG	mg/dL	酵素法 (GK-GPO・遊離グリセロール消去法)
リン脂質	PL	mg/dL	酵素法 (コリン酸化酵素法)
無機リン	IP	mg/dL	酵素法 (マルトースホスホリラーゼ法)
カルシウム	CA	mg/dL	OCPC 法
ナトリウム	NA	mEq/L	イオン選択電極法
カリウム	K	mEq/L	イオン選択電極法
クロール	CL	mEq/L	イオン選択電極法
総蛋白	TP	g/dL	ビウレット法
アルブミン	ALB	g/dL	BCG 法
アルブミン・グロブリン比	A/G	-	計算処理
C 反応性蛋白	CRP	mg/dL	ラテックス免疫比濁法

### 7.8.5 気管支肺胞洗浄液 (BALF) 採取

検査時期: Day 85 (給餌前)

BALF 採取方法:

麻酔: 塩酸メデトミジン 20  $\mu$ g/kg 及びミダゾラム 0.3 mg/kg を筋肉内投与して鎮静させた後、ケタミン 5 mg/kg を筋肉内投与した。麻酔中は、呼吸数、体温、心拍数を目視又は触診にてモニターした。

保定: 動物を仰臥位とし、四肢を伸ばした状態で保定した。

BALF 採取: キシロカイン 8% (キシロカイン<sup>®</sup>ポンプスプレー8%, アストラゼネカ株式会社) の約 0.3 mL を口腔内に散布して喉頭を局所麻酔した。喉頭鏡を用いて開口し、気管内に細径気管支ファイバースコープ (OES 気管支ファイバースコープ BF TYPE XP60, オリンパス株式会社) を経口的に挿入後、マウスピースを装着した。挿入中に 0.5%キシロカイン液の約 0.5 mL を数回、ファイバースコープの処理チャンネルを通して気管支内に散布した。ファイバースコープは右肺の中葉気管支 (B5) で楔状挿入して固定した。ファイバースコープの処理チャンネルを通して温生理食塩液を 1 回につき 5 mL 注入し、BALF を吸引して採取する操作を 6 回繰り返した。BALF の採取量を記録した。

覚醒: 終了後、アチパメゾール 0.3 mL を筋肉内投与して覚醒を促進した。

BALF の一般細菌及び真菌検査:

採取した BALF の 1 回目採取分の一部は、一般細菌及び真菌検査を実施するため、採取当日に冷蔵状態で以下の施設へ送付した。

社団法人予防衛生協会試験検査室  
〒305-0003 茨城県つくば市桜 1-16-2



BALF の譲渡: 採取した BALF の 1 回目採取分の残り及び 2 回目以降の採取分は凍結しないように注意し, 採取当日に試験委託者に直接譲渡した.

## 7.9 血清サンプル採取

採血時期: Day -1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84  
(給餌前)

採血部位: 大腿静脈

採血量: 約 7 mL (血清として 2.8 mL 以上)

採血方法: 動物を保定し, ポリプロピレン製シリンジ及び 22 ゲージの注射針 (いずれも滅菌済ディスポーザブル製品) を用いて採血した.

血液の処理: 採取した血液は, 凝固促進剤入りの採血管に入れ 30 分から 120 分間室温に静置後に遠心分離 (1600 ×g, 10 分, 4°C) して血清を分取した. 分取した血清は速やかに凍結した.

血清の保存場所: フリーザー室の超低温フリーザー

血清の保存条件: 凍結 (許容範囲: -95°C~-65°C, 実測値: -85.9°C~-81.7°C, 保存期間: 2013 年 12 月 18 日~2014 年 1 月 16 日, 2014 年 1 月 22 日~2 月 13 日, 2014 年 2 月 19 日~3 月 13 日)

血清の送付: ドライアイスと共に梱包し, 試験委託者へ送付した.

## 7.10 動物の処置

すべての動物は, 実験終了後 (2014 年 3 月 13 日) に試験から除外し, 試験施設の管理とした.

