目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.1 ラットの単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.2 サルの単回投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 11
2.6.6.3.1 分析法 12
2.6.6.3.2 ラットの反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.3 サルの反復投与毒性試験 15
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.5 がん原性試験 20
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 21
2.6.6.6.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 22
2.6.6.6.2 ラットの胚・胎児発生に関する試験 25
2.6.6.6.3 ウサギの胚・胎児発生に関する試験 28
2.6.6.6.4 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 31
2.6.6.7 局所刺激性試験 33
2.6.6.8 その他の毒性試験 34
2.6.6.9 考察及び結論 35
2.6.6.9.1 標的臓器毒性 37
2.6.6.9.2 臨床用量との対比 38
2.6.6.9.3 結論 40
2.6.6.10 図表 40
2.6.6.11 参考文献 40

表目次

表 2.6.6-1 毒性試験の一覧 5
表 2.6.6-2 単回投与毒性試験の一覧 10
表 2.6.6-3 反復投与毒性試験の一覧 11
表 2.6.6-4 生殖発生毒性試験の一覧 21
表 2.6.6-5 反復投与毒性試験における無毒性量及びヒト等価用量並びに安全域 39
表 2.6.6-6 生殖発生毒性試験における無毒性量及びヒト等価用量並びに安全域 39

略語一覧

略語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
4MUO	4-methylumbelliferyl oleate	4-メチルウンベリフェリルオレアート
4MU	4-methylumbelliferone	4-メチルウンベリフェロン
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AUC	Area Under the Concentration-time Curve	血中濃度―時間曲線下面積
CDER	Center for Drug Evaluation and Research	医薬品評価研究センター
C_{max}	Maximum observed serum concentration	最高血中濃度
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
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 Conference on Harmonization	医薬品規制調和国際会議
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
SD	Sprague-Dawley	－

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

セベリパーゼ　アルファ（SBC-102、表示濃度 2 mg/mL）は遺伝子組換えヒトライソゾーム酸性リパーゼであり、クエン酸三ナトリウム二水和物（13.7 mg/mL）、クエン酸一水和物（1.57 mg/mL）及びヒト血清アルブミン（10 mg/mL）を含有する製剤として供給され、静脈内持続投与前に滅菌生理食塩液で 1 : 1 に希釈する。Sprague-Dawley（SD）ラット及びカニクイザルでは、セベリパーゼ　アルファの薬理作用が発現することが期待されるため、薬理学的観点から安全性評価に適切な動物種と考えられた。以下に示した非臨床毒性試験計画は、複数の地域においてバイオ医薬品で要求される非臨床安全性試験に合致している（ICH-S6（R1）及び ICH-M3（R2））。セベリパーゼ　アルファの非臨床毒性試験（表 2.6.6-1）として、カニクイザルの単回投与毒性試験、SD ラット及びカニクイザルの 4 週間投与毒性試験並びにカニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試験を実施した。さらに、生殖発生毒性試験の予備試験を SD ラット及び New Zealand White ウサギでそれぞれ 1 試験、並びに本試験を SD ラットで 4 試験及び New Zealand White ウサギで 1 試験実施した。これらの試験に加えて、安全性薬理試験として、SD ラットで呼吸器系及び中枢神経系に対する影響並びにカニクイザルで心血管系に対する影響を検討した（2.6.2 薬理試験の概要文参照）。反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験は、経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施しており、この GLP は欧州共同体に加盟する行政当局、米国（食品医薬品局［FDA］）、日本（厚生労働省）及び OECD による GLP データ相互受け入れ加盟国で受け入れられている。毒性試験では、セベリパーゼ　アルファを予定臨床投与経路である静脈内持続投与により、10 mL/kg/h の投与速度で投与した。

表 2.6.6-1　毒性試験の一覧

試験種 投与期間	投与経路	動物種	被験物質 ロット番号	試験番号 （スポンサー試験番号）
単回投与毒性試験				
単回投与	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	サル /カニクイ	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	8234874 （SBC102-T003）[a]
反復投与毒性試験				
4 週間、 1 回/週	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]、[redacted]	8232384 （SBC102-T002）[b]
4 週間、 1 回/週	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	サル /カニクイ	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]、[redacted]	8232455 （SBC102-T001）[b]
6 ヵ月間、 1 回/週	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	サル /カニクイ	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]	20006580 （SBC102-T006）
生殖発生毒性試験				
受胎能（雄） 交配前 4 週間、交配期間中及び交配後 2～3 週間、 2 回/週（14 回以上）	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902526 （SBC102-T009）
受胎能（雌） 交配前 2 週間、交配期間中及び妊娠 7 日まで、 2 回/週	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902528 （SBC102-T010）
胚・胎児発生（予備） 妊娠 6～17 日、 1 回/3 日	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902522 （SBC102-T007）[b]
胚・胎児発生 妊娠 6～17 日、 1 回/3 日	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902524 （SBC102-T011）

表 2.6.6-1　毒性試験の一覧（続き）

試験種 投与期間	投与経路	動物種	被験物質 ロット番号	試験番号 （スポンサー試験番号）
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生（予備） 妊娠 7～19 日、 1 回/3 日	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ウサギ/New Zealand White	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902523（SBC102-T008）[b]
胚・胎児発生 妊娠 7～19 日、 1 回/3 日	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ウサギ/New Zealand White	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902525（SBC102-T012）
出生前及び出生後の発生 妊娠 6 日～授乳 17 日、 2 回/週	静脈内持続投与 10 mL/kg/h	ラット/SD	セベリパーゼ　アルファ ロット [redacted]	902527（SBC102-T013）

a　非 GLP 試験

b　これらの試験では、スポンサーにて実施した一部の分析（投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中抗薬物抗体［ADA］測定）は GLP に完全に準拠していない。詳細は最終報告書に記載した。

単回投与毒性試験では、カニクイザル（雄 1 例/群）にセベリパーゼ　アルファを 5 及び 40 mg/kg の用量で単回静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。5 及び 40 mg/kg 投与例ともに軽微から軽度で用量依存性のない総ビリルビン、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアルカリホスファターゼ（ALP）値の投与前値に対する増加が認められた。これらの変化はセベリパーゼ　アルファによる肝臓への軽微な影響を示している可能性があるが、試験施設における背景データの範囲内の変動であることからセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。反復投与毒性試験ではより高い用量で同様の変化は認められていない。

SD ラットの反復投与毒性試験では、1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。一般状態の変化として、投与期間中に鼻あるいは四肢先端部の腫脹が認められ、四肢先端部の皮膚の発赤もみられた。これらの発現頻度は用量依存的であり、投与当日に一過性に認められた。これらの所見は、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいてよく知られている反応であり、予測された反応であった。アルビノラットでは、多糖類及び糖タンパク質を腹腔内投与又は静脈内投与すると、充血、そう痒及び四肢の浮腫などのアナフィラキシー様反応を特徴とする急性炎症性反応を示すことが報告されてい

る（Parratt, 1958, *Br J Pharmacol Chemother*; Harris., 1967, *Br J Pharmacol Chemother*; Ankier, 1968, *Br J Pharmacol Chemother*; West, 1981, *Agents Actions*; Moodley, 1982, *Eur J Pharmacol*）。類似の即時型過敏症様反応は、他の遺伝子組換えヒト酵素補充療法治療薬である、Naglazyme（galsulfase［FDA/CDER、Pharmacology/Toxicology Review and Evaluation、2005 年 4 月 7 日；European Public Assessment Report、2006 年 1 月 24 日］）及び velaglucerase alfa（glucocerebrosidase［FDA/CDER、Pharmacology/Toxicology Review and Evaluation、2010 年 1 月 28 日；European Public Assessment Report、2010 年 8 月 26 日］）でも認められている。セベリパーゼ　アルファの毒性試験では、ジフェンヒドラミンの投与によりこれらの一般状態の変化は緩和された。セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はなく、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床病理検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化は認められなかった。

カニクイザルでは、セベリパーゼ　アルファをラットと同様の用量で投与しても、過敏症様反応を示す明らかな一般状態の変化は認められなかった。カニクイザルの反復投与毒性試験では、セベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間投与した際及び 1 回あたり最大 30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回 6 ヵ月間投与した際の忍容性は良好であった。6 ヵ月間投与毒性試験では 10 mg/kg 群の 1 例で投与 1 日に明らかなインフュージョン反応、すなわち自発運動の低下、顔面の発赤及び口角の泡がみられたが、投与期間の後半ではジフェンヒドラミンを前投与しなくても、インフュージョン反応はみられなかった。セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はなかった。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床病理検査、剖検及び器官重量測定ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられず、病理組織学的検査でもセベリパーゼ　アルファ投与に関連した明らかな変化は認められなかった。

セベリパーゼ　アルファはライソゾーム病の酵素補充療法治療薬として開発された遺伝子組換え酵素であり、DNA や染色体成分と直接相互作用するとは考えにくく、また、がん原性に関する懸念がないと考えられることから、ICH ガイドライン S6（R1）に従って、遺伝毒性試験及びがん原性試験を実施しなかった。

SD ラットの生殖発生毒性試験として、妊娠ラットに妊娠期間中に投与する胚・胎児発生に関する試験、雌雄ラットに交配前、交配期間中及び交配後に投与する受胎能及び初期胚発生に関する試験、並びに妊娠ラットに妊娠期間及び授乳期間中に投与する出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。これらの試験では、セベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 60 mg/kg の用量でおおよそ 3 日に 1 回静脈内持続投与した。これらの試験では、腫

脹及びひっかき行動などの一過性で生死にかかわらない一般状態の変化がみられたが、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいてよく知られている反応と考えられた。その発現時期及び程度は用量依存的で、概してジフェンヒドラミンの投与により緩和された。これに加えて、胚・胎児発生に関する試験並びに受胎能及び初期胚発生に関する試験では、より重度の過敏症反応が 4 回目以降の投与で認められた。雄ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では最高用量の 60 mg/kg 群で最も重度であったことを除くと、この反応は用量依存的ではなかった。これらの変化を除くと、ラットの生殖発生毒性試験では忍容性は良好であった。セベリパーゼ アルファに関連した母動物の死亡及び毒性はなく、胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。また、雌雄ラットの生殖能、受胎能及び初期胚発生に対する影響はなく、出生児の生存率、身体発育分化、感覚機能、初期行動発達及び生殖能に対する影響はなかった。

New Zealand White ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、忍容性は良好であった。予備試験では、妊娠ウサギにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で妊娠期間中に 3 日に 1 回静脈内持続投与した結果、母動物に対する影響はみられなかった。50 mg/kg のみで後期吸収胚数が増加し、胚致死作用がみられた。一方、例数を多くした本試験では最高用量の 50 mg/kg においても吸収胚数に影響はなく、胚致死作用はみられなかった。予備試験及び本試験ともに、セベリパーゼ　アルファに関連した母動物の死亡及び一般状態の変化はなく、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。

セベリパーゼ　アルファに対する抗薬物抗体（ADA）産生を毒性試験のうち 6 試験で検討した。いずれの試験においても、ADA 産生とセベリパーゼ　アルファの全身曝露量との間に明らかな関連はみられなかった。SD ラットでは、1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 4 週間投与した後に、セベリパーゼ　アルファ投与群の 90 例の大部分で ADA（80 例）及び中和抗体（77 例）が検出された。カニクイザルでは、1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 4 週間投与した後に、セベリパーゼ　アルファ投与群の 30 例中 3 例のみで ADA が検出されたが、中和抗体は検出されなかった。一方、1 回あたり最大 30 mg/kg の用量で 6 ヵ月間投与した後に、セベリパーゼ　アルファ投与群の 30 例中 23 例で ADA が検出され、6 例で中和抗体が検出された。妊娠動物に 1 回あたり最大 50 mg/kg（New Zealand White ウサギ）又は 60 mg/kg（SD ラット）の用量で妊娠期間中に投与した後に、ラットでは検討した 22 例中 3 例で、ウサギでは予備試験及び本試験でそれぞれ検討した 20 例中 12 例及び 12 例中 3 例で、ADA が検出された。このうち 1 試験（ウサギの予備試験）で中和抗体産生を検討した結果、中間用量の 10 mg/kg 群の 1 例で中和抗体が検出された。セベリパーゼ　アルファはトランスジェニックニワトリの卵白から精製した遺伝子組換えヒトヒトライソゾーム酸性リパーゼであるため、カニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試

験で抗[redacted]抗体産生を検討した。セベリパーゼ　アルファ投与により用量依存的な抗[redacted]反応がみられ、投与 176 日に 3、10 及び 30 mg/kg 群でそれぞれ 10 例中 6 例、8 例及び 10 例で抗体価の低い抗[redacted]抗体が陽性であった。

SD ラットの 4 週間投与毒性試験における無毒性量は 50 mg/kg と考えられた（体表面積に基づいたヒト等価用量は 8.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 2.7 倍に相当）。カニクイザルの 4 週間投与毒性試験における無毒性量は 50 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 16.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 5.4 倍に相当）。カニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試験における無毒性量は 30 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 9.7 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 3.2 倍に相当）。生殖発生毒性試験では、雄ラットの一般毒性に対する無毒性量は 20 mg/kg、雌雄ラットの受胎能、胚・胎児発生、母動物の一般毒性及び生殖能並びに F_1 世代の発育分化に対する無毒性量又は無影響量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた（それぞれ、ヒト等価用量は 3.2 及び 9.7 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 1.1 及び 3.2 倍に相当）。また、ウサギでは母動物の一般毒性及び胚・胎児発生に対する無影響量は最高用量の 50 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 16.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 5.4 倍に相当）。セベリパーゼ　アルファの安全域の範囲は他の遺伝子組換えライソゾーム酵素と類似していた。すなわち、Naglazyme、VPRIV 及び Vimizim では安全域は臨床用量の 1.8～3.7 倍であった（Naglazyme［galsulfase、FDA Approval Package、2005 年 3 月 31 日；European Public Assessment Report、2006 年 1 月 24 日］、VRPIV［velaglucerase alfa、FDA Approval Package、2010 年 2 月 26 日；European Public Assessment Report、2010 年 8 月 26 日］及び Vimizim［elosulfase alfa、FDA Approval Package、2014 年 2 月 14 日；European Public Assessment Report、2014 年 2 月 20 日］）。長期反復投与毒性試験で問題となる毒性所見がないことから、非臨床試験から得られた安全域はセベリパーゼ　アルファの製造販売承認申請においても許容されると考えられた。

非臨床の一般毒性試験及び生殖発生毒性試験では、SD ラット、カニクイザル及び New Zealand White ウサギにおいて、臨床試験で使用され、申請ラベリングで推奨される用量及び用法を超える用量で、セベリパーゼ　アルファは問題のない非臨床安全性プロファイルを示した。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

表 2.6.6-2　単回投与毒性試験の一覧

試験番号	投与期間	被験物質、用量、投与経路	動物種、系統	GLP 適用
[redacted] 8234874（SBC102-T003）	単回	セベリパーゼ　アルファ 5、40 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	サル/カニクイ	不適

2.6.6.2.1　ラットの単回投与毒性試験

ラットの単回投与毒性試験は実施していない。なお、ラットの 4 週間持続投与毒性試験では、初回投与後及びその後の投与期間並びに休薬期間中にセベリパーゼ　アルファに関連した変化は認められなかった（2.6.6.3.2 項参照）。

2.6.6.2.2　サルの単回投与毒性試験

カニクイザルの単回静脈内持続投与用量設定試験、[redacted] Study No. 8234874（SBC102-T003）

（4.2.3.1.1）

カニクイザル（2.7 及び 4.1 歳）にセベリパーゼ　アルファを単回静脈内持続投与した際の毒性を評価した。本試験は非 GLP 下で実施した。

方法

カニクイザル（雄 1 例/群）にセベリパーゼ　アルファを 5 及び 40 mg/kg の用量で単回静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 4 時間かけて投与した（40 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。セベリパーゼ　アルファ投与の 30 分前に全例にジフェンヒドラミン 5 mg/kg を筋肉内投与した。評価項目は、瀕死/死亡確認、一般状態観察、体重及び臨床病理検査とした。

結果

死亡はなかった。セベリパーゼ　アルファ投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。40 mg/kg 投与例では投与部位の発赤が認められたが、これは 4 時間拘束下で投与した際のカテーテル留置によるものと考えられた。痂皮及び鼻汁等のその他の一般状態の変化がみられた

が、発現頻度は低く、一過性であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連したものではないと考えられた。

血液学的検査では、3 日目に総白血球数及び好中球数の軽微から軽度の減少がみられたが、セベリパーゼ　アルファに関連した作用ではなく、試験操作への馴化（拘束及び静脈穿刺時の興奮の低下）によるものと推定された。血液生化学的検査では、5 及び 40 mg/kg 投与例で総ビリルビン値の用量依存性のない軽度の増加並びに ALT 及び ALP 値の軽微な増加が認められた。これらの変化はセベリパーゼ　アルファによる肝臓への軽微な影響を示している可能性があるが、検討した動物数が少なく、試験施設における背景データの範囲内の変動であることからセベリパーゼ　アルファに関連した変化ではないと考えられた。反復投与毒性試験ではより高い用量で同様の変化は認められていない。5 及び 40 mg/kg 投与例では血液凝固系検査及び尿検査に影響はなかった。

結論

以上の結果から、セベリパーゼ　アルファを 5 及び 40 mg/kg の用量で単回静脈内投与した際の忍容性は良好であった。本試験で検討した最高用量の 40 mg/kg まで死亡はなかった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

表 2.6.6-3　反復投与毒性試験の一覧

試験番号	投与期間	被験物質、用量、投与経路	動物種、系統	GLP 適用
[redacted] 8232384 （SBC102-T002）	4 週間	セベリパーゼ　アルファ 0（2 群）、5、20、50 mg/kg、1 週間に 1 回 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適[a]
[redacted] 8232455 （SBC102-T001）	4 週間	セベリパーゼ　アルファ 0、5、20、50 mg/kg、1 週間に 1 回 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	サル/カニクイ 投与開始時 2～3 歳	適[a]
[redacted] 20006580 （SBC102-T006）	6 ヵ月間	セベリパーゼ　アルファ 0、3、10、30 mg/kg、1 週間に 1 回 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	サル/カニクイ 投与開始時 雄 ; 2.3～2.9 歳、 雌 ; 2.5～2.9 歳	適

a　これらの試験では、スポンサーにて実施した一部の分析（投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中 ADA 測定）は GLP に完全に準拠していない。詳細は最終報告書に記載した。

2.6.6.3.1　分析法

ADA は酵素免疫測定法（ELISA）で、中和抗体は酵素活性測定法で検出した。ELISA では、セベリパーゼ　アルファをコーティングしたマイクロプレートで血清試料をインキュベートした。その後、ビオチン標識したセベリパーゼ　アルファを添加して、固相化セベリパーゼ　アルファに結合している ADA に結合させた。結合した ADA を、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識したストレプトアジビン及びペルオキシダーゼの存在下で発色団を生成する基質（3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン）を順次添加して検出した。このプレートの吸光度をマイクロプレートリーダーにより測定した。上記 ELISA で陽性と推定された試料については、免疫除去試験により、ADA の存在を確認した。すなわち、これらの試料をセベリパーゼ　アルファとプレインキュベーションして、ADA の分析プレート上の固相化セベリパーゼ　アルファへの結合をブロックした。その後、ELISA によりマイクロプレートの吸光度の減少を測定した。中和抗体の存在は、抗体陽性の血清試料をセベリパーゼ　アルファとインキュベーションし、酵素活性を測定することにより検出した。

血清試料中のリパーゼ酵素活性は、蛍光性基質である 4-メチルウンベリフェリルオレアート（4MUO）の分解により生成する蛍光性の 4-メチルウンベリフェロン（4MU）を励起波長 360 nm、蛍光波長 460 nm で検出することにより測定した。結果は相対蛍光強度で示した。30 分間における基質の分解量を 4MU の検量線から求めた。活性 1 単位は、37^{o}C で 1 分間に 1 µmol の 4MUO を分解させるために必要な酵素の量と定義した。

分析法のバリデーション報告書は 4.2.2.1 Analytical Methods and Validation Reports に添付した。

2.6.6.3.2　ラットの反復投与毒性試験

ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験及び 2 週間回復性試験、[redacted] Study No. 8232384（SBC102-T002）

（4.2.3.2.1）

SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 4 週間静脈内持続投与した際の毒性を評価するとともに、2 週間の休薬により、セベリパーゼ　アルファによる変化の可逆性、持続性及び遅延性発現を評価した。本試験は GLP に準拠して実施したが、スポンサーにて実施した一部の分析（投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中 ADA 測定）は GLP に完全には準拠していなかった。

