ガラフォルド®カプセル 123 mg
に関する資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容についての責任は Amicus Therapeutics 株式会社に帰属するものであり、当該情報を適正使用以外の営利目的に利用することはできません。

Amicus Therapeutics 株式会社

ガラフォルド®カプセル 123mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

Amicus Therapeutics 株式会社

目次

1　まとめ 6
2　単回投与毒性試験 12
2.1　ラット単回経口投与毒性試験 12
2.2　イヌ単回経口投与毒性試験 12
3　反復投与毒性試験 13
3.1　マウス 13
3.1.1　マウス 28 日間経口投与用量設定試験 13
3.2　ラット 14
3.2.1　ラット 5 日間経口投与用量設定試験 14
3.2.2　ラット 14 日間経口投与毒性試験 15
3.2.3　ラット 26 週間経口投与毒性試験 16
3.3　イヌ 18
3.3.1　イヌ 5 日間経口投与用量設定試験 18
3.3.2　イヌ 14 日間経口投与毒性試験 18
3.4　サル 19
3.4.1　サル 14 日間経口投与用量設定試験 19
3.4.2　サル 39 週間経口投与毒性試験 20
4　遺伝毒性試験 23
4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験 23
4.1.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 23
4.1.2　マウスリンフォーマ TK 試験 23
4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験 23
4.2.1　ラット骨髄小核試験 23
5　がん原性試験 25
5.1　Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験 25
5.2　ラット 104 週間経口投与がん原性試験 26

6　生殖発生毒性試験 31
6.1　受胎能及び初期胚発生試験 31
6.1.1　雌雄ラット受胎能試験 31
6.1.2　雄ラット受胎能試験 32
6.1.3　雌ラット受胎能試験 33
6.2　胚・胎児発生に関する試験 33
6.2.1　ラット胚・胎児発生毒性試験 33
6.2.2　非妊娠ウサギにおける用量設定予備試験 34
6.2.3　ウサギ胚・胎児発生毒性試験 34
6.3　出生前及び出生後の発生、並びに母体の機能に関する試験 36
6.3.1　ラット出生前及び出生後の発生に関する試験 36
6.4　幼若動物を用いた試験 37
7　局所刺激性試験 38
8　その他の毒性試験 39
8.1　*Gla* KO マウスを用いたミガーラスタット塩酸塩及びアガルシダーゼ ベータ 28 日間併用投与試験 39
8.2　光安全性 40
9　考察及び結論 41
10　参考文献 45

表目次

表 2.6.6 - 1 ミガーラスタット塩酸塩の毒性試験プログラム 7

表 2.6.6 - 2 マウス 28 日間用量設定試験の第 28 日の TK パラメーター 14

表 2.6.6 - 3　ラット 14 日間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 1 及び 14 日） 16

表 2.6.6 - 4　ラット 26 週間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 0 及び 181 日） 17

表 2.6.6 - 5　イヌ 14 日間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 1 及び 14 日） 19

表 2.6.6 - 6　サル 14 日間用量設定試験の TK パラメーター（第 0 及び 12 日） 20

表 2.6.6 - 7　サル 39 週間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 0 及び 267/268 日） 21

表 2.6.6 - 8　Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験の TK パラメーター（第 182 日） 26

表 2.6.6 - 9　ラット 104 週間経口投与がん原性試験における死亡数及び死亡率 27

表 2.6.6 - 10　ラットがん原性試験における膵臓所見の発現頻度 27

表 2.6.6 - 11　ラットがん原性試験で認められた膵臓所見の統計学的解析 28

表 2.6.6 - 12　ラット 104 週間がん原性試験の TK パラメーター （第 1 日並びに第 29 及び 37 週） 30

表 2.6.6 - 13　雄ラット受胎能試験の TK パラメーター（第 50 日） 33

表 2.6.6 - 14　ウサギ胚・胎児発生試験の TK パラメーター（妊娠 6 及び 9 日） 35

表 2.6.6 - 15　ラット出生前及び出生後の発生に関する試験の母動物及び胎児血漿中ミガーラスタット濃度 36

表 2.6.6 - 16　群構成 39

表 2.6.6 - 17　マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトでのミガーラスタット塩酸塩経口投与後の血漿中曝露量及び安全域 43