## 8. 試験計画書からの逸脱及び予見することができなかった事態

該当する事項は認められなかった.

## 9. 試験関係資料

処置: 最終報告書提出後 1 ヶ月以内に, 試験委託者に送付する.

送付対象: 試験計画書 (原本), 最終報告書 (原本), 生データ及び血液塗抹標本

## 10. 成績及び考察

### 10.1 一般状態

(Table 1)

いずれの動物にも, 摂餌を含めて異常は認められなかった.

### 10.2 体重

(Table 2)

いずれの動物にも, 異常な変動は認められなかった.

### 10.3 体温

(Table 3)

いずれの動物にも, 異常な変動は認められなかった.

## 10.4 血液学的検査

(Table 4)

CHO 細胞由来 GM-CSF 製剤群の 2 匹では、投与前と比較して、好中球及び好酸球数及び比が Day 28 まで増加する傾向が認められ、その後、漸減する傾向が認められた。また、これらの影響に伴い、相対的なリンパ球数及び比の変動が認められた。

大腸菌由来 GM-CSF 製剤群の 2 匹では、投与前と比較して、好中球数及び比が Day 14 から増加した。1 匹（動物番号 DYM11）では Day 84 に減少したが、他の 1 匹（動物番号 DYM12）では高値が持続した。また、好酸球数及び比が、1 匹（動物番号 DYM11）では Day 28 まで増加し、その後一定の高値を示した。他の 1 匹（動物番号 DYM12）では Day 28 まで増加し、その後、Day 56 には投与前と同程度まで減少した。その他、これらの影響に伴い、相対的なリンパ球数及び比の変動が認められた。

## 10.5 血液生化学的検査

(Table 5)

両群ともに、投与前と比較して、C 反応性蛋白が Day 28 又は 42 をピークとして漸増又は高値を示し、その後、低下する傾向が認められた。

## 10.6 BALF 採取

(Table 6)

各動物の BALF 採取量は 24.4～27.2 mL であり、両群に差はなかった。

## 10.7 BALF の一般細菌及び真菌検査

いずれの一般細菌及び真菌も陰性であった。

## 11. 結論

CHO 細胞及び大腸菌由来の 2 種の GM-CSF 製剤の間歇気管内投与により、GM-CSF に起因する好中球及び好酸球数の増加及び C 反応性蛋白の高値が認められた。また、好中球及び好酸球数において、CHO 細胞由来 GM-CSF では増加の後、減少する傾向が認められたが、大腸菌細胞由来 GM-CSF では CHO 細胞由来 GM-CSF と比較して、これらの増加が維持される傾向が認められた。

Table 1 Evaluation of Antibody Production by Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Clinical observations (males)

From Day -2 (Day of animal arrival) to Day 85 (Day of BALF sampling)

Group	Dose level	Animal No.	Findings
I CHO cell-derived GM-CSF	15 µg/body	DYM01	No abnormalities
		DYM02	No abnormalities
II Escherichia coli-derived GM-CSF	15 µg/body	DYM11	No abnormalities
		DYM12	No abnormalities

Table 2 Evaluation of Antibody Production by Recombinant Human Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Product in Cynomolgus Monkeys  
Body weight (males)

		Unit: kg													
Group	Dose level	Animal No.	Day												
			-1	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
I CHO cell-derived GM-CSF	15 µg/body	DYM01	3.20	3.20	3.35	3.40	3.45	3.50	3.45	3.55	3.50	3.50	3.50	3.55	3.55
		DYM02	2.75	2.80	2.75	2.80	2.75	2.85	2.90	2.90	2.85	2.85	2.85	2.85	2.85
II Escherichia coli-derived GM-CSF	15 µg/body	DYM11	2.65	2.60	2.55	2.60	2.65	2.70	2.75	2.80	2.80	2.80	2.75	2.85	2.85
		DYM12	2.70	2.70	2.60	2.55	2.55	2.60	2.65	2.65	2.65	2.65	2.65	2.70	2.70