方法

SD ラット（Hsd:Sprague Dawley®™SD®™、雌雄各 10 例/群）に溶媒（2 群）又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 5、20 及び 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 5 時間かけて投与した（50 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。回復性試験群（雌雄各 5 例/群）にも溶媒（1 群）又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 5、20 及び 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した。トキシコキネティクス動物として溶媒投与群（1 群）に雌雄各 3 例、各セベリパーゼ　アルファ投与群に雌雄各 9 例を設定した。セベリパーゼ　アルファ又は溶媒の静脈内持続投与により発生する可能性のある発赤又は腫脹の発現を緩和するために、セベリパーゼ　アルファ投与の 30 分以上前に、セベリパーゼ　アルファ投与群の全例にジフェンヒドラミン 5 mg/kg を筋肉内投与又は皮下投与した。溶媒投与群 2 群のうち 1 群の全例にもジフェンヒドラミンを同様に投与した。ライソゾーム病治療を目的とした酵素補充療法治療薬（ヒトタンパク質）を動物モデルで試験した前例に基づいて、この予防的前投与を設定した（Shull, 1994, *Proc Natl Acad Sci USA*; Bielicki, 1999, *J Biol Chem*; Vogler, 1999, *Pediatr Res*）。

各群雌雄各 10 例を 4 週間投与後に安楽死させ、残りの例を 2 週間休薬後に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（毎日）、体重測定（毎週）、摂餌量測定（毎週）、眼科学的検査（投与開始前、投与 4 週）、臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査；投与期間終了後の剖検日、休薬期間終了後の剖検日）、剖検及び器官重量測定（全例）、病理組織学的検査（対照群全例、50 mg/kg 群全例、死亡例又は瀕死解剖例の全例、5 及び 20 mg/kg 群の全ての肉眼病理学的変化）、ADA（投与開始前、投与期間終了後の剖検日、休薬期間終了後の剖検日）並びにトキシコキネティクス（投与 1 日、4 週）。さらに、機能観察総合評価法（投与開始前、投与 1 日、4 週）も実施した（2.6.2 薬理試験の概要文参照）。

結果

50 mg/kg 群（トキシコキネティクス群）の雄 1 例が投与 4 日に死亡した。当該例では投与 1 日及び 4 日に四肢先端部の腫脹及び赤色の被毛の汚れが観察された。この死亡は採血に直接関連するものではなかったが、当該例及び 50 mg/kg 群の他の例ではその他の毒性所見が認められなかったことから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連したものではないと考えられた。50 mg/kg 群（トキシコキネティクス群）の雌 1 例を投与 21 日にカテーテルの損傷のために安楽死させ、5 mg/kg 群の雌 1 例、20 mg/kg 群の雌 1 例及び 50 mg/kg 群の雌 1 例（いずれもトキシコキネティ

クス群）を投与 22 日にトキシコキネティクス用の採血後に死亡又は瀕死状態のため安楽死させた。

一般状態の変化として、投与期間中に雌雄で鼻あるいは四肢先端部の腫脹が認められ、四肢先端部の皮膚の発赤もみられた。これらの発現頻度は用量依存的であり、投与日に一過性に認められた。これらの所見は、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいてよく知られている反応であり、予測された反応であった。アルビノラットでは、多糖類及び糖タンパク質を腹腔内投与又は静脈内投与すると、充血、そう痒及び四肢の浮腫などのアナフィラキシー様反応を特徴とする急性炎症性反応を示すことが報告されている（Parratt, 1958, *Br J Pharmacol Chemother*; Harris., 1967, *Br J Pharmacol Chemother*; Ankier, 1968, *Br J Pharmacol Chemother*; West, 1981, *Agents Actions*; Moodley, 1982, *Eur J Pharmacol*）。なお、カニクイザルではセベリパーゼ アルファを類似の用量で投与しても、過敏症様反応を示す明らかな一般状態の変化は認められていない（2.6.6.3.3 項参照）。右後肢の使用が限定的であったが、ジフェンヒドラミンを右後肢に筋肉内投与した全群でみられたことから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。その他の一般状態の変化として、四肢先端部及び鼻以外の部位の腫脹、目又は生殖器からの分泌物、赤色の被毛の汚れ、びらんや痂皮などが認められたが、発現頻度は低いか、一過性であるか又は対照群と同等の頻度で認められることから、これらの一般状態の変化はセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。体重及び体重増加量では、投与期間を通じてセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。摂餌量については、雌では変化はなかったが、20 mg/kg 以上の群の雄では投与期間を通じて平均摂餌量が低値であった。この摂餌量の変化は、平均体重に対する影響がないことから毒性所見ではないと考えられた。眼科学的検査ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与期間終了時にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。セベリパーゼ　アルファ投与群と対照群の間で認められた差異はいずれも変化の程度が小さい又は用量依存性がないことから、偶発的なものと考えられた。機能観察総合評価法では、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。

投与期間終了時に剖検では、セベリパーゼ　アルファに関連した毒性を示す肉眼病理学的変化はなく、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した器官重量の変化は認められなかった。また、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。投与部位及びカテーテル挿入部位の病理組織学的変化が対照群を含む全例で認められた。このため、投与手

技に関連した変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた（2.6.6.7 項参照）。

休薬期間中及び終了後の検査で､セベリパーゼ　アルファに関連した変化は認められなかった。

5～50 mg/kg の範囲で用量の増加に伴い、全身曝露量は増加した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}29}$ の増加の割合は用量比よりも大きかった。概して雄では雌よりも C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}29}$ は高値であった。反復投与後にセベリパーゼ　アルファの蓄積性は認められなかった（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

5 及び 20 mg/kg 群の全例（それぞれ雌雄各 15 例）でセベリパーゼ　アルファを 4 週間投与後に ADA 及び中和抗体が陽性であった。50 mg/kg 群では 30 例中 20 例で ADA が陽性で、そのうち 17 例で中和抗体が陽性であった。トキシコキネティクス動物（雌雄各 9 例/群）の全例で ADA 及び中和抗体が陽性であった。50 mg/kg 群の 1 例を除く投与開始前の全例及び対照群の全例では、ADA は陰性であった。

結論

以上の結果から、SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。無毒性量は 50 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3.3　サルの反復投与毒性試験

サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験及び 2 週間回復性試験、[redacted] Study No. 8232455（SBC102-T001）

（4.2.3.2.2）

幼若カニクイザル（2～3 歳）にセベリパーゼ　アルファを 4 週間静脈内持続投与した際の毒性を評価するとともに、2 週間の休薬により、セベリパーゼ　アルファによる変化の可逆性、持続性及び遅延性発現を評価した。本試験は GLP に準拠して実施したが、スポンサーにて実施した一部の分析（投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中 ADA 測定）は GLP に完全には準拠していなかった。

方法

カニクイザル（雌雄各 3 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 5、20 及び 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 5 時間かけて投与した（50 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。回復性試験群（雌雄各 2 例/群）にも溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 5、20 及び 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した。溶媒又はセベリパーゼ　アルファ投与の 30 分以上前に、予防的前投与として全例にジフェンヒドラミン 5 mg/kg を筋肉内投与した（2.6.6.3.2 項参照）。

各群雌雄各 3 例を 4 週間投与後に安楽死させ、残りの例を 2 週間休薬後に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（毎日）、体重測定（毎週）、眼科学的検査（投与開始前、投与 4 週）、臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査；投与開始前、投与期間終了後の剖検日、休薬期間終了後の剖検日）、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査、ADA 測定（投与開始前、投与期間終了後の剖検日、休薬期間終了後の剖検日）及びトキシコキネティクス（投与 1 日、4 週）。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡は認められなかった。一般状態観察では、投与期間中に、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した明らかな変化はみられなかった。投与期間中に､体重及び体重増加量では､セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。5 mg/kg 群の雌 1 例で体重が 0.3 kg（-12%）減少したことを除くと、全例ともに投与期間中体重が同等で推移したか増加した。概して、投与期間中、全群で群平均体重の増加が認められた。臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）では、対照群とセベリパーゼ　アルファ投与群の間又は投与開始前と投与期間の間で、統計学的に有意な差又は明らかな差はほとんど認められなかった。認められた差異はいずれもカニクイザルにおける正常な変動と一致していることから、偶発的なものと考えられた。すなわち、認められた差異は、変化の程度が小さいもの、用量依存性がないもの、雌雄で一致しないもの、投与開始前に認められた差異と類似したもの及び対応する所見がみられないもののうち、2 つ以上で説明された。

眼科学的検査では、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。投与期間終了時に、剖検ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した肉眼病理学的変化はみられず、器官重量の変化も認められなかった。病理組織学的変化として、投与期間終了時及び休薬期間終了時ともに軽微から中等度の血管/血管周囲の炎症が、5 mg/kg 以上の群で、1 つ以上の臓器・組織で認められたが、発現頻度は低く（投与期間終了時及び休薬期間終了時を合わせて 1 群雌

雄各 5 例中 1～2 例）、かつ用量依存的ではなかった。休薬期間終了時に対照群の雌雄各 1 例で血管/血管周囲の炎症が認められていることから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。しかし、サルに溶媒あるいはヒトタンパク質を投与したことに対する原因不明の免疫原性反応である可能性は否定できない。投与部位及びカテーテル挿入部位の病理組織学的変化が対照群を含む全例で認められた。このため、投与手技に関連した変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた（2.6.6.7 項参照）。

休薬期間中及び終了後の検査で、セベリパーゼ　アルファに関連した変化は認められなかった。

5～50 mg/kg の範囲で用量の増加に伴い、全身曝露量は増加した。C_{max} 及び AUC_{0-29} の増加の割合は用量比よりも大きかった。C_{max} 及び AUC_{0-29} の雌雄での差は 2 倍以内であった。反復投与後にセベリパーゼ　アルファの蓄積性は認められなかった（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

投与開始前の全例及び対照群の全例で ADA は陰性であり、セベリパーゼ　アルファ投与群のほとんどの例ではセベリパーゼ　アルファを 4 週間投与後に ADA は陰性であった。すなわち、5 mg/kg 群では全例で陰性であった。20 及び 50 mg/kg 群では投与期間終了時にそれぞれ 2 例及び 1 例並びに休薬期間終了時にそれぞれ 1 例で ADA が陽性であることが確認された。抗体陽性を示した例では、中和活性は陰性であった。

結論

以上の結果から、カニクイザルにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、4 週間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。無毒性量は 50 mg/kg と考えられた。

サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験及び 2 週間回復性試験、[redacted] Study 20006580（SBC102-T006）

（4.2.3.2.3）

幼若カニクイザル（2.3～2.9 歳）にセベリパーゼ　アルファを 6 ヵ月間静脈内持続投与した際の毒性を評価するとともに、2 週間の休薬により、セベリパーゼ　アルファによる変化の可逆性、持続性及び遅延性発現を評価した。ICH ガイドライン S6（R1）の記載を参考にして、長期投与毒性試験の投与期間を 6 ヵ月間に設定した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

カニクイザル（雌雄各 3 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 3、10 及び 30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回､6 ヵ月間静脈内持続投与した｡投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 3 時間かけて投与した（30 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。回復性試験群（雌雄各 2 例/群）にも溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 3、10 及び 30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、6 ヵ月間静脈内持続投与した。カニクイザルの 4 週間投与毒性試験とは異なるが、サル類（カニクイザル）では概して多糖類や糖タンパク質の投与後にアナフィラキシー様反応を示さないと考えて、セベリパーゼ　アルファ投与の前に定期的なジフェンヒドラミンの予防的前投与を行わなかった。

各群雌雄各 3 例を投与 183 日（6 ヵ月間投与後）に安楽死させ、残りの例を 197 日（2 週間休薬後）に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（毎日）、体重測定（毎週）、摂餌量測定（毎日）、眼科学的検査（投与開始前、投与 26 週）、心電図検査（投与開始前、投与 4、26 週）、臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査；投与開始前、投与 4、13、26 週、休薬 2 週）、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査、ADA 及び抗[redacted]抗体測定（投与開始前、投与 26 週）並びにトキシコキネティクス（投与 1、106、176 日）。

結果

6 ヵ月間の投与期間を通じて、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡は認められなかった。体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床病理検査、剖検及び器官重量測定ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられず、病理組織学的検査でもセベリパーゼ　アルファ投与に関連した明らかな変化は認められなかった。セベリパーゼ　アルファ投与に関連すると考えられる変化は、10 mg/kg 群の雄 1 例で投与 1 日のみにみられた明らかなインフュージョン反応、すなわち自発運動の低下、顔面の発赤及び口角の泡に限られていた。ジフェンヒドラミンの投与により、これらの一般状態の変化は緩和された。また、当該例に 2 回目以降の投与前（投与 176 日を除く）にジフェンヒドラミンを投与したところ、その他のインフュージョン反応はみられなかった。なお、投与 176 日にはジフェンヒドラミンを投与しなかったが、インフュージョン反応はみられなかった。

病理組織学的検査において、30 mg/kg 群の雌 1 例で広範囲に散在する多巣性の軽微な心筋の変性及び線維化が認められた。本試験の他の動物では同様の変化はみられなかった。カニクイザルにおける自然発生性の心筋の変性及び線維化については公表論文で報告されている。その発

現頻度は、心筋の線維化で 0.1%（2050 例、Chamanza, 2006, *Toxicol Pathol*）、心筋の変性/線維化で 5.6%（570 例、Chamanza, 2010, *Toxicol Pathol*）並びに心筋の変性/壊死で 13%及び心筋の線維化で 4%（71 例、Vidal, 2010, *Toxicol Pathol*）であった。これらのことから、雌 1 例でみられた心臓の変化は偶発的変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。投与部位及びカテーテル挿入部位の病理組織学的変化が対照群を含む全例で認められた。このため、投与手技に関連した変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた（2.6.6.7 項参照）。

休薬期間終了後の検査で、セベリパーゼ　アルファに関連した変化は認められなかった。

投与 1 日及び 176 日ともに、3～30 mg/kg の範囲で全身曝露量は増加し、増加の割合は用量比よりも大きかった。全身曝露量に性差は認められなかった。投与 176 日に全身曝露量が 2 倍以上に増加した。全身曝露量の増加に対する正確なメカニズムは不明であるが、蓄積によるものではないと考えられる。濃度推移の全体的な形状から、少なくともセベリパーゼ　アルファの PK は速い α 分布相とそれに続く遅い β 消失相を示す 2-コンパートメントモデルに従うと考えられる。反復投与後の全身曝露量の増加に対して、反復投与後の受容体取り込みメカニズムの飽和により、細胞への取り込みが減弱し、中央コンパートメントすなわち血液中の曝露が増大することを説明することが可能である。また、同理由により、全身曝露量の増加の割合が用量比よりも大きいことも説明可能である（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

セベリパーゼ　アルファを投与した 30 例中 23 例で ADA が認められた（3、10 及び 30 mg/kg 群でそれぞれ 10 例中 9 例、7 例及び 7 例）。中和抗体は 6 例で認められた（10 mg/kg 群の 4 例及び 30 mg/kg 群の 2 例、抗体価は特定されず）。

バイオ医薬品では認められることであるが、製造工程に関連した不純物として、残留した宿主細胞の DNA あるいはタンパク質が含まれる可能性がある。セベリパーゼ　アルファはトランスジェニックニワトリの卵白から精製した遺伝子組換えヒトライソゾーム酸性リパーゼであることから、[redacted]、[redacted]又は[redacted]などの卵白タンパク質が不純物として含まれる可能性がある。[redacted]は未精製の卵白中に[redacted]存在する宿主細胞由来タンパク質であり、他の卵白タンパク質とともに ELISA で常にモニターしており、多くの場合[redacted] ppm 以下の濃度であった。投与 176 日には、セベリパーゼ　アルファ投与により用量依存的な抗[redacted]反応がみられ、3、10 及び 30 mg/kg 群でそれぞれ 10 例中 6 例、8 例及び 10 例で抗体価の低い抗[redacted]抗体が陽性であった。抗[redacted]抗体の抗体価は、3 mg/kg 群で[redacted]～[redacted]、10 mg/kg 群で[redacted]～[redacted] 及び 30 mg/kg 群で[redacted]～[redacted] であった。

30 mg/kg 群の 1 例で投与開始前に抗[redacted]抗体が陽性で、抗体価は[redacted] であったが、血清中のなんらかの成分と弱い反応を示した可能性が考えられる。対照群では、投与開始前及び投与 176 日のいずれにおいても抗[redacted]抗体は陰性であった。

結論

以上の結果から、カニクイザルにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり最大 30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回、6 ヵ月間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。無毒性量は 30 mg/kg と考えられた。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

ICH ガイドライン S6（R1）では、遺伝子組換えヒト酵素が DNA や染色体成分と直接相互作用するとは考えにくく、従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は、バイオ医薬品に対しては適切なものではなく必要とされないとされていることから、セベリパーゼ　アルファの遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

ICH ガイドライン S6（R1）では、バイオ医薬品においては作用メカニズム及び生物学的活性からがん原性に関する懸念がない場合に、標準的ながん原性試験は一般的に不適当とされていることから、セベリパーゼ　アルファのがん原性試験は実施しなかった。セベリパーゼ　アルファはライソゾーム病の酵素補充療法治療薬として開発された遺伝子組換え酵素であり、この条件に該当すると考えられる。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

表 2.6.6-4　生殖発生毒性試験の一覧

試験番号	投与期間	被験物質、用量、投与経路	動物種、系統	GLP適用
受胎能及び初期胚発生に関する試験				
[redacted] 902526（SBC102-T009）	交配前 4 週間、交配期間中及び交配後 2～3 週間、2 回/週（14 回以上）	セベリパーゼ　アルファ 0、6、20、60 mg/kg、雄のみ投与 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適
[redacted] 902528（SBC102-T010）	交配前 2 週間、交配期間中及び妊娠 7 日まで、2 回/週	セベリパーゼ　アルファ 0、6、20、60 mg/kg、雌のみ投与 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適
胚･胎児発生に関する試験				
[redacted] 902522（SBC102-T007）	妊娠 6～17 日、1 回/3 日	セベリパーゼ　アルファ 0、5、15、30、60 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適[a]
[redacted] 902524（SBC102-T011）	妊娠 6～17 日、1 回/3 日	セベリパーゼ　アルファ 0、6、20、60 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適
[redacted] 902523（SBC102-T008）	妊娠 7～19 日、1 回/3 日	セベリパーゼ　アルファ 0、3、10、25、50 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ウサギ /New Zealand White	適[a]
[redacted] 902525（SBC102-T012）	妊娠 7～19 日、1 回/3 日	セベリパーゼ　アルファ 0、10、25、50 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ウサギ /New Zealand White	適
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験				
[redacted] 902527（SBC102-T013）	妊娠 6 日～授乳 17 日、2 回/週	セベリパーゼ　アルファ 0、6、20、60 mg/kg 静脈内持続投与、10 mL/kg/h	ラット/SD	適

a　これらの予備試験では、スポンサーにて実施した一部の分析は GLP には完全に準拠していない：投与液分析（SBC102-T007）並びに投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中 ADA 測定（SBC102-T008）。その後に実施した試験（SBC102-T011 及び SBC102-T012）では、これらの分析も GLP に準拠して実施した。

2.6.6.6.1　ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雄ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験、[redacted]
Study 902526（SBC102-T009）

（4.2.3.5.1.1）

雄 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 A 及び B（交尾前～着床）に対する影響を評価した。雄 SD ラット（Crl:CD[SD]、22 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で交配前 28 日より、交配期間中を含めて剖検まで 1 週間に 2 回、静脈内持続投与した（最少で 14 回投与）。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 6 時間かけて投与した（60 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。過敏症反応を緩和するために、4 回目の溶媒又はセベリパーゼ　アルファ投与中及びその後の投与前にジフェンヒドラミン 5 mg/kg を皮下投与した。

雄動物は最長 21 日間、無処置雌動物（正常性周期）と交配させた。雄動物は投与 9 週に、交尾した雌動物は妊娠 13 日に剖検した。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（2 回/週）、体重測定（2 回/週）、摂餌量測定（2 回/週）、生殖能、剖検、器官重量、精子検査、精巣の病理組織学的検査、卵巣及び子宮の検査。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はみられなかった。対照群を含む全群で過剰なひっかき行動及び頭部あるいは鼻鏡部の腫脹などの過敏症反応を示す一般状態の変化が認められ、その発現時期には用量依存性が認められた。すなわち、60 mg/kg 群では初回投与から、6 及び 20 mg/kg 群と対照群では 1～4 週間遅れて発現し、その後の投与時にも認められた。これらの一般状態の変化は溶媒に関連した過敏症反応であり、セベリパーゼ　アルファ投与により増悪したことが示唆された。さらに、6 mg/kg 以上の群で非常に重度の過敏症反応が 4 回目の投与中に認められ、60 mg/kg 群で最も重度であった。4 回目の投与中に認められた一過性の一般状態の変化として、自発運動の低下、歩行異常、円背位、横臥、虚脱、筋緊張の低下、皮膚蒼白、眼瞼下垂、呼吸困難/異常呼吸あるいは呼吸数増加などが認められた。ジフェンヒドラミ