略号及び用語の説明

略号及び用語	日本語	英語
α-Gal A	α-ガラクトシダーゼ A	α-Galactosidase A
AT1001	ミガーラスタット塩酸塩の開発コード	Development code of migalastat hydrochloride
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve
AUC_{0-t}	0 時間から定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration
AUC_{0-48}	0 時間から 48 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 48 hours postdose
C_{max}	最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration
C_{max1}	1 日 2 回投与レジメンにおける 1 回目投与後の最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used
C_{max2}	1 日 2 回投与レジメンにおける 2 回目投与後の最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used
ECG	心電図	Electrocardiogram
F_1	第一世代	First-generation offspring
GL-3	グロボトリアオシルセラミド	Globotriaosylceramide
Gla	マウス α-Gal A 遺伝子	Murine α-Gal A gene
Gla KO マウス	内因性 α-Gal A タンパク質を欠損したファブリー病モデルマウス	Mouse model that lacks functional endogenous α-Gal A protein (knockout mice)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practices
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
KO	ノックアウト	Knockout
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析	Liquid chromatography tandem mass spectrometry
MEC	モル吸光係数	Molar Extinction Coefficient
MTD	最大耐量	Maximum tolerated dose
NOAEL	無毒性量	No-observed-adverse-effect level
$t_{1/2}$	消失半減期	Elimination half-life
Tg	トランスジェニック	Transgenic
TK	チミジンキナーゼ	Thymidine kinase
TK	トキシコキネティクス	Toxicokinetics

1　まとめ

ミガーラスタット塩酸塩（開発コード：AT1001）の毒性プロファイルを日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠して評価した。非臨床開発プログラムとして、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験を実施した（表 2.6.6 - 1）。主要な試験は、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」に準拠し、ミガーラスタット塩酸塩を用いて実施した。ミガーラスタット塩酸塩は、最終製剤の製造に使用されている。また、全ての非臨床試験で、溶媒には水を使用した。非臨床試験で用いる動物種では、血漿中ミガーラスタットの消失半減期（$t_{1/2}$）が比較的短いため（9 時間未満）、十分な曝露量を得られるよう、大半の試験で約 6 時間の投与間隔で 1 日 2 回投与とした。

ミガーラスタット塩酸塩を用いた反復投与毒性試験は、ラットで 6 ヵ月まで、カニクイザルで 9 ヵ月まで実施した。いずれの動物種も α-ガラクトシダーゼ A（α-Gal A）に対する高い親和性が確認されている（2.6.2.2.1.2 項）。生殖発生毒性プロファイルについては、ラット及びウサギで評価した。また、ミガーラスタット塩酸塩のがん原性については、トランスジェニック（Tg.）rasH2 マウスを用いた 26 週間試験及び従来のラットを用いた 104 週間がん原性試験で検討した。

主要な毒性試験では、検討した用量範囲にわたってトキシコキネティクス（TK）評価を実施した。TK 試験では、特に断りのない限り、ミガーラスタット濃度はバリデーション済みの液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いて測定した。TK パラメーターは、WinNonLin 又は PhAST® 2.3-001 でノンコンパートメント解析により求めた。なお、ミガーラスタットのクリアランスにおいて代謝の寄与はわずかで、ヒト特異的な代謝物も認められなかったことから（2.6.4.5 項及び 2.7.2.2.1.5 項）、ミガーラスタットの代謝物に関する毒性試験は実施しなかった。

表 2.6.6 - 1 ミガーラスタット塩酸塩の毒性試験プログラム

試験の種類	試験系	投与経路	投与期間	試験番号	GLP 適否
単回投与毒性試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	単回+3 日間回復	ITR5879	適
単回投与毒性試験	ビーグル犬	経口	単回+3 日間回復	ITR6001	適
反復投与毒性試験	マウス／ CByB6F1	経口	28 日間	ITR70575	適
反復投与毒性試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	5 日間	ITR5881	適
反復投与毒性試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	14 日間+14 日間回復	ITR5850	適
反復投与毒性試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	26 週間+8 週間回復（13 週間中間評価含む)	AA17017	適
反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	5 日間	ITR6003	適
反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	14 日間	ITR2978	適
反復投与毒性試験	カニクイザル	経口	14 日間	AA17225	適
反復投与毒性試験	カニクイザル	経口	39 週間+8 週間回復 (13 及び 26 週間中間評価含む)	AA17227	適
復帰突然変異試験	*Salmonella typhimurium* strains TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102	*In vitro*	N/A	247/001	適
マウスリンフォーマ *TK* 試験	マウス リンフォーマ L5178Y 細胞	*In vitro*	N/A	247/002	適
小核試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	2 日間	AA18463	適
がん原性試験	マウス／ Tg.rasH2	経口	26 週間	ITR70576	適
がん原性試験	ラット／ Sprague-Dawley	経口	104 週間	G4970	適