ンを投与したところ、概して、4 回目及びそれ以降の投与時の一般状態の変化は緩和された。対照群においても眼瞼下垂及び自発運動の低下が認められたが、試験の後半で発現した。

この他にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。体重は 6 mg/kg 以上の群と対照群で同等であった。摂餌量は、20 mg/kg 以上の群で一般状態の変化が発現しはじめた時期に相当する投与 14～17 日に軽度（-7%）に減少し、統計学的有意差（P≦0.05）が認められた。この変化は一過性であることから、毒性とは考えられなかった。6 mg/kg 群では摂餌量の変化は認められなかった。平均交配所要日数、交尾率、受胎率及び雌動物の妊娠率はセベリパーゼ　アルファ投与群と対照群で同等であった。精子検査パラメータにセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。剖検、器官重量及び病理組織学的検査（精巣他）ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。

結論

雄 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で、交配前 28 日より、交配期間中を含めて剖検まで 1 週間に 2 回、約 6 時間静脈内持続投与した結果、4 回投与で過敏症反応に関連した重度の影響が認められた。60 mg/kg を除いて、忍容性は良好であった。生殖能、受胎能及び初期胚発生に対する影響はみられなかった。これらの結果から、雄動物の一般毒性に対する無毒性量は 20 mg/kg、受胎能及び初期胚発生に対する無影響量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた。

雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験、[redacted]
Study 902528（SBC102-T010）

（4.2.3.5.1.2）

雌 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 A 及び B（交尾前～着床）に対する影響を評価した。雌 SD ラット（Crl:CD[SD]、22 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で 1 週間に 2 回、交配前 14 日より交配期間中を含めて妊娠 7 日まで、静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 6 時間かけて投与した（60 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。過敏症反応を緩和するために、4 回目の溶

媒又はセベリパーゼ　アルファ投与中及びその後の投与前にジフェンヒドラミン 5 mg/kg を皮下投与した。

雌動物は最長 14 日間、無処置雄動物と交配させた。交尾した雌動物は妊娠 13 日に剖検した。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（投与日あるいは体重測定日）、体重及び摂餌量測定（交尾成立まで 2 回/週、妊娠 0、3、7、10、13 日）、性周期（交尾成立まで毎日）、生殖能、剖検、卵巣及び子宮の検査。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はみられなかった。対照群を含む全群で、一過性で生死にかかわらない、過敏症反応を示す一般状態の変化（自発運動の低下、皮膚の発赤、頭部/鼻鏡部の腫脹あるいは過剰なひっかき行動）が投与日に認められた。発現頻度は対照群を含め全群で同様であり、概して初回投与から発現し、妊娠期間中も持続していた。60 mg/kg 群では、一過性の前肢先端部及び後肢の腫脹並びに耳介の発赤も認められ、溶媒に関連した過敏症反応がセベリパーゼ　アルファ投与により増悪したことが示唆された。さらに、非常に重度の過敏症反応として、6 及び 20 mg/kg 群で 4 回目の投与中に協調運動の失調あるいは横臥、歩行異常、呼吸困難あるいは呼吸数増加が認められた。ジフェンヒドラミンを投与したところ、概して、4 回目及びそれ以降の投与時の一般状態の変化は緩和された。

この他にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。体重及び摂餌量にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。発情期の日数、性周期の数及び性周期の平均日数にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。平均交配所要日数、交尾率、受胎率及び雌動物の妊娠率にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。黄体数、着床数、生存胚数、死亡胚数、早期吸収胚数、着床前死亡率及び着床後死亡率にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。
6 mg/kg 以上の群の各 1 例で全胚吸収が認められたが、試験実施施設の背景データの範囲内であった。全胚吸収例を含めると、6 mg/kg 群の平均早期吸収胚数（2.0）及び着床後死亡率（12.2%）は試験実施施設の背景データの上限（それぞれ 0.4～1.6 及び 2.6～10.9%）を超えるが、用量依存性がないこと及び全胚吸収例を除くといずれも背景データの範囲内に入ることから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。剖検ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。

結論

雌 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で 1 週間に 2 回、交配前 14 日より、交配期間中を含めて妊娠 7 日まで約 6 時間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。なお、6 及び 20 mg/kg 群では 4 回投与で過敏症反応に関連した重度の影響が認められたが、60 mg/kg 群ではみられなかった。対照群を含む全群で過敏症反応に関連した重篤ではない一般状態の変化が、概して初回投与から認められた。生殖能、受胎能及び初期胚発生に対する影響はみられなかった。これらの結果から、雌動物の一般毒性に対する無毒性量並びに受胎能及び初期胚発生に対する無影響量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.2　　ラットの胚・胎児発生に関する試験

ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験、[redacted] Study 902522（SBC102-T007）

（4.2.3.5.2.1）

妊娠 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の妊娠及び胚･胎児発生に対する影響を予備的に検討するとともに､引き続き実施するラットの胚･胎児発生に関する試験における用量選択のための情報を収集した。本試験は GLP に準拠して実施したが、スポンサーにて実施した投与液分析は GLP に完全には準拠していなかった。しかし、ラットの胚・胎児発生に関する試験（SBC102-T011）の用量設定は達成されていることから、試験の評価に影響を及ぼさないと考えられた。なお、SBC102-T011 試験内では同様の分析を GLP に準拠して実施している。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 C 及び D（着床～妊娠終了）に対する影響を評価した。交配を確認した雌 SD ラット（Crl:CD[SD]、6 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 5、15、30 及び 60 mg/kg の用量で妊娠 6、9、12、15 及び 17 日に静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし､約 6 時間かけて投与した（60 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。ジフェンヒドラミンの予防的前投与は実施しなかった。

全例を妊娠 21 日に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした : 瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察及び体重（妊娠 0、3、6、9、12、15、18、21 日）、摂餌量測定（妊娠 3、6、9、12、15、18、21 日）、剖検、卵巣及び子宮の検査並びに胎児の体重測定及び外表検査。

結果

死亡はみられなかった。体重にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はなかった。セベリパーゼ　アルファ投与に関連した一般状態の変化は各投与日に認められ、その発現時期及び程度は用量依存的であった。すなわち、5 mg/kg 以上の群で鼻鏡部及び頸部腹側の腫脹並びに頭蓋部の腫脹が、15 mg/kg 以上の群で過剰なひっかき行動並びに四肢先端部及び四肢の腫脹がみられた。対照群を含む全群で皮膚の発赤及び痂皮が腋窩部、胸部の腹側及び背側に認められたが、試験方法に関連した変化（溶媒投与に対する反応の可能性など）と考えられた。30 mg/kg 以上の群で摂餌量が一過性に減少した。黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数、性比並びに着床前及び着床後死亡率にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はなかった。剖検ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はなかった。胎児体重及び胎児の外表検査ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はなかった。

結論

妊娠 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 5、15、30 及び 60 mg/kg の用量で妊娠 6、9、12、15 及び 17 日に約 6 時間静脈内持続投与した結果、5 mg/kg 以上の群で投与日に用量依存的な一般状態の変化がみられ、30 mg/kg 以上の群で一過性の摂餌量の減少がみられた。胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はなかった。

ラットの胚･胎児発生に関する静脈内持続投与試験、[redacted] Study 902524（SBC102-T011）

（4.2.3.5.2.2）

ラットの予備試験（SBC102-T007）に引き続いて、妊娠 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の妊娠及び胚･胎児発生に対する影響を検討した。妊娠ラットにおけるトキシコキネティクス及び ADA 産生についても検討した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 C 及び D（着床～妊娠終了）に対する影響を評価した。交配を確認した雌 SD ラット（Crl:CD[SD]、22 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で妊娠 6、9、12、15 及び 17 日に静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 6 時間かけて投与した（60 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。トキシコキネティクス動物として溶媒投与群に 2 例、各セベリパー

ゼ　アルファ群に各8例を設定した。過敏症反応を緩和するために4回目の溶媒又はセベリパーゼ　アルファ投与中及びその後の投与前にジフェンヒドラミン5 mg/kgを皮下投与した。

毒性試験群の全例を妊娠21日に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1日2回）、一般状態観察及び体重測定（妊娠0、3、6、9、12、15、18、21日）、摂餌量測定（妊娠3、6、9、12、15、18、21日）、トキシコキネティクス（妊娠17日）、ADA測定（投与開始前、妊娠18日）、剖検、卵巣及び子宮の検査並びに胎児の体重測定及び形態検査。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はみられなかった。6 mg/kg以上の群で投与中に、一過性でセベリパーゼ　アルファ投与に関連した、前肢先端部、後肢先端部あるいは鼻鏡部の腫脹が認められ、その発現時期及び程度は用量依存的であった。すなわち、60 mg/kg群の全例及び20 mg/kg群の数例では妊娠6日（初回投与）から、6 mg/kg群の数例では妊娠9日（2回目投与）から発現した。さらに、6 mg/kg以上の群で妊娠15日（4回目投与）に、より重度の過敏症反応を示す一般状態の変化が認められたが、用量依存性はみられなかった。これらの一般状態の変化として、自発運動の低下、眼瞼下垂、横臥又は虚脱が認められた。また、6 mg/kg以上の群の各1例で呼吸困難、呼吸数増加又は異常呼吸音も認められた。これらの一般状態の変化を緩和するためにジフェンヒドラミンを投与した。対照群を含む全群で皮膚の発赤及び痂皮が腋窩部、胸部の腹側及び背側に認められたが、投与方法あるいは溶媒の投与に関連した変化と考えられた。体重、摂餌量、剖検所見、卵巣及び子宮所見及び胎児検査ではセベリパーゼアルファ投与に関連した変化はなかった。

6～60 mg/kgの範囲で全身曝露量は増加し、増加の割合は用量比よりも大きかった（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

対照群の全例では、ADAは陰性であった。20 mg/kg群の3例でADAが陽性であった。ADA産生とトキシコキネティクスの間に明らかな関連はみられなかった。

結論

妊娠SDラットにセベリパーゼ　アルファを6、20及び60 mg/kgの用量で妊娠6、9、12、15及び17日に約6時間静脈内持続投与した結果、6 mg/kg以上の群で投与日に用量依存的な一般状態の変化がみられた。胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はなかった。以上の結果から、

母動物の一般毒性に対する無毒性量及び胚・胎児発生に対する無影響量は 60 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.3　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験

ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験、[redacted] Study 902523（SBC102-T008）

（4.2.3.5.2.3）

妊娠 New Zealand White ウサギにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の妊娠及び胚･胎児発生に対する影響を予備的に検討するとともに、引き続き実施するウサギの胚･胎児発生に関する試験における用量選択のための情報を収集した。妊娠ウサギにおけるトキシコキネティクス及び ADA 産生についても検討した。本試験は GLP に準拠して実施したが、スポンサーにて実施した一部の分析（投与液分析、血清中薬物濃度測定及び血清中 ADA 測定）は GLP に完全には準拠していなかった。しかし、ウサギの胚・胎児発生に関する試験（SBC102-T012）の用量設定は達成されていることから、試験の評価に影響を及ぼさないと考えられた。なお、SBC102-T012 試験内では同様の分析を GLP に準拠して実施している。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 C 及び D（着床～妊娠終了）に対する影響を評価した。人工授精した雌 New Zealand White ウサギ（Hra[NZW]SPF、5 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 3、10、25 及び 50 mg/kg の用量で妊娠 7、10、13、16 及び 19 日に静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 5 時間かけて投与した（50 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。ジフェンヒドラミンの予防的前投与は実施しなかった。

全例を妊娠 29 日に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした：瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察及び体重（妊娠 0、3、7、10、13、16、19、20、23、26、29 日）、摂餌量測定（毎日）、トキシコキネティクス（妊娠 7、19 日）、ADA 測定（妊娠 20 日）、剖検、卵巣及び子宮の検査並びに胎児体重及び外表検査。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はみられなかった。一般状態観察、体重及び摂餌量測定並びに剖検ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。各群で80%以上の動物が妊娠していた。50 mg/kg 群では後期吸収胚数が増加した結果、対照群及び試験実施施設の背景データのいずれよりも生存胎児数が減少し、着床後死亡率が上昇した。すなわち、50 mg/kg 群の 5 例中 2 例で後期吸収胚数が 4 及び 8 と、対照群（2 例でそれぞれ 1）及び試験実施施設の背景値（0～0.7）よりも増加した。

黄体数、着床数及び着床前死亡率に影響はなく、死亡胎児はみられなかった。胎児体重にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。胎児の外表異常及び変異はみられなかった。

25～50 mg/kg の範囲では全身曝露量は用量比に比例して増加した。3～25 mg/kg の範囲では全身曝露量の増加の割合は用量比よりも著明に大きかった。反復投与後に、3 及び 10 mg/kg では全身曝露量が増加したが、25 及び 50 mg/kg では全身曝露量が減少した（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

対照群の全例では ADA は陰性であった。セベリパーゼ　アルファ投与群では 20 例中 12 例（3、10、25 及び 50 mg/kg 群のそれぞれ 5 例中 5 例、3 例、3 例及び 1 例）で ADA が陽性であった。このうち 10 mg/kg 群の 1 例では中和抗体が陽性であった。ADA 産生とトキシコキネティクスの間に明らかな関連はみられなかった。

結論

妊娠 New Zealand White ウサギにセベリパーゼ　アルファを 3、10、25 及び 50 mg/kg の用量で妊娠 7、10、13、16 及び 19 日に約 5 時間静脈内持続投与した結果、母動物に対する影響はみられなかった。50 mg/kg 群では後期吸収胚数が増加し、胚致死作用が認められた。50 mg/kg まで胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。

ウサギの胚･胎児発生に関する静脈内持続投与試験、[redacted] Study 902525（SBC102-T012）

（4.2.3.5.2.4）

ウサギの予備試験（SBC102-T008）に引き続いて、妊娠 New Zealand White ウサギにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の妊娠及び胚･胎児発生に対する影響を検討した。妊娠ウサギにおけるトキシコキネティクス及び ADA 産生についても検討した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 C 及び D（着床～妊娠終了）に対する影響を評価した。人工授精した雌 New Zealand White ウサギ（Hra[NZW]SPF、22 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 10、25 及び 50 mg/kg の用量で妊娠 7、10、13、16 及び 19 日に静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 6 時間かけて投与した（50 mg/kg 群では約 8.3 mg/kg/h に相当）。トキシコキネティクス動物として溶媒投与群に 2 例、各セベリパーゼ　アルファ群に各 4 例を設定した。ジフェンヒドラミンの予防的前投与は実施しなかった。

毒性試験群の全例を妊娠 29 日に安楽死させた。

評価項目は以下の項目とした : 瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察及び体重（妊娠 0、4、7、10、13、16、20、23、26、29 日）、摂餌量測定（毎日）、トキシコキネティクス（妊娠 7、19 日）、ADA 測定（投与開始前、妊娠 20 日）、剖検、卵巣及び子宮の検査並びに胎児の体重測定及び形態検査。

結果

セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡及び一般状態の変化はみられなかった。体重及び摂餌量測定並びに剖検では、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。母動物パラメータにセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。また、卵巣及び子宮検査パラメータに影響はなかった。胎児体重及び形態検査ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。

妊娠 7 日では 10～50 mg/kg の範囲で全身曝露量は増加し、増加の割合は用量比よりも大きかった。妊娠 19 日では全身曝露量は妊娠 7 日とほぼ同等であった（2.6.4 薬物動態試験の概要文参照）。

投与開始前期間及び対照群の全例では ADA は陰性であった。セベリパーゼ　アルファ投与群では 12 例中 3 例（10、25 及び 50 mg/kg 群で 4 例中それぞれ 2 例、1 例及び 0 例）で妊娠 20 日に ADA が陽性であった。ADA 産生とトキシコキネティクスの間に明らかな関連はみられなかった。

結論

妊娠 New Zealand White ウサギにセベリパーゼ　アルファを 10、25 及び 50 mg/kg の用量で妊娠 7、10、13、16 及び 19 日に約 6 時間静脈内持続投与した結果、母動物に対する影響はみられなかった。また、50 mg/kg まで胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。以上の結果から、母動物の一般毒性及び胚・胎児発生に対する無影響量は 50 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.4　　ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験、[redacted] Study 902527（SBC102-T013）

（4.2.3.5.3.1）

SD ラットにセベリパーゼ　アルファを静脈内持続投与した際の妊娠、分娩及び授乳、さらに F_1 出生児の発育、生存、行動及び生殖能に対する影響を検討した。本試験は GLP に準拠して実施した。

方法

本試験では、ICH ガイドライン S5（R2）で示された生殖発生過程 C から F（着床～性成熟）に対する影響を評価した。交配を確認した雌 SD ラット（Crl:CD[SD]、24 例/群）に溶媒又はセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で妊娠 6、9、12、15、18 及び 20 日並びに授乳 4、7、10、14 及び 17 日に静脈内持続投与した。投与速度は約 10 mL/kg/h とし、約 6 時間かけて投与した（60 mg/kg 群では約 10 mg/kg/h に相当）。ジフェンヒドラミンの予防的前投与は実施しなかった。

母動物は自然分娩させ、出生児の離乳後（授乳 21 又は 23 日）に剖検した。出生児は授乳 4 日に一腹あたり雌雄各 4 例に調整した。授乳 21 日の直前に一腹あたり雌雄各 1 例を離乳後検査のために選抜した。残りの出生児は離乳後（授乳 21 又は 23 日）に剖検した。選抜された雌雄各 1 例の出生児のうち、雌は妊娠 13 日に、雄は交配期間終了後 2 週に剖検した。

評価項目は以下の項目とした：

F_0 母動物；瀕死/死亡確認（1 日 2 回）、一般状態観察（毎日）、体重測定（妊娠 0、3、6、9、12、15、18、20 日、授乳 0、4、7、10、14、17、21 日）、摂餌量測定（妊娠 3、6、9、12、15、18 日）、母動物の機能、剖検、病理組織学的検査（一部の臓器組織）

F_1出生児；出生時及びその後の生存率、一般状態観察、体重、視覚機能、反射、身体発育分化及び初期行動発達、生殖機能、剖検、病理組織学的検査（一部の臓器組織）

結果

F_0母動物では、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はみられなかった。妊娠期間中に、対照群を含む全群で投与開始後に一般状態の変化（腫脹あるいは過剰なひっかき行動）が認められ、授乳期間中にも程度は軽かったが認められた。発現時期及び程度は用量依存的な傾向を示し、6 mg/kg 以上の群では妊娠 6 日（初回投与）から、対照群では妊娠 9 日（2 回目投与）から認められた。これらの一般状態の変化は一過性で生死にかかわらないものであり、溶媒に関連した過敏症反応がセベリパーゼ　アルファ投与により増悪したことが示唆された。この他にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。母動物の体重及び摂餌量測定、剖検並びに病理組織学的検査ではセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。妊娠期間、妊娠率、出産率、性比、生存出生児数、死亡児数及び形態異常を有する出生児数にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。20 mg/kg 群で死亡児数が増加し、統計学的有意差（P≦0.01）が認められた。これは母動物 2 例で喰殺がみられためと考えられ、20 mg/kg 群における 23 死亡児のうちこの 2 母動物で 22 児が死亡した。母動物による喰殺は対照群の 1 例及び 60 mg/kg 群の 1 例でも認められており、死亡児を有する母動物数の増加を伴わない死亡児数の増加はセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。20 mg/kg 群では着床痕数がやや少なかった（-8%）が、着床後に投与を開始していることから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。少なくとも一部はこれらの要因に関連して、20 mg/kg 群では生存出生児数及び出生率が減少した（それぞれ-18%及び-8%）。

F_1出生児では、一般状態、生存率、成長、身体発育分化、初期行動発達及び生殖能にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。出生時及びその後の生存率並びに哺育率に影響はなかった。出生から離乳まで、出生児の体重に影響はなかった。耳介の開展、眼瞼開裂、立ち直り反射及び聴覚性驚愕反射にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。離乳前に死亡又は安楽死させた出生児に、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した外表及び内臓異常はみられなかった。対照群の雄 1 例が生後 63 日に死亡した。剖検及び病理組織学的検査でも死因は不明であった。20 mg/kg 群の雌では妊娠期間中（妊娠 0～13 日）の体重増加量が減少した（-13.5%）が、妊娠 13 日の体重に統計学的に有意な低下がないことから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。瞳孔反射、視覚性置き直し反応、自発運動パラメータ及び遊泳試験成績にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化は

みられなかった。身体発育分化では、陰茎亀頭と包皮の分離及び膣開口が認められた日数に影響はなかった。なお、20 mg/kg 群の雄では陰茎亀頭と包皮の分離が認められた日の体重が減少し、統計学的有意差（-8%）が認められた。聴覚性驚愕順化パラメータにセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。6 mg/kg 群の雄で検査開始時の聴覚性驚愕反応の linear time contrast（反応強度の時間的推移を示すパラメータ）に統計学的な有意差が認められたが、用量依存性がないことから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。6 mg/kg 群の雄では平均驚愕反応強度、最大驚愕反応強度及び最大驚愕反応潜時に変化はなく、6 mg/kg 群の雌では影響はなかった。平均交配所要日数、交尾率、受胎率、雌動物の妊娠率、黄体数、着床数、生存胚数、死亡胚数、早期吸収胚数、着床前死亡率及び着床後死亡率にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。F_1 世代の出生児及び成熟した動物にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した死亡はなく、剖検及び病理組織学的検査で変化はみられなかった。

結論

雌 SD ラットにセベリパーゼ　アルファを 1 回あたり 6、20 及び 60 mg/kg の用量で妊娠 6、9、12、15、18 及び 20 日並びに授乳 4、7、10、14 及び 17 日に約 6 時間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。対照群を含む全群の母動物で、投与日に一過性で生死にかかわらない、用量依存的な一般状態の変化が認められた。その他に母動物に対する影響は認められなかった。この結果から、母動物（F_0 世代）の一般毒性及び生殖能（分娩及び授乳）に対する無毒性量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた。出生児（F_1 世代）では、生存率、身体発育分化、感覚機能、初期行動発達及び生殖能に影響はなかった。このため、F_1 世代に対する無毒性量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた。

2.6.6.7　局所刺激性試験

局所刺激性は 4 週間及び 6 ヵ月間投与毒性試験の一部として評価していることから、局所刺激性試験は実施していない。投与部位に変化が認められたが、局所刺激性は許容されるものと考えられた。

SD ラットの 4 週間投与毒性試験（2.6.6.3.2 項参照）では、投与部位あるいはカテーテル挿入部位の病理組織学的所見として、血管壁あるいは周囲組織の慢性活動性炎症、血管内膜増殖、血管中膜線維化、及びまれに部分的又は完全静脈閉塞を伴う大腿静脈の血栓又は膿瘍が認められた。これらの部位における慢性活動性炎症はベリパーゼ　アルファ投与群とジフェンヒドラミ

ンを前処置した対照群で同程度に認められた。一方、ジフェンヒドラミンを前処置しなかった対照群では認められておらず、ジフェンヒドラミン前処置が炎症に関連している可能性が示唆された。休薬期間終了後の皮膚/皮下組織、投与部位あるいはカテーテル挿入部位の組織病理学的所見は、概して単発的な変化あるいは軽微から軽度の変化であった。これらの所見は対照群及びセベリパーゼ　アルファ投与群ともにみられたことから、試験中のカテーテル操作に起因するものであり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。

同様に、カニクイザルの 4 週間投与毒性試験（2.6.6.3.3 項参照）では、対照群及びセベリパーゼ　アルファ投与群で投与部位あるいはカテーテル挿入部位に慢性/慢性活動性炎症が認められており、静脈アクセスポート又はカテーテルに対する局所の反応であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。休薬期間終了後に中間用量群の雄 1 例で、投与部位の皮膚/皮下組織に慢性活動性炎症が認められたが、静脈アクセスポート部位における局所の感染又は炎症による可能性が高く、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。

カニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試験（2.6.6.3.3 項参照）では、カテーテル挿入部位及びカテーテル先端部の病理組織学的変化として、線維化、慢性炎症、血栓、肉芽腫などが認められた。これらは投与方法に関連した変化としてよく観察される所見であり、対照群を含む全群で同様に認められた。このため、投与手技に関連した変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。

2.6.6.8　その他の毒性試験

その他の毒性試験については実施していない。

セベリパーゼ　アルファは酵素補充療法治療薬であり、免疫系に影響を与えることは予想されておらず、毒性試験で免疫系に対する影響は認められていないため、セベリパーゼ　アルファの免疫毒性試験は実施していない。非臨床試験では、トキシコキネティクスに対する影響及び抗体産生に関連する毒性の可能性を評価するために、ADA 産生について検討している。

酵素補充療法に用いるタンパク質医薬品は、薬物乱用性又は依存性を示す作用を持たないと考えられることから、薬物乱用性に関する試験を実施しても意味のある情報が得られるとは考えられない。このため、セベリパーゼ　アルファの薬物乱用性に関する試験は実施していない。

セベリパーゼ　アルファは非臨床安全性薬理試験において末梢神経系及び中枢神経系に安全性に関連する変化を示していない。

毒性試験で製造工程あるいは製剤に関連した不純物に関連する毒性は認められていないため、これらの不純物を用いた毒性試験は実施していない。バイオ医薬品では認められることであるが、製造工程に関連した不純物として、残留した宿主細胞の DNA あるいはタンパク質が含まれる可能性がある。セベリパーゼ　アルファでは、[redacted]、[redacted]又は[redacted]などの卵白タンパク質が不純物として含まれる可能性がある。これらの天然由来タンパク質について毒性試験を実施しても意味のある情報が得られるとは考えられない。なお、臨床試験で抗体産生及びインフュージョン反応をモニターしている。

セベリパーゼ　アルファはタンパク質医薬品であり、内因性のタンパク質分解及び排泄メカニズムにより代謝及び排泄されると考えられるため、代謝物を用いた毒性試験を実施しても意味のある情報が得られるとは考えられない。

セベリパーゼ　アルファの臨床試験及び非臨床試験の成績並びに既知の作用メカニズムを考え合わせると、その他の毒性発現の機序に関する試験が必要とは考えられない。

2.6.6.9　考察及び結論

カニクイザルにセベリパーゼ　アルファを最大 40 mg/kg の用量で単回静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。体表面積を基に算出したヒト等価用量は 12.9 mg/kg であり、臨床用量の 3 mg/kg の 4.3 倍に相当した。2 例に軽微から軽度で用量依存性のない、総ビリルビン、ALT 及び ALP 値の増加がみられた。これらの変化はセベリパーゼ　アルファによる肝臓への軽微な影響を示している可能性があるが、試験施設における背景データの範囲内の変動であることからセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。カニクイザルの反復投与毒性試験ではより高い用量で同様の変化がみられていない。その他に単回投与毒性試験は実施していない。

セベリパーゼ　アルファを反復静脈内持続投与した際の毒性は、SD ラットの 4 週間投与毒性試験、カニクイザルの 4 週間投与毒性試験及びカニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試験で評価した。セベリパーゼ　アルファの対象となる患者集団に小児患者が含まれていることを考慮して、非臨床安全性プログラムでは幼若動物を用いた試験を実施している。これらの試験で使用したカニクイザルは 2～3 歳の範囲であり、ヒトでは 8～12 歳の小児に相当する（Barrow, 2007, *Non*

Clinical Drug Safety Assessment: Practical Considerations for Successful Registration）（2.6.7 毒性試験概要表、表 17 参照）。

SD ラットにセベリパーゼ　アルファを最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回 4 週間静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。SD ラットで投与中に認められた腫脹及び皮膚の発赤などの一過性の一般状態の変化は、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいて良く知られている反応である（Parratt, 1958, *Br J Pharmacol Chemother*; Harris., 1967, *Br J Pharmacol Chemother*; Ankier, 1968, *Br J Pharmacol Chemother*; West, 1981, *Agents Actions*; Moodley, 1982, *Eur J Pharmacol*）。後肢の使用が限定的であったが、ジフェンヒドラミンの筋肉内投与に関連した変化であった。これらの所見は、セベリパーゼ　アルファの臨床使用には関連しないものと考えられた。投与期間終了時及び休薬期間終了時ともにセベリパーゼ　アルファ投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。カニクイザルの反復投与毒性試験では、セベリパーゼ　アルファを最大 50 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回 4 週間投与した際及び最大 30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回 6 ヵ月間投与した際の忍容性は良好であった。カニクイザルではセベリパーゼ　アルファをラットと同様の用量で投与しても、過敏症様反応を示す明らかな一般状態の変化は認められなかった。6 ヵ月間投与毒性試験では 10 mg/kg 群の 1 例で投与 1 日に明らかなインフュージョン反応がみられたが、投与期間の後半ではジフェンヒドラミンを投与しなくても、インフュージョン反応はみられなかった。4 週間投与毒性試験では、病理組織学的変化として対照群を含む全群で軽微から中等度の血管/血管周囲の炎症が様々な組織でみられたが、発現頻度は低く、用量依存的ではない（対照群でもみられている）ことから、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化ではないと考えられた。なお、6 ヵ月間投与毒性試験では同様の変化は認められていない。6 ヵ月間投与毒性試験では、病理組織学的検査において、30 mg/kg 群の雌 1 例で心臓に広範囲に散在する多巣性の心筋の変性及び線維化が認められた。カニクイザルにおける自然発生性の心筋の変性及び線維化については公表論文で報告されている。その発現頻度は、心筋の線維化で 0.1%（Chamanza, 2006, *Toxicol Pathol*）、心筋の変性/線維化で 5.6%（Chamanza, 2010, *Toxicol Pathol*）並びに心筋の変性/壊死で 13%及び心筋の線維化で 4%（Vidal, 2010, *Toxicol Pathol*）であった。これらのことから、雌 1 例でみられた心臓の変化は偶発的変化であり、セベリパーゼ　アルファ投与と関連した変化ではないと考えられた。

SD ラットの生殖発生毒性試験として、妊娠ラットに妊娠期間中に投与する胚・胎児発生に関する試験、雌雄ラットに交配前、交配期間中及び交配後に投与する受胎能及び初期胚発生に関する試験、並びに妊娠ラットに妊娠期間及び授乳期間中に投与する出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。これらの試験では、セベリパーゼ　アルファを最大

60 mg/kg の用量でおおよそ 3 日に 1 回静脈内持続投与した。セベリパーゼ　アルファに関連した死亡はなく、母動物への毒性、胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。また、雌雄ラットの生殖能、受胎能及び初期胚発生に対する影響、並びに出生児に対する影響はなかった。ラットの生殖発生毒性試験においても、一過性で生死にかかわらない一般状態の変化がみられたが、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいて良く知られている反応と考えられた。これに加えて、胚・胎児発生に関する試験及び受胎能及び初期胚発生に関する試験では、より重度の過敏症反応が 4 回目以降の投与で認められた。雄ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では最高用量の 60 mg/kg 群で最も重度であったことを除くと、この反応は用量依存的ではなかった。

New Zealand White ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、良好な忍容性が認められた。予備試験では、妊娠ウサギにセベリパーゼ　アルファを最大 50 mg/kg の用量で妊娠期間中に 3 日に 1 回静脈内持続投与した結果、母動物に対する影響はみられなかった。予備試験では、50 mg/kg のみで後期吸収胚数が増加し、胚致死作用がみられた。一方、本試験では最高用量の 50 mg/kg においても吸収胚数に影響はなく、胚致死作用はみられなかった。予備試験で認められた後期吸収胚数の増加については、使用動物数がより多い本試験で変化が認められなかったことから、毒性学的意義は不明であった。予備試験及び本試験ともに、セベリパーゼ　アルファに関連した母動物の死亡及び一般状態の変化はなく、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。

SD ラット、カニクイザル及び New Zealand White ウサギの一部の例で、セベリパーゼ　アルファに対する ADA 産生が認められたが、いずれの試験においても、ADA 産生とセベリパーゼ　アルファの全身曝露量との間に明らかな関連はみられなかった。

反復投与毒性試験は、乳児における臨床投与方法（成人より頻回投与）をサポートするとともに、成人における臨床投与方法をサポートするために、1 週間に 1 回の静脈内持続投与で実施した。生殖発生毒性試験は、投与期間中にラット及びウサギが適切に曝露されることを確実にするために、1 週間に 2 回の静脈内持続投与で実施した。

2.6.6.9.1　標的臓器毒性

SD ラット、カニクイザル及び New Zealand White ウサギの毒性試験では、標的臓器は特定されなかった。すなわち、肝臓、腎臓、心臓、中枢神経系などの臓器組織にセベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。

局所刺激性については、投与部位に投与手技に関連した変化は認められたが、セベリパーゼ　アルファ投与に関連した変化はみられなかった。

生殖発生毒性試験では、セベリパーゼ　アルファに関連した死亡はなく、母動物への毒性、明らかな胚致死作用、胎児毒性及び催奇形作用はみられなかった。また、雌雄ラットの生殖能、受胎能及び初期胚発生に対する影響、並びに出生児に対する影響はなかった。

ラットの反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、一過性で生死にかかわらない一般状態の変化がみられたが、多糖類や糖タンパク質を投与したラットにおいて良く知られている免疫反応と考えられた。この所見は、セベリパーゼ　アルファの臨床使用には関連しないと考えられた。

2.6.6.9.2　　臨床用量との対比

SD ラット及びカニクイザルにセベリパーゼ　アルファを週 1 回反復静脈内持続投与した際の忍容性は良好であった。SD ラットの 4 週間投与毒性試験における無毒性量は 50 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 8.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 2.7 倍に相当）（表 2.6.6-5）。カニクイザルの 4 週間投与毒性試験における無毒性量は 50 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 16.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 5.4 倍に相当）。カニクイザルの 6 ヵ月間投与毒性試験における無毒性量は 30 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 9.7 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 3.2 倍に相当）。生殖発生毒性試験では、3 日に 1 回又は 1 週間に 2 回投与した結果、雄ラットの一般毒性に対する無毒性量は 20 mg/kg、雌雄ラットの受胎能、胚発生、母動物の一般毒性及び生殖能並びに F_1 世代の発育分化に対する無毒性量又は無影響量は最高用量の 60 mg/kg と考えられた（それぞれ、ヒト等価用量は 3.2 及び 9.7 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 1.1 及び 3.2 倍に相当）。また、雌ウサギの母動物の一般毒性及び胚発生に対する無影響量は最高用量の 50 mg/kg と考えられた（ヒト等価用量は 16.1 mg/kg で、臨床用量 3 mg/kg の 5.4 倍に相当）（表 2.6.6-6）。セベリパーゼ　アルファの安全域の範囲は他の遺伝子組換えライソゾーム酵素と類似していた。すなわち、Naglazyme、VPRIV 及び Vimizim では安全域は臨床用量の 1.8～3.7 倍であった（Naglazyme［galsulfase、FDA Approval Package、2005 年 3 月 31 日；European Public Assessment Report、2006 年 1 月 24 日］、VRPIV［velaglucerase alfa、FDA Approval Package、2010 年 2 月 26 日；European Public Assessment Report、2010 年 8 月 26 日］及び Vimizim［elosulfase alfa、FDA Approval Package、2014 年 2 月 14 日；European Public Assessment Report、2014 年 2 月 20

日］）。長期反復投与毒性試験で問題となる毒性所見がないことから、非臨床試験から得られた安全域はセベリパーゼ　アルファの製造販売承認申請においても許容されると考えられた。

表 2.6.6-5　反復投与毒性試験における無毒性量及びヒト等価用量並びに安全域

	投与期間	無毒性量（mg/kg）	ヒト等価用量[a]（mg/kg）	安全域[b] 動物の用量/臨床用量
ラット	4 週間、1 回/週	50	8.1	2.7
サル	4 週間、1 回/週	50	16.1	5.4
サル	6 ヵ月間、1 回/週	30	9.7	3.2

a　体表面積を基に算出（換算係数はラットで 6.2、サルで 3.1）
b　臨床用量 3.0 mg/kg を基に算出

表 2.6.6-6　生殖発生毒性試験における無毒性量及びヒト等価用量並びに安全域

	投与期間	無毒性量又は無影響量（mg/kg）	ヒト等価用量[a]（mg/kg）	安全域[b] 動物の用量/臨床用量
雄ラット	交配前 4 週間、交配期間中及び交配後 2～3 週間、2 回/週	20[c] 60[d]	3.2[c] 9.7[d]	1.1 3.2
雌ラット	交配前 2 週間、交配期間中及び妊娠 7 日まで、2 回/週	60	9.7	3.2
妊娠ラット	妊娠 6～17 日、1 回/3 日	60[e]	9.7[e]	3.2
雌ラット	妊娠 6 日～授乳 17 日、2 回/週	60	9.7	3.2
妊娠ウサギ	妊娠 7～19 日、1 回/3 日	50[f]	16.1[f]	5.4

a　体表面積を基に算出（換算係数はラットで 6.2、ウサギで 3.1）
b　臨床用量 3.0 mg/kg を基に算出
c　雄動物の一般毒性に対する無毒性量
d　生殖能及び初期胚発生に対する無影響量
e　母動物の一般毒性に対する無毒性量及び胚・胎児発生に対する無影響量
f　母動物の一般毒性に対する無毒性量及び胚・胎児発生に対する無影響量

2.6.6.9.3　結論

非臨床の一般毒性試験及び生殖発生毒性試験では、SD ラット、カニクイザル及び New Zealand White ウサギにおいて、臨床試験で使用され、申請時の用法用量案で推奨される用量及び用法を超える用量で、セベリパーゼ　アルファは問題のない非臨床安全性プロファイルを示し、セベリパーゼ　アルファの製造販売承認申請を適切に支持している。

2.6.6.10　図表

図又は表は適切な項に記載した。

2.6.6.11　参考文献

Ankier SI, West GB.　Inhibition of the anaphylactoid reaction in rats.　*Br J Pharmacol Chemother*. 1968;33(2):304-11.

Barrow PC.　Toxicology testing for products intended for pediatric populations.　In: Sietsema WK, Schwen R, editors.　Non clinical drug safety assessment: practical considerations for successful registrations.　*FDAnews*; May 2007.　p.413.

Bielicki J, Crawley AC, Davey RC, Varnai JC, Hopwood JJ.　Advantages of using same species enzyme for replacement therapy in a feline model of mucopolysaccharidosis type VI.　*J Biol Chem.* 1999 Dec 17;274(51):36335-43.

Chamanza R, Parry NM, Rogerson P, Nicol JR, Bradley AE.　Spontaneous lesions in the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates.　*Toxicol Pathol.* 2006;34(4):357-63.

Chamanza R, Marxfeld HA, Blanco AI, Naylor SW, Bradley AE.　Incidences and range of spontaneous findings in control Cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies.　*Toxicol Pathol.*　2010 Jun;38(4):642-57.

Harris JM, Luscombe DK, Poyser RH.　The influence of molecular weight and structure on the vascular permeability responses induced by glucose polymers in rat skin.　*Br J Pharmacol Chemother.* 1967;29(1):16-24.

Moodley I, Mongar JL, Foreman JC. Histamine release induced by dextran: the nature of the dextran receptor. *Eur J Pharmacol.* 1982;83(1-2):69-81.

Parratt JR, West GB. Inhibition by various substances of oedema formation in the hind-paw of the rat induced by 5-hydroxytryptamine, histamine, dextran, eggwhite and compound 48/80. *Br J Pharmacol Chemother*. 1958:13(1);65-70.

Shull RM, Kakkis ED, McEntee MF, Kania SA, Jonas AJ, Neufeld EF. Enzyme replacement in a canine model of Hurler syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994 Dec 20;91(26):12937-41.

Vidal JD, Drobatz LS, Holliday DF, Geiger LE, Thomas HC. Spontaneous findings in the heart of Mauritian-origin Cynomolgus macaques (Macaca fascicularis). *Toxicol Pathol.* 2010 Feb;38(2):297-302.

Vogler C, Levy B, Galvin NJ, Thorpe C, Sands MS, Barker JE, et al. Enzyme replacement in murine mucopolysaccharidosis type VII: neuronal and glial response to beta-glucuronidase requires early initiation of enzyme replacement therapy. *Pediatr Res.* 1999 Jun;45(6):838-44.

West GB. Histamine release by sugar polymers in the rat. *Agents Actions.* 1981:11(1-2):75-6.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
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 4
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 5
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 13
2.6.7.8 *In Vitro*遺伝毒性試験 51
2.6.7.9 *In Vivo*遺伝毒性試験 51
2.6.7.10 がん原性試験 51
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 52
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 58
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 64
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 70
2.6.7.15 新生児を用いた試験 75
2.6.7.16 局所刺激性試験 77
2.6.7.17 その他の毒性試験 78

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Type of Study Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity							
Monkey, Cynomolgus	IV infusion, 10 mL/kg/h	Single	5, 40	No	[redacted]	8234874 (SBC102-T003)	4.2.3.1.1
Repeated-Dose Toxicity							
Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	4 weeks; once weekly	0, 5, 20, 50	Yes[b]	[redacted]	8232384 (SBC102-T002)	4.2.3.2.1
Monkey, Cynomolgus	IV infusion, 10 mL/kg/h	4 weeks; once weekly	0, 5, 20, 50	Yes[b]	[redacted]	8232455 (SBC102-T001)	4.2.3.2.2
Monkey, Cynomolgus	IV infusion, 10 mL/kg/h	6 months; once weekly	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	20006580 (SBC102-T006)	4.2.3.2.3
Reproductive and Developmental Toxicity							
Non Pivotal Studies							
Embryo-fetal development - Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	Days 6-17 of gestation; every third day	0, 5, 15, 30, 60	Yes[b]	[redacted]	902522 (SBC102-T007)	4.2.3.5.2.1
Embryo-fetal development - Rabbit, New Zealand White	IV infusion, 10 mL/kg/h	Days 7-19 of gestation; every third day	0, 3, 10, 25, 50	Yes[b]	[redacted]	902523 (SBC102-T008)	4.2.3.5.2.3

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Type of Study Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Pivotal Studies							
Male fertility and early embryonic development - Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	For 4 weeks prior to cohabitation, during cohabitation, and approx. 2 to 3 weeks after the end of cohabitation, twice weekly, for a minimum of 14 doses (males only)	0, 6, 20, 60[c]	Yes	[redacted]	902526 (SBC102-T009)	4.2.3.5.1.1
Female fertility and early embryonic development - Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	For 2 weeks prior to cohabitation, during cohabitation, and until Day 7 of gestation, twice weekly (females only)	0, 6, 20, 60	Yes	[redacted]	902528 (SBC102-T010)	4.2.3.5.1.2
Embryo-fetal development - Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	Days 6-17 of gestation, every third day	0, 6, 20, 60	Yes	[redacted]	902524 (SBC102-T011)	4.2.3.5.2.2
Embryo-fetal development - Rabbit, New Zealand White	IV infusion, 10 mL/kg/h	Days 7-19 of gestation, every third day	0, 10, 25, 50	Yes	[redacted]	902525 (SBC102-T012)	4.2.3.5.2.4
Pre and post natal development - Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	Between Day 6 of gestation and Day 17 postpartum, twice weekly	0, 6, 20, 60	Yes	[redacted]	902527 (SBC102-T013)	4.2.3.5.3.1
Genotoxicity and Carcinogenicity							
Genotoxicity and carcinogenicity studies of sebelipase alfa have not been performed in accordance with the ICH S6(R1) Guideline							

approx = approximately; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous

[a] The highest no-observed-adverse-effect level (NOAEL) and/or no-observed-effect level (NOEL) is underlined, if it was determined in the study.

[b] For these studies, one or more of the contributing analyses were performed by the Sponsor and were not conducted in full compliance with GLP regulations: dose verification/formulation analysis, bioanalysis, and/or anti-drug antibody analysis. Further detail is provided in the study reports..

[c] NOAEL for paternal toxicity was 20 mg/kg.

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

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP	Study Number
Repeated-Dose Toxicity					
4-Week repeated dose	Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 5, 20, 50	Yes[a]	8232384 (SBC102-T002)
4-Week repeated dose	Monkey, Cynomolgus	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 5, 20, 50	Yes[a]	8232455 (SBC102-T001)
6-Month repeated dose	Monkey, Cynomolgus	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 3, 10, 30	Yes	20006580 (SBC102-T006)
Non Pivotal Reproductive and Developmental Toxicity					
Repeated dose (Days 7-19 of gestation) embryo-fetal development study	Rabbit, New Zealand White	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 3, 10, 25, 50	Yes[a]	902523 (SBC102-T008)
Pivotal Reproductive and Developmental Toxicity					
Repeated dose (Days 6-17 of gestation) embryo-fetal development study	Rat, Sprague-Dawley	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 6, 20, 60	Yes	902524 (SBC102-T011)
Repeated dose (Days 7-19 of gestation) embryo-fetal development study	Rabbit, New Zealand White	IV infusion, 10 mL/kg/h	0, 10, 25, 50	Yes	902525 (SBC102-T012)

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous

[a] For these studies, one or more of the contributing analyses were performed by the Sponsor and were not conducted in full compliance with GLP regulations: dose verification/formulation analysis, bioanalysis, and/or anti-drug antibody analysis. Further detail is provided in the study reports.

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

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

AUC_{last} (μg·h/mL)										
Interval Dose (mg/kg)	**Total Dose (mg/kg)**	**Interval Between Doses**	**Duration of Dosing**	**Rat**			**Monkey**		**Rabbit**	
				M	**F**	**F, Pregnant**	**M**	**F**	**F, Pregnant**	
5	5	1 week	1 week	4.04[b]	2.55[b]		3.76[a]	3.90[a]		
20	20	1 week	1 week	42.2[b]	23.0[b]		91.5[a]	65.1[a]		
50	50	1 week	1 week	413[b]	150[b]		493[a]	443[a]		
5	20	1 week	4 weeks	3.28[b]	1.45[b]		4.86[a]	4.67[a]		
20	80	1 week	4 weeks	63.3[b]	19.8[b]		85.5[a]	70.9[a]		
50	200	1 week	4 weeks	450[b]	289[b]		443[a]	419[a]		
3	3	1 week	1 week				3.37[c]	2.94[c]		
10	10	1 week	1 week				41.2[c]	40.4[c]		
30	30	1 week	1 week				597[c]	598[c]		
3	75	1 week	25 weeks				5.84[c]	6.36[c]		
10	250	1 week	25 weeks				103[c]	107[c]		
30	750	1 week	25 weeks				1086[c]	1040[c]		

continued

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

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

AUC_{last} (μg·h/mL)											
Interval Dose (mg/kg)	Total Dose (mg/kg)	Interval Between Doses	Duration of Dosing	Rat			Monkey		Rabbit	
				M	F	F, Pregnant	M	F	F, Pregnant	
3	3	3 days	Day 7 pc						0.780[d]	
10	10	3 days	Day 7 pc						11.1[d]	12.2[f]
25	25	3 days	Day 7 pc						451[d]	250[f]
50	50	3 days	Day 7 pc						978[d]	863[f]
3	15	3 days	Day 19 pc						4.05[d]	
10	50	3 days	Day 19 pc						22.9[d]	12.2[f]
25	125	3 days	Day 19 pc						237[d]	379[f]
50	250	3 days	Day 19 pc						653[d]	730[f]
6	30	3 days	Day 17 pc			2.16[e]				
20	100	3 days	Day 17 pc			12.1[e]				
60	300	3 days	Day 17 pc			227[e]				

continued

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

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

C_{max} (µg/mL)										
Interval Dose (mg/kg)	**Total Dose (mg/kg/study)**	**Interval Between Doses**	**Duration of Dosing**	**Rat**			**Monkey**		**Rabbit**	
				M	**F**	**F, Pregnant**	**M**	**F**	**F, Pregnant**	
5	5	1 week	1 week	0.880[b]	0.973[b]		0.966[a]	0.978[a]		
20	20	1 week	1 week	9.47[b]	5.82[b]		20.9[a]	16.0[a]		
50	50	1 week	1 week	127[b]	60.4[b]		179[a]	133[a]		
5	20	1 week	4 weeks	0.997[b]	0.387[b]		1.16[a]	1.16[a]		
20	80	1 week	4 weeks	16.1[b]	5.19[b]		24.5[a]	16.7[a]		
50	200	1 week	4 weeks	106[b]	74.9[b]		120[a]	108[a]		
3	3	1 week	1 week				1.43[c]	1.16[c]		
10	10	1 week	1 week				17.6[c]	17.7[c]		
30	30	1 week	1 week				216[c]	207[c]		
3	75	1 week	25 weeks				3.56[c]	3.62[c]		
10	250	1 week	25 weeks				43.8[c]	47.8[c]		
30	750	1 week	25 weeks				351[c]	320[c]		

continued

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

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

C_{max} (µg/mL)										
Interval Dose (mg/kg)	**Total Dose (mg/kg/study)**	**Interval Between Doses**	**Duration of Dosing**	**Rat**			**Monkey**		**Rabbit**	
				M	**F**	**F, Pregnant**	**M**	**F**	**F, Pregnant**	
3	3	3 days	Day 7 pc						0.207[d]	
10	10	3 days	Day 7 pc						2.70[d]	3.68[f]
25	25	3 days	Day 7 pc						147[d]	48.7[f]
50	50	3 days	Day 7 pc						246[d]	147[f]
3	15	3 days	Day 19 pc						1.07[d]	
10	50	3 days	Day 19 pc						5.97[d]	2.62[f]
25	125	3 days	Day 19 pc						58.9[d]	69.5[f]
50	250	3 days	Day 19 pc						146[d]	132[f]
6	30	3 days	Day 17 pc			0.560[e]				
20	100	3 days	Day 17 pc			2.85[e]				
60	300	3 days	Day 17 pc			57.9[e]				

SBC102-T002 Toxicokinetic Report Table 1; SBC102-T001 Toxicokinetic Report Table 1 and Table 2; SBC102-T006 Toxicokinetic Report Table 2; SBC102-T008 Toxicokinetic Report Table 2; SBC102-T011 Toxicokinetic Report Table 2; SBC102-T012 Toxicokinetic Report Table 2

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; M = male; pc = postcoitum

[a] TK data are from Study SBC102-T001.
[b] TK data are from Study SBC102-T002.
[c] TK data are from Study SBC102-T006.
[d] TK data are from Study SBC102-T008.
[e] TK data are from Study SBC102-T011.
[f] TK data are from Study SBC102-T012.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

2.6.7.4.1 被験物質（バッチ毎）の一覧

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Drug Substance Batch No.[a, b]	Drug Product Batch No.[a, b]	Study Number	Type of Study
[redacted]		8232874 (SBC102-T003)	Single dose study, intravenous infusion, monkey
		8232384 (SBC102-T002)	4-Week repeated dose study, intravenous infusion, rat
		8232455 (SBC102-T001)	4-Week repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		8232384 (SBC102-T002)	4-Week repeated dose study, intravenous infusion, rat
		8232455 (SBC102-T001)	4-Week repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		20006580 (SBC102-T006)	6-Month repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		20006580 (SBC102-T006)	6-Month repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		20006580 (SBC102-T006)	6-Month repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		20006580 (SBC102-T006)	6-Month repeated dose study, intravenous infusion, monkey
		902522 (SBC102-T007)	Gestational repeated dose study, intravenous infusion, rat
		902523 (SBC102-T008)	Gestational repeated dose study, intravenous infusion, rabbit
		902526 (SBC102-T009)	Fertility and early embryonic development to implantation study, intravenous infusion, rat
		902528 (SBC102-T010)	Fertility and early embryonic development study, intravenous infusion, rat
		902524 (SBC102-T011)	Gestational repeated dose study, intravenous infusion, rat
		902527 (SBC102-T013)	Pre and post natal study, intravenous infusion, rat
		902525 (SBC102-T012)	Gestational repeated dose study, intravenous infusion, rabbit

[a] Sebelipase alfa for toxicology, toxicokinetic, and safety pharmacology was formulated as in the clinical studies: trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). [redacted]

[b] [redacted]

2.6.7.4.2　　被験物質（バッチ毎）の分析結果

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Attribute	Specification(s)	Drug Substance Lot Number
[redacted]		

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey, Cynomolgus	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	5, 40	1 M	Not determined	Not determined	**Morbidity/Mortality:** None. **5 mg/kg:** mild ↑ TBIL, minimal ↑ ALP, ALT **40 mg/kg:** minimal ↑ TBIL, ALP, ALT	8232874 (SBC102-T003)

ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; IV = intravenous; M = male; No. = number; TBIL = total bilirubin

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は実施していない。

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

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg), Dosing Duration	Gender and No. per Group	NOAEL	Noteworthy Findings	Study Number
Rat, Sprague-Dawley	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 5, 20, 50 4 weeks (once weekly)	Group 1: 10 M / 10 F Groups 2-5: 15 M / 15 F	50 mg/kg	**Morbidity/Mortality:** TK animals: Mortality: 1 male at 50 mg/kg; 1 female at 5 mg/kg, 1 female at 20 mg/kg, 2 females at 50 mg/kg. All deaths/ sacrifices not test article related. **5 mg/kg:** Swelling of the paws in males and females **20 mg/kg:** Swelling of the paws/nose; red skin of paws in males and/or females; ↓food consumption in males **50 mg/kg:** Swelling of the paws/nose; red skin of paws in males and females; ↓food consumption in males	8232384 (SBC102-T002)

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg), Dosing Duration	Gender and No. per Group	NOAEL	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey, Cynomolgus	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 5, 20, 50 4 weeks (once weekly)	5 M / 5 F	50 mg/kg	**Morbidity/Mortality:** None Minimal vascular/ perivascular inflammation in one or more tissues, across all groups including vehicle-treated controls, at a low incidence (1-2 of 5), and independent of dose. Anti-sebelipase alfa antibody formation occurred at a low incidence and with no correlation to dose; antibodies were non-neutralising.	8232455 (SBC102-T001)

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg), Dosing Duration	Gender and No. per Group	NOAEL	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey, Cynomolgus	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 3, 10, 30 6 months (once weekly)	5 M / 5 F	30 mg/kg	**Morbidity/Mortality:** None Dose-dependent immunogenic anti-[redacted] response with no toxicologically relevant consequences; only 1 animal with infusion reaction (10 mg/kg) Heart finding (1 animal, 30 mg/kg) of uncertain relationship Anti-sebelipase alfa antibodies in 23 of 30 animals (neutralising antibodies in 6 animals) with no apparent correlation with exposure	20006580 (SBC102-T006)

F = female IV = intravenous; M = male; No. = number; TK = toxicokinetic

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験

報告書の題名：4-Week Toxicity and Toxicokinetic Infusion Study in Rats with SBC-102 with a 2-Week Recovery Phase

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Species/Strain: Rat / Sprague-Dawley Hsd:Sprague Dawley®™SD®™	**Duration of Dosing:** Once weekly for 4 weeks (total of 4 doses)						**Study No.** 8232384 (SBC102-T002)			
Initial Age: 9-10 weeks	**Duration of Postdose:** 2 weeks									
Date of First Dose: [redacted]	**Method of Administration:** 5-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)						**GLP Compliance:** Yes*			
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.									
Special Features: Functional observational battery assessment.										
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg										
Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Toxicokinetics (3 animals/sex/dose group/timepoint):										
AUC_{last} (µg·h/mL)										
Day 1	NA	NA	<LLOQ	<LLOQ	4.04	2.55	42.2	23.0	413	150
Day 22	NA	NA	<LLOQ	<LLOQ	3.28	1.45	63.3	19.8	450	289
C_{max} (µg/mL)										
Day 1	NA	NA	<LLOQ	<LLOQ	0.880	0.973	9.47	5.82	127	60.4
Day 22	NA	NA	<LLOQ	<LLOQ	0.997	0.387	16.1	5.19	106	74.9
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund (n/N)										
Main Study Arm	0/10	0/10	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
Toxicokinetic Arm	NA	NA	0/3	0/3	0/9	1/9	0/9	1/9	1/9	2/9

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Body Weight (g)										
Day 29 (terminal sacrifice)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight change (g)										
Days 8 - 15	13	17	17[a]	14	23[a,b]	10	17[a]	10	18[a]	10
Days 1 - 29	31	24	51[a]	26	47[a]	21	46[a]	20	44[a]	27
Food Consumption (g/animal/period)										
Days 1 - 7	195	160	201	165	204	158	183[a,b]	156	180[a,b]	163
Days 8 - 14	192	166	204	169	195	166	177[b]	153	180[b]	165
Days 15 - 21	180	147	196[a]	152	195[a]	148	176[b]	139	173[b]	143
Days 22 - 28	161	130	173[a]	136	168	127	156[b]	124	152[b]	130
Clinical Observations - Dosing phase (number of animals)										
Swollen, paws, all	0	0	0	0	0	0	3	1	14	15
Swollen, paws, front	0	0	0	0	0	0	2	6	2	0
Swollen, paws, hind	0	0	0	0	3	0	4	1	8	5
Swollen, paw, left, hind	0	0	0	0	1	1	4	0	1	0
Swollen, paw, right, front	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Swollen, nose	0	0	0	0	0	0	1	0	14	15
Swollen, face	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Red skin, paws; all	0	0	0	0	0	0	0	0	11	14
Red skin, paws; front	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Red skin, paws, hind	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Red skin, paws; left, hind	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Red skin, ears	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Obsevation Battery (10 animals/sex/dose group/timepoint)										
Day 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology - Day 29										
WBC (10^3/µL)	7.98	7.03	9.79	8.72[a]	12.36[a,b]	7.22[b]	10.92[a]	8.18	9.26	6.81
Neutrophils (10^3/µL)	1.61	1.55	2.67[a]	2.12	3.88[a]	1.46	3.16[a]	2.15	2.19	1.51
Lymphocytes (10^3/µL)	5.84	5.11	6.63	6.15[a]	7.86[a,b]	5.43	7.09[a]	5.68	6.59	4.95[b]
Basophils (10^3/µL)	0.02	0.05	0.03	0.06	0.05[a,b]	0.06	0.03	0.05	0.03	0.05
Coagulation - Day 29										
Prothrombin Time (seconds)	18.3	20.4	18.6	20.3	19.4[a,b]	20.1	18.9	20.2	18.8	20.0
Serum Chemistry - Day 29										
Albumin (g/dL)	4.2	4.0	4.2	3.9	3.9[a,b]	4.1	4.1	4.0	4.2	4.1
Globulin (g/dL)	2.7	2.6	2.7	2.8	3.0[a,b]	2.8	2.9[a]	2.8	2.8	2.8
Albumin / Globulin Ratio	1.6	1.5	1.6	1.4	1.3[a,b]	1.5	1.4	1.4	1.5	1.5
Triglycerides (mg/dL)	54	33	45	31	52	35	44[a]	29	40[a]	34
Urinalysis - Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Terminal Sacrifice (10 animals/sex/dose group)										
Organ Weights, absolute - Terminal Sacrifice	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights/BW - Terminal Sacrifice (%)										
Seminal Vesicles	0.4189	NA	0.3655[a]	NA	0.3667	NA	0.4293[b]	NA	0.4158[b]	NA
Brain	0.5821	0.7962	0.5540	0.7746	0.5898	0.8358[b]	0.5768	0.8093	0.6074	0.7599
Heart	0.4177	0.4300	0.3947	0.4131	0.4008	0.4589[b]	0.4043	0.4475[b]	0.3990	0.4281
Liver	2.8202	2.7440	2.7793	3.0093[a]	2.7169	2.9285[a]	2.8297	2.9967[a]	2.8011	3.0877[a]
Gland, salivary, mandibular	0.2245	0.2060	0.2111	0.2172	0.2034	0.2185	0.2072	0.2334[a]	0.2010	0.2164
Organ Weights/Brain - Terminal Sacrifice (%)										
Liver	486.4749	345.6945	502.3848	391.6021[a]	467.1635	351.3173[b]	496.1750	373.2293	465.9081	409.6498[a]
Gland, salivary, mandibular	38.6709	25.8581	38.1934	28.1546	34.9751	26.1174	36.1863	28.9673[a]	33.5079	28.5758[a]
Gross Pathology - Terminal Sacrifice (number of animals)										
No remarkable findings	9	9	7	1	5	4	7	5	9	4
Liver: discoloured	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
mass	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
rough surface	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen: discoloured	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Lung: discoloured	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Urinary bladder: discoloured	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach, glandular: discoloured	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gland, salivary, mandibular: large	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin/subcutis: crusted	0	0	2	8	2	6	0	4	1	6
mass	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
thickened	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0
Seminal vesicle: small	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Catheter site: thickened	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Infusion site: thickened	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
Lymph node, other: large	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Histopathology - Terminal Sacrifice (number of animals)										
Number Examined (maximum)	10	10	10	10	2	6	2	4	10	10
Liver: infiltrate, lymphocytes	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen: haematopoiesis, extramedullary, increased	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Lung: infiltrate, lymphocytes, peribronchial/perivascular	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
thrombus	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
infiltrate, eosinophils, peribronchial/perivascular	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
mixed infiltrate, alveoli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, chronic-active	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Thymus: hyperplasia, epithelium	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney: nephropathy, chronic progressive	0	0	4	0	0	0	0	0	2	4
basophilic tubule	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
pyelonephritis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
dilatation, pelvis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Gland, mandibular, salivary: atrophy	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
inflammation/necrosis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pancreas: atrophy	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eye: dystrophy, cornea	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin/subcutis: thrombus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, chronic-active (subcutaneous vessel)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2
medial fibrosis (subcutaneous vessel)	2	2	0	1	0	0	0	0	0	4
Seminal vesicle: inflammation	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Epididymis: granuloma, sperm	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Uterus: dilatation	NA	2	NA	3	NA	0	NA	0	NA	3
Cervix: atrophy, epithelium	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Vagina: atrophy, epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Catheter site: infiltrate, mixed (perivascular)	3	5	6	5	0	0	0	0	7	4
foreign body, granuloma	0	1	0	4	0	0	0	0	1	1
medial fibrosis	5	1	0	1	0	0	0	0	4	1
dilatation, vein	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
proliferation, intimal	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
mineralization, medial	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0
inflammation, chronic-active	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0
thrombus	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
inflammation, acute	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Infusion site: infiltrated, mixed	0	1	0	2	0	0	0	0	1	2
abscess	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
proliferation, intimal	5	5	3	4	0	0	0	0	2	4
inflammation, chronic-active	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
occlusion, vein	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1
medial fibrosis	2	2	3	5	0	0	0	0	2	4
mineralization	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
thrombus	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
thrombosis	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Lymph node, other: hyperplasia, plasma cell	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Skin/subcutis, other: inflammation, dermal	0	0	0	6	2	3	0	3	0	5
serocellular, exudate	0	0	1	5	1	3	0	1	0	6
acanthosis	0	0	0	2	1	3	0	2	0	3
degeneration, muscle	0	0	0	5	0	2	0	0	1	2
inflammation, chronic-active	0	1	1	3	0	2	0	1	0	1
erosion/ulceration	0	0	1	6	1	3	0	2	1	2
epidermal necrosis	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Recovery Phase (5 animals/sex/active dose group):										
Body Weight (g) - Day 44	NA	NA	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry - Day 44										
ALT (U/L)	NA	NA	47	40	47	40	51	35	57[b]	40
Urinalysis - Day 44	NA	NA	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights, absolute - Recovery Sacrifice (g)										
Thymus	NA	NA	0.2959	0.2593	0.3734[b]	0.2176	0.2919	0.2352	0.2822	0.2654
Organ Weights/BW - Recovery Sacrifice (%)										
Brain	NA	NA	0.5207	0.7598	0.4793[b]	0.7738	0.5403	0.7824	0.5484	0.7832

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Organ Weights/ Brain - Recovery Sacrifice (%)										
Heart	NA	NA	70.4768	55.8934	81.8512[b]	54.1266	66.9737	53.5348	68.4376	56.1860
Thymus	NA	NA	15.9703	14.1031	20.6442[b]	12.0534	15.2003	12.8969	14.7001	14.7330
Gross Pathology - Recovery Sacrifice (number of animals)										
No remarkable findings	NA	NA	3	4	4	3	4	3	4	4
Skin/subcutis: crusted	NA	NA	1	1	1	1	1	2	1	1
Epididymis: abnormal shape	NA	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
discoloured	NA	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Catheter site: thickened	NA	NA	0	0	0	1	0	0	0	0
Infusion site: thickened	NA	NA	0	1	0	0	0	0	0	1
Histopathology - Recovery Sacrifice (number of animals)										
Number Examined (maximum)	NA	NA	5	5	1	2	1	2	5	5
Heart: infiltrate, lymphocytes/macrophages	NA	NA	1	0	0	0	0	0	0	0
Liver: infiltrate, lymphocytes	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	2
Kidney: nephropathy, chronic progressive	NA	NA	1	1	0	0	0	0	1	0
dilatation, tubule(s)	NA	NA	2	0	0	0	0	0	1	1
Eye: dystrophy, cornea	NA	NA	0	1	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)****		**0 (Control)****		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Skin/subcutis: medial fibrosis (subcutaneous vessel)	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	1
Epididymis: granuloma, sperm	NA	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Uterus: dilatation	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Catheter site: infiltrate, mixed (perivascular)	NA	NA	1	2	0	0	0	0	3	1
foreign body, granuloma	NA	NA	0	0	0	1	0	0	0	0
medial fibrosis	NA	NA	1	2	0	0	0	0	3	2
proliferation, intimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	2	0
mineralization, medial	NA	NA	0	0	0	0	0	0	1	1
inflammation, chronic-active	NA	NA	0	1	0	1	0	0	0	0
Infusion site: abscess	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	1
proliferation, intimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	1	3
inflammation, chronic-active	NA	NA	0	1	0	0	0	0	0	1
occlusion, vein	NA	NA	2	1	0	0	0	0	0	1
medial fibrosis	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	1
thrombosis	NA	NA	2	1	0	0	0	0	0	1
Skin/subcutis, other: inflammation, dermal	NA	NA	1	1	1	1	1	2	1	1
serocellular, exudate	NA	NA	1	0	0	1	1	2	1	1
acanthosis	NA	NA	1	1	1	1	0	2	0	1
erosion/ulceration	NA	NA	0	0	1	0	1	0	1	0

2.6.7.7.2 ラットの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	1		2		3		4		5	
Dose Level (mg/kg)	0 (Control)**		0 (Control)**		5		20		50	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Anti-Drug Antibody (n/N)										
Pre-dose	0/10	0/10	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	1/15
Terminal sacrifice (Day 29)	0/10	0/10	0/15	0/15	15/15	15/15	15/15	15/15	7/15	13/15
Recovery sacrifice	NA	NA	0/3	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5
TK satellite animals (Day 29)	NA	NA	0/3	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

ALT = alanine aminotransferase; AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; BW = body weight; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = Lower Limit of Quantitation; M = male; NA = Not Applicable (no samples); No. = number; WBC = white blood cell

* Some of the contributing analyses were performed by the Sponsor and were not conducted in full compliance with GLP regulations: dose verification/formulation analysis, bioanalysis, and anti-drug antibody analysis.

** Group 1 = vehicle only; Group 2 = vehicle + diphenhydramine 5 mg/kg (5, 20, 50 mg/kg groups also received diphenhydramine 5 mg/kg).

[a] Statistically significant from Group 1 at $p \leq 0.05$

[b] Statistically significant from Group 2 at $p \leq 0.05$

\- = No noteworthy findings

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験

報告書の題名：4-Week Toxicity and Toxicokinetic Infusion Study in Cynomolgus Monkeys with SBC-102 with a 2-Week Recovery Phase

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Species/Strain: Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:** Once weekly for 4 weeks (total of 4 doses)	**Study No.** 8232455 (SBC102-T001)
Initial Age: 2-3 years	**Duration of Postdose:** 2 weeks	
Date of First Dose: [redacted]	**Method of Administration:** 5-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)	**GLP Compliance:** Yes*
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.	
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg		

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)[b]	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics (5 animals/sex/dose group/timepoint):								
AUC_{last} (µg·h/mL)								
Day 1	<LLOQ	<LLOQ	3.76	3.90	91.5	65.1	493	443
Day 22	<LLOQ	<LLOQ	4.86	4.67	85.5	70.9	443	419
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	<LLOQ	<LLOQ	0.966	0.978	20.9	16.0	179	133
Day 22	<LLOQ	<LLOQ	1.16	1.16	24.5	16.7	120	108
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund (n/N)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Haematology - Day 29								
MCV (fL)	75.1	75.7	74.6	78.2	72.9	75.6	82.0[a]	78.4
White Blood Cells (10^3/µL)	7.23	10.13	11.30[a]	12.57	13.81[a]	10.03	10.62[a]	10.30
Monocytes (10^3/µL)	0.21	0.35	0.30	0.42	0.70[a]	0.49	0.27	0.31
Coagulation - Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry - Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis - Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal Sacrifice (3 animals/sex/dose group)								
Organ Weights, absolute (g) - Terminal Sacrifice	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights / BW - Terminal Sacrifice	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights / Brain - Terminal Sacrifice	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology - Terminal Sacrifice (number of animals)								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Cecum: discoloured, mucosa, distal	0	0	1	0	0	0	0	0
large, entire	0	0	0	1	0	0	0	0
Colon: discoloured, mucosa, entire	0	0	0	0	1	0	0	0
large, entire	0	0	0	1	0	0	0	0
Ovary: cyst, left	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Stomach: discoloured, mucosa, fundic	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Histopathology - Terminal Sacrifice (number of animals)								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Adrenal, cortex: cortical tissue, extracapsular	0	0	1	1	2	0	0	0
increased vacuolation	0	1	0	1	0	1	1	0
mineralization	0	1	0	1	0	1	0	0
Brain: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	0	0	0	2	1	1	1
mineralization	0	0	0	1	1	0	0	0
Catheter site: haemorrhage	1	0	0	1	1	0	1	0
inflammation, chronic/chronic-active	3	3	3	3	3	3	3	3
thrombus	1	0	0	1	0	0	0	0
Cecum: dilatation, lymphoglandular complex	0	0	1	0	0	0	0	0
haemorrhage	0	0	1	0	0	0	0	0
inflammation, lymphohistiocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Colon: inflammation, lymphohistiocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	1	2	0	0	0
Duodenum: inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	2	0	0	0
Epididymis: aspermia	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Eye: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	0	0	0	0	0	0	1
Gallbladder: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	3	0	0	0	1
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	2	0	0	1

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Gland, mandibular, salivary: atrophy	1	0	0	0	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	3	2	3	2	1	2	3	3
Mineralization	0	0	0	0	0	1	1	0
Heart: degeneration, myocardium, focal/multifocal	1	1	1	1	0	0	0	0
Oedema	0	0	0	1	0	0	0	0
fibrosis/inflammation, chronic, atrium	0	1	1	0	2	1	1	1
Haemorrhage	0	0	0	1	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	3	3	2	2	1	3	3	2
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	2	0	0	1
Ileum: inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	2	0	0	0
Infusion site: haemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, chronic/chronic-active	3	2	1	2	2	2	3	3
Kidney: basophilic tubule	1	1	0	1	1	0	0	1
cast, proteinaceous	0	1	0	0	0	0	0	0
Haemorrhage	0	0	1	0	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	2	2	2	3	3	3	3	3
inflammation, lymphohistiocytic	0	0	0	0	2	0	0	0
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	1	0	0	0
mineralization, tubule	1	0	0	1	1	1	0	1

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Liver: hyperplasia, bile duct	0	0	0	0	0	1	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	1	2	3	3	1	2	2
inflammation, portal	0	0	0	0	0	1	0	0
Lung: fibrosis, pleural/subpleural	0	0	0	0	0	1	0	0
infiltrate, macrophages, alveolus	0	1	2	2	0	1	0	1
pigment, black	0	1	2	3	1	2	1	1
Lymph node, mandibular: erythrocytes, sinus	1	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, mesenteric: erythrocytes, sinus	0	0	1	0	0	0	0	0
Marrow, femur: hyperplasia, myeloid	0	0	0	1	0	0	0	0
Marrow, sternum: hyperplasia, myeloid	0	0	0	1	0	0	0	0
Muscle, biceps femoris: degeneration/necrosis	0	0	1	0	0	0	1	0
Nerve, sciatic: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	1	0	0	0	0	0	0
Ovary: cyst, follicle	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
cyst, parovarian	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Mineralization	NA	1	NA	1	NA	1	NA	3
Pancreas: ectopic spleen	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosis	0	0	0	1	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	0	0	0	0	0	0	0
Pituitary: cyst	0	1	0	0	0	1	0	0
Prostate: immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Rectum: inflammation, lymphohistiocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	1	0	0	0
Seminal vesicle: immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Spleen: fibrosis, capsule	0	0	1	0	0	0	0	1
Stomach: congestion/haemorrhage	0	0	0	0	0	1	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	2	0	0	0
Testis: immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Thymus: cyst	1	0	0	0	0	0	0	1
depletion, lymphocytes	0	0	0	1	0	1	0	0
Thyroid: cyst	2	1	1	0	0	1	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	1	0	0	0	1	0
inflammation, vascular/perivascular	0	0	0	0	1	0	0	0
Tongue: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	0	0	0	0	0	0	2
Trachea: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	1	0	1	1	1	2	0
Urinary bladder: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	2	1	0	1	1	1	2

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Recovery Phase (2 animals/sex/dose group)								
Gross Pathology - Recovery Sacrifice (number of animals)								
Number examined	2	2	2	2	2	2	2	2
Ovary: cyst, left	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Skin/Subcutis: discoloured, thorax, right	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology - Recovery Sacrifice (number of animals)								
Number examined	2	2	2	2	2	2	2	2
Adrenal, cortex: cortical tissue, extracapsular	0	1	0	0	0	0	0	1
increased vacuolation	0	0	0	0	0	1	0	1
Brain: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	0	1	0	0	0
Catheter site: haemorrhage	0	0	0	1	0	0	0	0
inflammation, chronic/chronic-active	2	2	2	2	2	2	2	2
Pigment	1	1	1	1	1	2	2	2
Cecum: inflammation, vascular/perivascular	0	1	0	0	0	0	0	0
Colon: haemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation, lymphohistiocytic	0	0	1	0	0	0	0	0
inflammation, vascular/perivascular	1	0	1	0	0	1	1	0
Epididymis: aspermia	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
inflammation, vascular/perivascular	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Oesophagus: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	0	0	0	1	0
Gallbladder: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	0	0	1	1	1	0	0
Gland, mandibular, salivary: infiltrate, lymphocytes/macrophages	2	1	2	1	2	1	1	0
Mineralization	0	1	0	0	0	0	0	0
Heart: fibrosis/inflammation, chronic, atrium	1	0	0	0	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	2	1	1	2	0	2	2	2
inflammation, vascular/perivascular	0	0	1	0	0	0	0	0
Infusion site: inflammation, chronic/chronic-active	0	0	1	1	0	1	2	0
Thrombus	0	1	0	0	0	0	0	0
Kidney: basophilic tubule	1	2	1	0	0	0	0	2
cast, proteinaceous	0	1	0	0	0	0	0	0
Congestion	0	0	0	0	0	0	0	1
Haemorrhage	0	1	0	0	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes/macrophages	2	2	1	2	2	0	2	2
inflammation, vascular/perivascular	0	1	0	0	0	0	1	0
mineralization, tubule	2	0	0	0	0	0	1	1
Liver: infiltrate, lymphocytes/macrophages	2	1	1	1	1	2	2	1
Lung: hyperplasia, epithelium, alveolus	0	0	1	0	0	0	0	0
infiltrate, lymphocytes	0	0	1	0	0	0	0	1

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
infiltrate, macrophages, alveolus	0	2	1	1	1	2	1	2
pigment, black	1	0	1	0	1	1	0	0
Lymph node, mandibular: erythrocytes, sinus	0	0	0	1	0	0	0	0
Muscle, biceps femoris: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	1	0	0	0	0
Ovary: cyst, follicle	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
mineralization	NA	2	NA	0	NA	2	NA	1
Pancreas: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	0	0	1	0	0
inflammation, vascular/perivascular	1	0	0	0	0	0	0	0
Pituitary: cyst	0	0	0	1	0	0	0	0
Prostate: immature	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Seminal vesicle: immature	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Skin/Subcutis: inflammation, chronic-active	0	0	0	0	1	0	0	0
Testis: immature	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Thymus: cyst	0	0	0	0	0	0	1	0
Thyroid: cyst	0	0	0	0	1	0	0	2
Tongue: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	0	0	2	0	0	1	0
Trachea: infiltrate, lymphocytes/macrophages	0	1	1	1	1	1	0	2
Urinary bladder: infiltrate, lymphocytes/macrophages	1	1	1	0	1	0	1	2

2.6.7.7.3 サルの 4 週間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**50**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Anti-Drug Antibody (n/N)								
Pre-dose	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Terminal sacrifice - Day 29	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	1/5
Recovery sacrifice	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	1/2

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantification; M = male; MCV = mean corpuscular volume; NA = not applicable (no samples); No. = number

* Some of the contributing analyses were performed by the Sponsor and were not conducted in full compliance with GLP regulations: dose verification/formulation analysis, bioanalysis, and anti-drug antibody analysis.

[a] Statistically significant from Group 1 at $p \leq 0.05$

[b] Animals in all groups received 5 mg/kg diphenhydramine.

\- No noteworthy findings.

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験

報告書の題名：A 6-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of SBC-102 by Intravenous Infusion in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Species/Strain: Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:** Once weekly for 6 months (total of 26 doses)				**Study No.** 20006580 (SBC102-T006)			
Initial Age: 2.3 to 2.9 years	**Duration of Postdose:** 2 weeks							
Date of First Dose: [redacted]	**Method of Administration:** 3-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)				**GLP Compliance:** Yes			
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.							
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg								
Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics (5 animals/sex/dose group/timepoint):								
AUC_{last} (µg·h/mL)								
Day 1	<LLOQ	<LLOQ	3.37	2.94	41.2[a]	40.4	597	598
Day 176	<LLOQ	<LLOQ	5.84[a]	6.36	103	107	1086	1040
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	<LLOQ	<LLOQ	1.43	1.16	17.6[a]	17.7	216	207
Day 176	<LLOQ	<LLOQ	3.56	3.62	43.8	47.8	351	320
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund (n/N)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Clinical Observations (number of animals)								
Apparent dose reaction, Day 1 (decreased activity, reddened face, frothing at the mouth)	0	0	0	0	1	0	0	0
Periorbital swelling	0	1	1	1	3	2	0	2
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology - Day 22	-	-	-	-	-	-	-	-
Platelets (10^3/µL)	528.0	572.8	519.8	447.4[b]	501.8	421.6[b]	504.0	484.0
Haematology - Day 85	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology - Day 176	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation - Day 22	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation - Day 85	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation - Day 176	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry - Day 22								
Chloride (mEq/L)	106.0	107.8	106.4	106.8	106.6	105.6	110.0[b]	109.2
Bicarbonate (mEq/L)	20.2	20.6	22.2	19.8	21.6	21.8	16.0[b]	20.0
Serum Chemistry - Day 85								
Aspartate aminotransferase (U/L)	31.2	31.2	28.8	27.2	35.6	49.4[b]	31.6	30.2
Globulin (g/dL)	2.96	2.70	2.70	2.96	2.92	2.86	2.64	3.20[b]
Albumin / Globulin	1.58	1.58	1.60	1.44	1.46	1.44	1.60	1.28[b]

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Serum Chemistry - Day 176	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis - Day 176	-	-	-	-	-	-	-	-
ECG - Day 176	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal Sacrifice (3 animals/sex/dose group)								
Organ Weights, absolute (g) - Terminal Sacrifice (Day 183)								
Spleen	4.0483	2.1463	4.2883	2.8043	3.3673	4.3640[b]	3.4833	3.7790
Organ Weights / BW - Terminal Sacrifice (Day 183)	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights / Brain - Terminal Sacrifice (Day 183)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology - Terminal Sacrifice (number of animals)								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone, calvarium: depressed area	0	1	0	0	0	0	0	0
Brain: depressed area; yellow; parietal lobe; cortex; right	0	1	0	0	0	0	0	0
Colon: area/foci, dark; red; mucosa; multifocal	0	0	0	1	0	0	0	0
Thyroid/parathyroid: not found; left	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Histopathology - Terminal Sacrifice (number of animals)								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Adrenal: hypertrophy; cortex; focal	0	0	0	1	1	0	0	0
Bone marrow, sternum: aggregate, lymphoid; focal	0	1	0	1	0	1	0	2
aggregate, lymphoid; multifocal	0	0	1	0	0	0	0	0
Brain: infiltrate, mononuclear cell; choroid plexus; focal	0	0	0	0	1	0	0	0
infiltrate, mononuclear cell; meninges; focal	0	0	0	0	2	0	0	1
infiltrate, mononuclear cell; meninges; multifocal	0	0	1	0	0	0	0	0
infiltrate, mononuclear cell; perivascular; parenchyma; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
gliosis; focal	0	1	0	0	0	0	0	0
atrophy; focal	0	1	0	0	0	0	0	0
mineralization; parenchyma; focal	1	0	0	0	0	0	0	0
granuloma; meninges; focal	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Catheter entrance: fibroplasia/fibrosis; perivascular	2	3	3	3	3	0	3	3
inflammation, chronic; perivascular	0	1	1	2	0	1	2	1
Granuloma	0	1	0	0	1	0	0	0
not examined: insufficient tissue for evaluation	0	0	0	0	0	1	0	0
Catheter tip: fibroplasia/fibrosis; perivascular	1	1	0	2	0	2	2	1
hemosiderin	0	0	0	1	0	1	0	0
proliferation, intima	1	0	0	0	0	0	0	0
inflammation, chronic; perivascular	1	0	0	0	1	1	1	1
not examined: insufficient tissue for evaluation	1	1	0	0	0	0	0	0
Cecum: nematode parasite Oesophagostomum	1	0	0	0	0	0	0	0
nematode parasite Trichuris	1	0	0	0	0	0	0	0
Colon: haemorrhage; multifocal	0	0	0	1	0	0	0	0
Epididymis: immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
appendix testis	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Eye: infiltrate, mononuclear cell; ciliary body; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
infiltrate, mononuclear cell; ciliary body; multifocal	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, lacrimal: infiltrate, mononuclear cell	2	3	2	2	2	2	1	3
Heart: degeneration; myocardium; multifocal	0	0	0	0	0	0	0	1
infiltrate, mononuclear cell; myocardium; focal	1	0	0	0	0	0	0	0
infiltrate, mononuclear cell; myocardium; multifocal	2	2	1	0	3	0	3	1
fibrosis; myocardium; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidney: mineralization; papilla; multifocal	0	0	0	1	0	1	0	1
infiltrate, mononuclear cell; interstitium; multifocal	1	1	2	1	2	2	2	2
fibrosis; interstitium; cortex; focal	1	1	0	0	0	0	0	0
cast, protein; multifocal	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver: necrosis; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
rarefaction, cytoplasm; hepatocyte; diffuse	0	0	1	0	0	0	1	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Lung: hemosiderin; multifocal	0	0	0	1	0	0	0	0
fibrosis; pleura; focal	0	0	0	0	0	0	1	0
infiltrate, histiocyte; alveolar wall; focal	0	0	0	0	0	0	1	0
inflammation, chronic; alveolus; multifocal	0	0	0	0	0	0	1	0
alveolar macrophages increased; diffuse	1	0	0	0	0	0	1	0
congestion	0	0	0	0	0	0	1	0
granuloma, foreign body; focal	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymph node, inguinal; increased size/number, germinal centre	0	1	2	0	1	1	0	1
Lymph node, mandibular: increased size/number, germinal centre	1	1	2	3	3	2	1	3
Lymph node, mesenteric: increased size/number, germinal centre	0	0	2	0	1	0	0	1
Pancreas: infiltrate, mononuclear cell; focal	0	0	0	0	0	0	1	1
Parathyroid: infiltrate, mononuclear cell	1	0	1	0	0	0	0	0
not examined: not present on slide	1	0	0	0	1	2	1	1
Pituitary: cyst	1	0	0	0	0	0	0	2
infiltrate, mononuclear cell; pars nervosa; multifocal	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Prostate: infiltrate, mononuclear cell	1	NA	3	NA	2	NA	0	NA
immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Salivary gland, mandibular: infiltrate, mononuclear cell	2	3	3	2	3	2	1	3
lymphoid follicle; focal	0	0	0	0	0	1	1	0
Seminal vesicle: immature	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Spleen: increased size/number, germinal centre	1	0	2	0	2	1	0	1
infiltrate, macrophage; red pulp; diffuse	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach: infiltrate, lymphoplasmacytic; mucosa; diffuse	1	1	2	2	1	2	1	2
haemorrhage; focal	0	1	0	0	0	0	0	0
Testis: immature, no spermatogenesis	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
appendix testis	2	NA	0	NA	0	NA	0	NA
fibrous connective tissue increased; septum	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus: involution	3	2	3	3	3	3	3	3
cyst	1	0	0	1	0	0	0	0
Thyroid: infiltrate, mononuclear cell; interstitium; multifocal	1	0	0	0	1	0	0	0
degeneration; basophilic; follicle; multifocal	2	2	2	0	0	1	1	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Urinary bladder: infiltrate, mononuclear cell; submucosa; diffuse	1	0	0	0	0	0	0	0
Recovery Phase (2 animals/sex/dose group)								
Organ Weights, absolute (g) - Day 197	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights / BW - Day 197	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights / Brain - Day 197	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology - Recovery Sacrifice (number of animals)								
Number examined	2	2	2	2	2	2	2	2
Colon: area/foci, dark; red; mucosa; multifocal	0	1	0	1	0	0	0	0
Liver: nodule; firm; tan; single	0	0	0	0	1	0	0	0
Lung: nodule; firm; right diaphragmatic lobe; tan; single	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen: area/foci, pale; pink; single	0	0	0	0	1	0	0	0
enlargement	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology - Recovery Sacrifice (number of animals)								
Number examined	2	2	2	2	2	2	2	2
Adrenal: hypertrophy; cortex; focal	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Brain: infiltrate, mononuclear cell; meninges; focal	1	0	0	0	1	1	0	0
infiltrate, mononuclear cell; meninges; multifocal	0	0	0	0	1	0	0	2
infiltrate, mononuclear cell; perivascular; parenchyma; focal	1	1	0	1	0	0	0	0
gliosis; focal	0	0	0	0	1	0	0	0
mineralization; meninges; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
mineralization; parenchyma; focal	1	0	0	0	0	0	0	0
mineralization; parenchyma; multifocal	0	0	1	0	0	0	0	0
cyst; multiple	0	0	0	0	0	0	1	0
Catheter entrance: fibroplasia/fibrosis; perivascular	2	2	2	2	2	2	2	2
Hemosiderin	0	1	1	0	0	0	0	1
inflammation, chronic; perivascular	0	2	1	2	2	2	2	2
Granuloma	1	0	0	0	1	2	1	0
Catheter tip: fibroplasia/fibrosis; perivascular	0	1	0	1	1	2	0	1
inflammation, chronic; perivascular	0	0	0	1	1	1	0	1
granuloma	0	0	0	0	1	0	0	1
thrombus; focal	0	0	0	0	1	1	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
not examined: insufficient tissue for evaluation	1	0	0	0	0	0	0	0
Cecum: ciliate parasite Balantidium	1	1	1	0	0	0	1	0
inflammation, chronic; diffuse	0	1	0	0	0	0	0	0
Colon; haemorrhage; focal	0	0	0	0	0	0	0	1
haemorrhage; multifocal	0	1	0	1	0	0	0	0
Epididymis: immature	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
appendix testis	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Eye: infiltrate, mononuclear cell; ciliary body; focal	0	0	0	1	0	0	0	1
infiltrate, mononuclear cell; ciliary body; multifocal	0	0	0	0	0	0	1	0
Gland, lacrimal: infiltrate, mononuclear cell	2	0	2	1	1	1	2	2
lymphoid follicle; focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Heart: infiltrate, mononuclear cell; myocardium; multifocal	1	0	2	1	2	2	1	1
Kidney: mineralization; papilla; multifocal	0	0	0	0	0	1	0	0
infiltrate, mononuclear cell; interstitium; multifocal	2	2	2	0	2	0	0	2
Liver: granuloma, parasitic	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Lung: inflammation, chronic; alveolus; focal	1	0	0	0	0	2	0	0
granuloma, parasitic	0	0	0	0	1	0	0	0
thrombus; focal	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, inguinal: increased size/number, germinal centre	0	1	0	0	0	0	0	1
Lymph node, mandibular: extramedullary haematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	2
increased size/number, germinal centre	1	2	1	1	0	1	0	2
Lymph node, mesenteric: increased size/number, germinal centre	0	0	1	0	0	0	1	0
Mammary glands: dilated/cystic duct	1	0	0	0	0	0	0	0
not examined: not present on slide	0	0	0	0	0	0	0	1
Nerve, sciatic: infiltrate, mononuclear cell; perivascular; perineural	1	0	0	0	0	0	0	0
Ovary: mineralization	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Pancreas: infiltrate, mononuclear cell; multifocal	0	0	0	0	2	0	0	0
Parathyroid: cyst	0	1	0	0	2	2	2	0
infiltrate, mononuclear cell	0	0	0	0	0	0	1	0
ectopic tissue, thymus	0	0	0	0	1	0	0	0
not examined: not present on slide	1	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Pituitary: cyst	0	0	1	0	0	0	0	0
Prostate: infiltrate, mononuclear cell	1	NA	0	NA	2	NA	2	NA
immature	2	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Rectum: inflammation, chronic; diffuse	0	1	0	0	0	0	0	0
Salivary gland, mandibular: infiltrate, mononuclear cell	2	2	1	1	2	2	2	2
lymphoid follicle; focal	0	1	0	0	0	0	2	0
mineralization; duct; focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Seminal vesicle: immature	2	NA	2	NA	1	NA	2	NA
Skeletal muscle, psoas: infiltrate, neutrophil; interstitium	0	1	0	0	0	0	0	0
Spleen: decreased size/number, germinal centre	0	0	1	0	0	0	0	0
increased size/number, germinal centre	0	0	1	0	1	0	1	1
granuloma, parasitic	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach: infiltrate, lymphoplasmacytic; mucosa; diffuse	1	2	1	2	2	2	2	1
Testis: immature, incomplete spermatogenesis	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
immature, no spermatogenesis	1	NA	2	NA	2	NA	2	NA
fibrous connective tissue increased; septum	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.7.4 サルの 6 ヵ月間静脈内持続投与毒性試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Thymus: involution	2	2	2	2	0	1	1	1
cyst	2	0	1	0	2	0	0	0
Thyroid: infiltrate, mononuclear cell; interstitium; multifocal	1	0	1	0	1	1	1	0
degeneration; basophilic; follicle; multifocal	0	1	0	0	0	1	1	1
lymphoid follicle; focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Ureter: infiltrate, mononuclear cell; focal	0	0	0	0	0	1	0	0
Vagina: atrophy; epithelium	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Anti-Drug Antibody (n/N)								
Pre-dose	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Terminal sacrifice - Day 176	0/5	0/5	4/5	5/5	4/5	3/5	3/5	4/5

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; BW = body weight; C_{max} = maximum observed serum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantification; M = male; NA = not applicable (no samples); No. = number

[a] N=4

[b] Statistically significant from Group 1 at $p \leq 0.05$ using ANOVA by Dunnett's / Dunn's

\- No noteworthy findings.

2.6.7.8 *In Vitro*遺伝毒性試験

ICH ガイドライン S6（R1）では、組換えヒト酵素が DNA や染色体成分と直接相互作用するとは考えにくく、従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は、バイオ医薬品に対しては適切なものではなく必要とされないとされていることから、セベリパーゼ　アルファの *in vitro* 遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.9 *In Vivo*遺伝毒性試験

ICH ガイドライン S6（R1）では、組換えヒト酵素が DNA や染色体成分と直接相互作用するとは考えにくく、従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は、バイオ医薬品に対しては適切なものではなく必要とされないとされていることから、セベリパーゼ　アルファの *in vivo* 遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.10 がん原性試験

ICH ガイドライン S6（R1）では、バイオ医薬品においては作用メカニズム及び生物学的活性からがん原性に関する懸念がない場合に、標準的ながん原性試験は一般的に不適当とされていることから、セベリパーゼ　アルファのがん原性試験は実施しなかった。セベリパーゼ　アルファはライソゾーム病の酵素補充療法治療薬として開発された組換え酵素であり、この条件に該当すると考えられる。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.11.1 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験

報告書の題名：SBC-102: An Intravenous Infusion Range-finding Embryo-fetal Development Study in the Albino Rat

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** Days 6, 9, 12, 15, and 17 pc (total of 5 doses)			**Study No.** 902522 (SBC102-T007)	
Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley Crl:CD(SD)	**Day of Mating:** Day 0				
Initial Age: 10 to 12 weeks	**Day of C-Section:** Day 21 pc			**GLP Compliance:** Yes[a]	
Date of First Dose: [redacted]	**Method of Administration:** 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)				
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.				
No Observed Adverse-Effect Level: Not determined					
F_0 Females: 30	**F_1 Litters:** 29				
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**5**	**15**	**30**	**60**
Dams:					
No. Pregnant	6	6	6	6	6
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0
Clinical Observations (number of animals)					
Excessive scratching	0	0	1	4	5
Skin scab / axillary left	4	4	2	4	5
Skin scab / axillary right	4	4	4	4	6
Skin scab / dorsal thoracic	5	5	6	6	6
Skin scab / ventral cervical	2	1	2	1	2
Skin scab / ventral thoracic	1	0	2	1	1

2.6.7.11.1 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	5	15	30	60
Swollen soft / cranium	2	6	6	6	5
Swollen soft / forelimb left	0	0	1	1	6
Swollen soft / forelimb right	0	0	1	2	5
Swollen soft / forepaw left	0	0	1	4	1
Swollen soft / forepaw right	0	0	1	4	1
Swollen soft / hindlimb left	0	0	0	1	6
Swollen soft / hindlimb right	0	0	0	1	6
Swollen soft / hindpaw left	0	0	0	0	1
Swollen soft / hindpaw right	0	0	0	0	1
Swollen soft / muzzle	0	3	2	6	6
Swollen soft / ventral cervical	0	3	2	2	2
Teeth caught in jacket	0	1	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Body Weight (g) - Day 21 pc	429.8	424.5	414.7	396.8	411.7
Food Consumption (g/animal) - Days 6 to 21 pc	496.6	463.2	471.2	456.2	457.3
Mean No. Corpora Lutea	15.2	17.8	14.2	14.5	14.8
Mean No. Implantations	14.0	15.5	13.3	12.3	13.3
Mean % Preimplantation Loss	6.72	11.92	5.15	16.47	9.17
Gross Pathology - Terminal Sacrifice (number of animals)					
Number examined	6	6	6	6	6
Infusion site: mass; firm, pale	1	0	0	0	0
thick	0	0	0	0	1
abnormal consistency, firm	0	1	0	0	0

2.6.7.11.1 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	5	15	30	60
Thymus: focus, dark	1	0	0	0	0
Lymph node: enlargement	0	0	1	0	0
Litters:					
No. Litters Evaluated	5	6	6	6	6
No. Live Foetuses	11.7	15.2	12.7	11.0	12.3
Mean No. Resorptions	2.3	0.3	0.7	1.3	1.0
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	17.72	2.38	5.05	14.37	7.13
Mean Foetal Body Weight (g)[c]	6.028	5.574	6.027	5.887	5.801
Foetal Sex Ratios (% males)	54.80[b]	50.13	59.27	55.12	43.00
Foetal Anomalies:					
External (no. examine: litter / foetuses)	5 / 70	6 / 91	6 / 76	6 / 66	6 / 74
Major Malformations (total)	-	-	-	-	-
Minor Malformations (total)	-	-	-	-	-

GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; No. = number; pc = postcoitum

- No noteworthy findings.

[a] For this pilot study, the dose formulation analysis was performed by the Sponsor and was not conducted in full compliance with GLP regulation. For the subsequent study (SBC102-T011), similar analyses were conducted, in accordance with GLP.

[b] N=5; excludes the 1 animal with ammonium sulphate

[c] Males and females combined.

2.6.7.11.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験

報告書の題名：SBC-102: An Intravenous Infusion Embryo-fetal Development Dose Range-finding Study in the Rabbit

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** Days 7, 10, 13, 16, and 19 pc (total of 5 doses)				**Study No.** 902523 (SBC102-T008)
Species/Strain: Rabbit, New Zealand White Hra[NZW]SPF	**Day of Mating:** Day 0				
Initial Age: 6 to 7 months	**Day of C-Section:** Day 29 pc				**GLP Compliance:** Yes[a]
Date of First Dose: [redacted]	**Method of Administration:** 5-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)				
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.				
No Observed Adverse-Effect Level: Not determined					
F_0 Females: 25	**F_1 Litters:** 21				

Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**25**	**50**
Does:					
Toxicokinetics (5 animals/dose group/timepoint):					
AUC_{last} (µg·h/mL)					
Day 7 pc (first dosing day)	<LLOQ	0.780	11.1	451	978
Day 19 pc (last dosing day)	<LLOQ	4.05	22.9	237[b]	653
C_{max} (µg/mL)					
Day 7 pc (first dosing day)	<LLOQ	0.207	2.70	147	246
Day 19 pc (last dosing day)	<LLOQ	1.07	5.97	58.9	146
No. Pregnant	5	5	5	4	5
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	1	1	0	1

2.6.7.11.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	3	10	25	50
Clinical Observations					
Unscheduled euthanasia	0	1	1	0	0
Terminal euthanasia	5	4	4	5	5
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Body Weight (g) - Day 29 pc	3.76	3.63	3.78	3.63	3.78
Food Consumption (g/animal) - Days 7 to 29 pc	3292.2	2959.8	3170.0	2870.3	3282.5
Mean No. Corpora Lutea	12.0	11.0	10.5	12.3	10.4
Mean No. Implantations	9.8	9.5	8.8	10.0	7.4
Mean % Preimplantation Loss	16.02	12.43	16.58	19.20	25.16
Gross Pathology - Terminal Sacrifice (number of animals)					
Number examined	5	5	5	5	5
Infusion site: firm	2	0	1	0	1
thickening	0	2	2	0	0
Salivary gland mandibular: swelling	1	0	0	0	0
Spleen: enlargement	0	1	0	0	0
Vagina: material dark	0	1	0	0	0
Anti-Drug Antibody (n/N)					
Pre-dose	NA	NA	NA	NA	NA
Terminal sacrifice - Day 20	0/5	5/5	3/5	3/5	1/5
Litters:					
No. Litters Evaluated	5	4	4	4	4
No. Live Foetuses	9.4	8.5	8.8	9.8	4.6
Mean No. Resorptions	0.4	1.0	0.0	0.3	2.8
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0	0

2.6.7.11.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与予備試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	3	10	25	50
Mean % Postimplantation Loss	3.24	10.80	0.00	4.18	37.76
Mean Foetal Body Weight (g)[d]	38.62	38.01	42.44	42.69	45.98
Foetal Sex Ratios (% males)	55.76	48.50	57.05	63.65	49.38[c]
Foetal Anomalies:					
External (no. examine: litter / foetuses)	5 / 47	4 / 34	4 / 35	4 / 39	4 / 23
Major Malformations (total)	-	-	-	-	-
Minor Malformations (total)	-	-	-	-	-

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; LLOQ = lower limit of quantification; NA = not applicable (no samples); No. = number; pc = postcoitum

- No noteworthy findings.

[a] For this pilot study, the dose formulation analysis, bioanalysis, and anti-drug antibody analysis were performed by the Sponsor and were not conducted in full compliance with GLP regulations. For the subsequent study (SBC102-T012), similar analyses were conducted, in accordance with GLP.

[b] N=1

[c] N=5; excluding animals with total resorption

[d] Males and females combined.

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

2.6.7.12.1 雄ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験

報告書の題名：Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of SBC-102 by Intravenous Infusion in Male Rats

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Design Similar to ICH 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing:** Twice weekly for 4 weeks prior to cohabitation, during cohabitation, and approx. 2 to 3 weeks after the end of cohabitation, for a minimum of 14 doses (male rats only)	**Study No.** 902526 (SBC102-T009)
Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley Crl:CD(SD)	**Initial Age:** M: 10 weeks old	**Day of Mating:** Day 0 pc
Date of First Dose: [redacted]	**Day of C-Section:** Day 13 pc	
	Method of Administration: 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)	**GLP Compliance:** Yes
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.	
Special Features: No		
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Males:** 20 mg/kg **F_1 Litters:** 60 mg/kg		

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)[b]	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Males:				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	1	0	0
Clinical Observations (number of animals)				
Abnormal gait	0	13	8	0
Activity decreased	14	18	20	18
Breathing abnormal sounds	0	0	5	0
Breathing laboured	0	1	8	10

2.6.7.12.1 雄ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Excessive scratching	3	5	13	10
Eye partly closed	11	18	19	14
Hunched posture	0	1	3	0
Hypersensitive	9	6	4	7
Lying on side	0	0	3	2
Muscle tone decreased	0	0	2	0
Prostrate	0	9	15	13
Respiratory rate increased	0	17	12	10
Respiratory rate irregular	0	1	0	4
Skin pallor	0	0	1	2
Skin red\periorbital	14	16	22	20
Skin scab\dorsal thoracic	15	19	20	17
Skin scab\lumbar	22	21	21	21
Swollen\soft cranium	16	20	21	22
Swollen\soft muzzle	18	22	22	22
Body Weight (g) - Day 63[d]	586.3	573.2 (-2%)	574.0 (-2%)	571.5 (-3%)
Food Consumption (g/animal) - Days -1 to 63[a,d]	1449.6	1401.3 (-3%)	1396.3 (-4%)	1393.2 (-4%)
Spermatozoa Count (mil/g)	762.755	836.889	733.379	769.475
Sperm Evaluation: Motility (%)	71.0	66.9	72.6	75.4
Necropsy Observations	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	2.6	3.1	3.5	2.6
No. of Males that Mated	22	22	22	22

2.6.7.12.1 雄ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	1	2	3	4
Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	6	20	60
Naïve Females:				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Gestation Body Weight (g)[c,d]	374.0	366.2 (-2%)	363.2 (-3%)	361.7 (-3%)
Mean No. Days Prior to Mating	2.6	3.1	3.5	2.6
Mean No. Estrous Cycles	2.3	2.0	2.4	2.2
No. of Pregnant Females	21	22	22	21
Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index (%)	95.5	100.0	100.0	95.5
Conception Rate (%)	95.5	100.0	100.0	95.5
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	18.2	18.5	18.3	18.4
Mean No. Implantations	17.1	16.7	16.8	16.6
Mean % Preimplantation Loss	5.72	9.50	8.41	10.30
Mean No. Live Conceptuses	16.4	15.8	15.9	15.7
Mean No. Early Resorptions	0.8	1.0	0.9	0.9
No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	4.20	5.44	5.37	6.34

GLP = Good Laboratory Practice; M = male; No. = number; pc = postcoitum

- No noteworthy findings.

[a] After 9 weeks of dosing.

[b] Over 9 weeks of dosing.

[c] At Day 13 pc

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, group means (percent differences from controls) are shown.

[e] Animals in all groups received 5 mg/kg diphenhydramine starting with the 4th dose.

2.6.7.12.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験

報告書の題名：An Intravenous Infusion Fertility and Early Embryonic Development Study of SBC-102 in the Female Rat

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Design Similar to ICH 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing:** Twice weekly for 14 days prior to cohabitation, during cohabitation, and until Day 7 pc, for a maximum of 10 doses (female rats only)	**Study No.** 902528 (SBC102-T010)
Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley Crl:CD(SD)	**Initial Age:** 10 weeks	**Day of Mating:** Day 0 pc
Date of First Dose: [redacted]	**Day of C-Section:** Day 13 pc	
	Method of Administration: 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)	**GLP Compliance:** Yes
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.	
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females:** 60 mg/kg **F_1 Litters:** 60 mg/kg		

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Females:				
No. Evaluated	22	21	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	1	0	0
Clinical Observations: Premating (number of animals)				
Activity decreased	18	22	22	22
Eyes partly closed (ptosis)	3	10	10	3
Excessive scratching	0	0	2	8
Swollen soft \muzzle and/or head	20	22	22	22

2.6.7.12.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Swollen soft \forepaws and hindlimbs	0	0	0	22
Skin red	0	1	0	20
Clinical Observations: Gestational Period (number of animals)				
Activity decreased	20	21	21	19
Eyes partly closed (ptosis)	4	5	8	1
Swollen soft \muzzle and/or head	21	21	21	20
Swollen soft \forepaws and hindlimbs	0	1	0	16
Skin red	1	1	5	18
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[a]				
Premating; Day 11	286.3	301.0 (5.1%)[b]	295.0 (3.0%)	301.0 (5.1%)[b]
Gestation; Day 13 pc	365.6	393.2 (7.5%)[c]	378.9 (3.6%)	378.8 (3.6%)
Food Consumption (g/animal)[a]				
Premating; Day 1 to 14	333.8	335.1 (0.4%)	333.4 (-0.1%)	329.9 (-1.2%)
Gestation; Day 0 to 13 pc	402.3	426.9 (6.1%)	398.7 (-0.9%)	410.1 (1.9%)
Mean No. Estrous Cycles/14 days[d]	3.3	3.2	3.2	3.2
Average Cycle Length (days)[e]	4.1	4.5	4.4	4.4
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	3.7	2.6	3.0
No. of Females Mated	22	21	22	21

2.6.7.12.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	1	2	3	4
Dose Level (mg/kg)	0 (Control)	6	20	60
No. of Pregnant Females	20	21	22	20
Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	95.5
Fertility Index (%)	90.9	100.0	100.0	90.9
Conception Rate (%)	90.9	100.0	100.0	95.2
No. with Total Resorption of Litter	0	1	1	1
Mean No. Corpora Lutea	16.6	17.0	17.3	17.1
Mean No. Implantations	15.0	14.9	15.6	15.2
Mean % Preimplantation Loss	10.1	15.8	9.3	11.6
Mean No. Live Conceptuses	13.6	14.2	13.6	14.2
Mean No. Resorptions	1.4	0.7	2.0	1.5
No. Dead Conceptuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Postimplantation Loss	9.2	8.8	12.2	9.3

GLP = Good Laboratory Practice; No. = number; pc = postcoitum

- No noteworthy findings;

[a] End of the premating or gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means (percent differences from controls) are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[b] Significantly different from control group (Group 1) value: $P \leq 0.05$

[c] Significantly different from control group (Group 1) value: $P \leq 0.001$ (Dunnett)

[d] Includes actual cycles seen in estrous and the “unseen” cycles determined to distinguish this from mean number of estrous cycles that were seen, which was also reported.

[e] Observed cycles.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験

報告書の題名：SBC-102: An Intravenous Infusion Embryo-Fetal Development Study in the Albino Rat

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** Days 6, 9, 12, 15 and 17 pc (total of 5 doses)			**Study No.** 902524 (SBC102-T011)
Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley Crl:CD(SD)	**Initial Age:** 11 to 12 weeks			**Day of Mating:** Day 0 pc
Date of First Dose: [redacted]	**Day of C-Section:** Day 21 pc			
	Method of Administration: 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)			**GLP Compliance:** Yes
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.			
Special Features: None				
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females:** 60 mg/kg **F_1 Litters:** 60 mg/kg				
Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)[d]	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Females:				
Toxicokinetics:				
Number Evaluated	2	8	8	8
AUC_{last} (µg·h/mL) - Day 17 pc	< LLOQ	2.16	12.1	227
C_{max} (µg/mL) - Day 17 pc	< LLOQ	0.560	2.85	57.9
Number Evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0

2.6.7.13.1　ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Clinical Observations (number of animals)				
Activity decreased	0	4	7	8
Breathing sounds abnormal	0	0	0	1
Breathing laboured	0	1	0	0
Excessive scratching	0	0	2	10
Eye partly closed	0	4	4	2
Lying on side	0	1	3	6
Prostrate	0	2	0	2
Respiratory rate increased	0	0	1	1
Swelling (paws and/or muzzle)	0	3	5	22
Body Weight (g) on Day 21 pc[a]	427.7	422.8 (-1.1%)	413.3 (-3.4%)	425.7 (-0.5%)
Food Consumption (g/animal) from Day 6 to 21pc[a]	470.4	456.1 (-3.0%)	461.0 (-2.0%)	451.1 (-4.1%)
Necropsy Observations	-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea	15.0	15.1	14.9	15.5
Mean No. Implantations	13.2	13.9	12.9	14.0
Mean % Preimplantation Loss	12.5	7.5	12.1	9.1
Anti-Drug Antibody (n/N)				
Pre-dose (TK satellite animals)	0/2	0/8	0/8	0/8
Day 18 pc (TK satellite animals)	0/1	0/7	3/8	0/7

2.6.7.13.1 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Litters:				
No. Litters Evaluated	22	22	22	22
No. Live Foetuses	12.8	13.1	11.8	13.3
Mean No. Resorptions	0.4	0.8	1.0	0.7
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	4.3	5.4	9.0	5.3
Mean Foetal Body Weight (g)[b]	5.97	5.90	5.92	5.95
Foetal Sex Ratios (% Male)	53.9	48.3	50.2	51.7
Foetal Abnormalities				
External Malformations or Variants	-	-	-	-
Visceral Malformations or Variants	-	-	-	-
Skeletal Malformations or Variants (litters / foetuses affected)				
Supraoccipital bone incomplete ossification	1 / 1	5 / 9[c]	0 / 0	7[c] / 10[c]
Hyoid bone incomplete ossification	19 / 45	19 / 50	16 / 37	19 / 69[c]

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; No. = number; pc = postcoitum

\- No noteworthy findings.

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, group means (percent differences from controls) are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[b] Males and females combined.

[c] Significantly different from control group (Group 1) value: $P \leq 0.05$

[d] Animals in all groups received 5 mg/kg diphenhydramine on Days 15 and 17 pc.

2.6.7.13.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験

報告書の題名：An Embryo-fetal Development Study of SBC-102 by Intravenous Infusion in Rabbits

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** Days 7, 10, 13, 16, and 19 pc (total of 5 doses)	**Study No.** 902525 (SBC102-T012)
Species/Strain: Rabbit, New Zealand White Hra(NZW)SPF	**Initial Age:** 5 to 6 months	**Day of Mating:** Day 0 pc
Date of First Dose: [redacted]	**Day of C-Section:** Day 29 pc	
	Method of Administration: 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)	**GLP Compliance:** Yes
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.	
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females:** 50 mg/kg **F_1 Litters:** 50 mg/kg		

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**10**	**25**	**50**
Does:				
Toxicokinetics:				
Number Evaluated	2	4	4	4
AUC_{last} (µg·h/mL)				
Day 7 pc (first dosing day)	< LLOQ	12.2	250	863
Day 19 pc (last dosing day)	~ LLOQ[g]	12.2[a]	379[b]	730
C_{max} (µg/mL)				
Day 7 pc (first dosing day)	< LLOQ	2.62	69.5	132
Day 19 pc (last dosing day)	~ LLOQ[g]	3.68 [a]	48.7 [b]	147

2.6.7.13.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**10**	**25**	**50**
Number Evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (kg)[c,d]	3.4	3.48 (2%)	3.52 (3%)	3.42 (0.3%)
Food Consumption (g/animal) from Day 7 to 29pc[cd]	3033.1	3164.2 (4%)	3166.2 (4%)	2948.8 (-3%)
Mean No. Corpora Lutea	10.1	10.6	9.8	10.6
Mean No. Implantations	9.4	9.5	8.8	8.4
Mean % Preimplantation Loss	7.1	9.7	9.5	19.2
Anti-Drug Antibody (n/N)				
Pre-dose	0/2	0/4	0/3	0/4
Terminal sacrifice - Day 20 pc	0/2	2/4[h]	1/3	0/4
Litters:				
No. Litters Evaluated	21	22	22	21
No. Live Foetuses	8.6	9.1	8.5	8.1
Mean No. Early Resorptions	0.8	0.5	0.2	0.3
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0

2.6.7.13.2 ウサギの胚・胎児発生に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**10**	**25**	**50**
Mean % Postimplantation Loss	7.6	5.3	3.7	3.3
Mean Foetal Body Weight (g) [f]	41.8	42.7	42.9	43.4
Foetal Sex Ratios (% Male)	52	51	55	48
Foetal Abnormalities				
External Malformations or Variants	-	-	-	-
Visceral Malformations or Variants	-	-	-	-
Skeletal Anomalies (litters / foetuses affected)				
Hyoid bone (body) incomplete ossification	0 / 0	0 / 0	0 / 0	3 / 5[e]

AUC_{last} = area under concentration-time curve from start of dose administration (0 hour) to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; No. = number; pc = postcoitum

- No noteworthy findings.

[a] N=3

[b] N=2

[c] At end of dosing period; for controls, group means are shown.

[d] For treated groups, group means (percent differences) from controls are shown.

[e] Significantly different from control group (Group 1) value: $P \leq 0.05$

[f] Males and females combined.

[g] Two animals had quantifiable levels up to 0.187 µg/mL (LLOQ 0.125 µg/mL) on Day 19 pc predose; these levels were <98% of the mean concentration in the lowest dose group on the same sampling occasion and were not considered to have an impact on TK.

[h] Includes 1 non-pregnant animal that was confirmed positive for ADAs at Day 20pc.

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

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験

報告書の題名：An Intravenous Infusion Pre and Postnatal Study of SBC-102 in the Rat

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Design Similar to ICH 4.1.2? Yes	**Duration of Dosing:** Days 6, 9, 12, 15,18, and 20 pc Days 4, 7, 10, 14, and 17 pp (total of 11 doses)		**Study No.** 902527 (SBC102-T013)	
Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley (Crl:CD[SD])	**Initial Age:** 73 to 87 days old		**Day of Mating:** Day 0 pc	
Date of First Dose: [redacted]	**Day of C-Section for F_1 Dams:** Day 13 pc			
Litters Culled/Not Culled: Culled	**Method of Administration:** 6-hour intravenous infusion (10 mL/kg/h)		**GLP Compliance:** Yes	
	Vehicle/Formulation: Trisodium citrate dihydrate (13.7 mg/mL), citric acid monohydrate (1.57 mg/mL), and human serum albumin (10 mg/mL). Diluted 1:1 with sterile saline (0.9%) prior to administration.			
Special Features: Behavioral Performance				
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females (maternal toxicity):** 60 mg/kg **F_0 Females (reproductive toxicity):** 60 mg/kg **F_1 Generation:** 60 mg/kg				
Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
F_0 Females:				
No. Evaluated	24	24	24	24
No. Pregnant	23	22	22	21
No. Died or Sacrificed Moribund	1	2	2	3
Clinical Observations: Gestation Period (number of animals)				
Excessive scratching	4	12	8	19
Swollen soft \cranium	0	2	0	0
Swollen soft \muzzle	1	17	21	24
Swollen soft \fore- and/or hindlimbs	0	6	14	23

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Clinical Observations: Lactation Period (number of animals)				
Excessive Scratching	0	1	1	2
Swollen Soft Muzzle	1	5	8	19
Swollen Soft Forepaws	1	0	2	12
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[a] Gestation				
Day 20 pc	398.9	398.0 (-0.2%)	384.0 (-3.7%)	390.8 (-2.0%)
Body Weight Gain (g)[a] Gestation				
Day 6 to 20 pc	126.8	122.2 (-3.6%)	116.1 (-8.4%)	123.5 (-2.6%)
Body Weight (g)[a] Lactation				
Day 21 pp	360.4	361.1 (0.2%)	358.1 (-0.6%)	362.2 (0.5%)
Body Weight Gain (g)[a] Lactation				
Day 0 to 21 pp	45.2	45.6 (0.9%)	47.9 (6.0%)	48.5 (7.3%)
Food Consumption (g/animal)[a] Gestation				
Day 6 to 18 pc	345.7	339.1 (-1.9%)	332.5 (-3.8%)	334.3 (-3.3%)
Histopathology	-	-	-	-
Mean Duration of Gestation (days)	21.4	21.5	21.9	21.7
Live Birth Index (%)	92.4	91.4	84.5	91.0
Abnormal Parturition (dystocia)	0	0	0	1
F_1 Litters				
No. Litters Evaluated	23	22	21	19
Mean No. of Implantations (Preweaning)	13.0	13.9	12.0	13.2

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Mean No. Liveborn Pups/Litter	12.4	12.7	10.2	12.8
No. of Litters with Stillborn Pups	3	3	3	3
No. of Stillborn Pups	3	3	23[c]	3
Pup Sex Ratios (% Males)	53.2	54.1	43.5	52.2
Postnatal Survival to Day 4 pp	96.7	97.0	98.4	98.0
Postnatal Survival to Weaning (Day 21 pp)	98.9	90.9	100.0	93.4
No. of Total Litter Losses (cannibalism)	1	0	2	1
Pup Body Weights (g)[a,b]				
Birth (Day 0 pp)	6.57	6.45 (-1.8%)	6.86 (4.4%)	6.52 (-0.8%)
Weaning (Day 21 pp)	54.5	50.4 (-7.6%)	51.0 (-6.5%)	51.5 (-5.6%)
Pup Clinical Signs	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
Physical Development	-	-	-	-
Reflexological Development	-	-	-	-
F_1 Males				
No. Evaluated Postweaning	22	20	18	18
No. Died or Sacrificed Moribund (Postweaning)	1	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Change (g)[a] Day 21 pp to Day 77 pp	409.2	411.8 (0.6%)	391.6 (-4.3%)	397.7 (-2.8%)
Preputial Separation				
Day of Development	42.0	41.9	41.8	42.3

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
Sensory Function	-	-	-	-
Behavioural Performance	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.6	2.7	2.5
No. of Males that Mated	21	20	18	18
No. of Fertile Males (No. Pregnant Females)	21	19	18	18
F_1 Females				
No. Evaluated Postweaning	21	20	18	18
No. Died or Sacrificed Moribund (Postweaning)	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight Change (g)[a]	214.0	212.3 (-0.8%)	213.8 (-0.1%)	211.6 (-1.1%)
Gestation Body Weight Change (g)[a]	66.0	66.3 (0.5%)	57.1 (-13.5%)	67.4 (2.1%)
Mean Age of Vaginal Patency				
Day of Development	32.2	32.3	32.3	32.2
Sensory Function	-	-	-	-
Behavioural Performance	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.6	2.7	2.5
No. of Pregnant Females	21	19	18	18
Mean No. Corpora Lutea	18.7	17.8	17.9	17.7
Mean No. Implantations	16.1	15.7	15.8	16.4
Mean % Preimplantation Loss	13.2	11.9	10.6	6.9

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する静脈内持続投与試験（続き）

被験物質：セベリパーゼ アルファ

Group	**1**	**2**	**3**	**4**
Dose Level (mg/kg)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**60**
F_2 Litters:				
Mean No. Live Conceptuses/Litter	15.1	14.3	15.3	15.6
Mean No. Early Resorptions	1.0	1.3	0.5	0.8
No. of Litter with Dead Conceptuses	0	0	0	0
No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	6.1	8.6	3.3	4.6

GLP = Good Laboratory Practice; No. = number; pc = postcoitum; pp = postpartum

- No noteworthy findings;

[a] 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).

[b] Males and females combined.

[c] Significantly different from control group (Group 1) value: $P \leq 0.01$ (Fisher's) for F_1 litter

2.6.7.15　新生児を用いた試験

セベリパーゼ　アルファの対象となる患者集団に小児患者が含まれていることを考慮して、非臨床安全性プログラムでは幼若動物を用いた試験を実施している。4 週間及び 6 ヵ月間投与毒性試験（SBC102-T001 試験及び SBC102-T006 試験）で使用したカニクイザルは 2～3 歳の範囲であり、ヒトでは小児に相当する（表 2.6.7.15.1）。

2.6.7.15.1 ヒトの年齢区分及び実験動物で対応すると考えられる時期

Species	Preterm	Newborn	Infant	Child	Adolescent
Human	-	0-28 days	1-23 months	2-12 years	12-16 years
Monkey	-	0-15 days	0.5-6 months	0.5-3 years	3-4 years
Dog	-	0-21 days	3-6 weeks	6-20 weeks	5-7 months
Pig	-	0-15 days	2-4 weeks	4-14 weeks	4-6 months
Rabbit	0-4 days	0-10 days	1.5-5 weeks	5-12 weeks	3-6 months
Rat	0-4 days	0-10 days	1.5-3 weeks	3-6 weeks	7-11 weeks
Mouse	0-4 days	0-10 days	1.5-3 weeks	3-5 weeks	5-7 weeks

From Barrow PC. Toxicology testing for products intended for pediatric populations. In: Sietsema WK, Schwen R, editors. Non clinical drug safety assessment: practical considerations for successful registrations. FDAnews; May 2007. p.413.

2.6.7.16 局所刺激性試験

被験物質：セベリパーゼ　アルファ

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg), Dosing Duration	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat, Sprague-Dawley	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 5, 20, 50 4 weeks (once weekly)	Group 1: 10 M / 10 F Groups 2-5: 15 M / 15 F	**Infusion / catheter site findings:** chronic-active inflammation in vessel wall and/or surrounding tissue, intimal proliferation, medial fibrosis, occasionally thrombosis or abscess of femoral vein (with partial or complete occlusion of vein). Chronic-active inflammation at these sites comparable in controls pretreated with DPH and sebelipase alfa-treated rats but absent in those receiving control with no DPH pretreatment. Recovery phase, skin/ subcutis - infusion, and/or catheter sites of single incidence and/or minimal to slight severity, noted in both control and sebelipase alfa-treated rats	8232384 (SBC102-T002)
Monkey, Cynomolgus	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 5, 20, 50 4 weeks (once weekly)	5 M / 5 F	**Infusion / catheter site findings:** chronic/chronic-active inflammation in animals, including controls; considered a local reaction to vascular access port or catheter and unrelated to sebelipase alfa. One recovery phase male had chronic-active inflammation in skin/subcutis overlying the infusion site, most likely due to localized infection/inflammation in the area of the vascular access port and unrelated to sebelipase alfa.	8232455 (SBC102-T001)
Monkey, Cynomolgus	IV infusion 10 mL/kg/h 0.9% saline	0, 3, 10, 30 6 months (once weekly)	5 M / 5 F	**Infusion / catheter site findings:** fibrosis, chronic inflammation, thrombi, granulomas, consistent with frequently observed procedure-related changes and similar in all groups; considered procedure-related and not associated with sebelipase alfa administration	20006580 (SBC102-T006)

DPH = diphenhydramine; F = female; IV = intravenous; M = male; No. = number

2.6.7.17　その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。