表 2.6.6 - 1 ミガーラスタット塩酸塩の毒性試験プログラム（続き）

試験の種類	試験系	投与経路	投与期間	試験番号	GLP 適否
雌雄受胎能試験	ラット／Sprague-Dawley	経口	雄： 1 回目交配；4 週間投与後、2 回目交配；10 週間投与後、3 回目交配；15 週間投与+4 週間休薬後 雌： 1 回目交配；交配 2 週間前から交配中及び妊娠 7 日まで、2 回目及び 3 回目交配は無処置	AA26533	適
雄受胎能試験	ラット／Sprague-Dawley	経口	雄：交配 4 週間前から交配中及び剖検前まで（少なくとも 9 週間）	AA31159	適
雌受胎能試験	ラット／Sprague-Dawley	経口	雌：交配 2 週間前から交配中及び妊娠 7 日まで	AA93208	適
胚・胎児毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	経口	妊娠 6～17 日	AA26551	適
用量設定試験	ウサギ／New Zealand White	経口	第 1 期：6 日間 第 2 期：3 日間	AA27674	否
胚・胎児毒性試験	ウサギ／New Zealand White	経口	妊娠 6～19 日	AA26552	適
出生前及び出生後発生毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	経口	妊娠 6 日～授乳 20 日	AA94762	適
併用反復毒性試験	マウス／*Gla* KO	経口 （ミガーラスタット塩酸塩） 静脈内（アガルシダーゼ ベータ）	4 週間（ミガーラスタット塩酸塩：週 3 回、アガルシダーゼ ベータ：週 1 回）	RR1001-11	否
紫外／可視吸収スペクトラム	N/A	*In vitro*	N/A	RR1001-65	否

Gla KO マウス= 内因性 α-Gal A タンパク質を欠損したファブリー病モデルマウス、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、N/A = 該当せず

単回及び反復投与試験において、ミガーラスタット塩酸塩の忍容性は良好であった。ラットにおける 1500 mg/kg 及びイヌにおける 316 mg/kg の単回経口投与の忍容性は良好であった。マウス 28 日間用量設定試験で認められた投薬に関連した所見は、1000 及び 2000 mg/kg/日（遊離塩基換算）を投与された雌、及び 2000 mg/kg/日を投与された雄における大腸（盲腸、結腸及び直腸）

の軽微～軽度の急性びまん性粘膜炎症のみであった。本刺激性は、投与液の濃度が高かったことに起因する所見であり、臨床的意義はないと考えられる。ラット 14 日間反復投与試験では、最高用量の 1500 mg/kg/日で高濃度液を投与したことによる局所刺激性所見が観察されたが、ミガーラスタット塩酸塩の忍容性は概ね良好であった。ラット 26 週間反復投与毒性試験では、1500 mg/kg/日で軟便が認められた。また、全投薬群（100、500 及び 1500 mg/kg/日）で、病理組織学的検査において脾臓のリンパ濾胞の軽微～軽度増加が認められ、1500 mg/kg/日群では、脾臓重量の増加を伴っていた。免疫毒性作用は認められなかった。ラット 104 週間がん原性試験では、検討した 800/1200 mg/kg/日までの用量で、脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。ラット 104 週間がん原性試験における最高用量での曝露量［第 37 週の 0 時間から定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）：176000 ng•hr/mL］は、ラット 26 週間試験の最高用量である 1500 mg/kg/日での曝露量（第 181 日の AUC_{0-t}：248355 ng•hr/mL）よりもわずかに低かったが、より長期投与の後でも（6 ヵ月間に対し 2 年間）脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。また、サル 39 週間試験では、曝露量がわずかに高かったにも関わらず（AUC_{0-t}：305823 ng•hr/mL）、脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。したがって、本試験で観察された脾臓での所見は有害所見とみなさず、ラット 26 週間反復毒性試験での無毒性量（NOAEL）は、500 mg/kg/日と判断した。イヌ 5 及び 14 日間反復投与毒性試験では、検討した最高用量である 500 mg/kg/日まで、投薬に関連する有害所見は認められなかった。サル反復投与毒性試験でも、最大 39 週間まで投与したが、検討した最高用量である 500 mg/kg/日まで、毒性を示唆する所見は認められなかった。

細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ *TK* 試験及び *in vivo* ラット骨髄小核試験を含む、一連の標準的な遺伝毒性試験では、限界用量まで投与したが、ミガーラスタット塩酸塩に遺伝毒性は認められなかった。

Tg.rasH2 マウスの雄に 100、300 及び 1000 mg/kg/日、雌に 50、150 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算）のミガーラスタット塩酸塩を 26 週間経口投与し、がん原性を検討した。本試験の用量は、CByB6F1 マウスを用いた 28 日間用量設定試験に基づいて選択した。用量設定試験では、1000 及び 2000 mg/kg/日群の雌並びに 2000 mg/kg/日群の雄で大腸への刺激を示す病理組織学的検査所見が認められ、この毒性は 26 週間試験では許容できないと判断した。26 週間がん原性試験では、生存、腫瘍発現率又は観察した全器官における増殖性病変の発現率に、ミガーラスタット塩酸塩の投薬に関連する影響は示されなかった。一方、ウレタンを投与された陽性対照群では溶媒対照群と比較して、統計学的に有意な生存率の低下及び腫瘍発現率の増加が認められ、本試験で使用したマウスの既知の発がん性物質に対する感受性が示された。ミガーラスタット塩酸塩のがん原性を、ラット 104 週間試験でも検討した。本試験での当初の投与量は 50、200 及び 800 mg/kg/日とした。最高用量は、ヒトにミガーラスタット塩酸塩を 150 mg の用量で隔日経口投与した際の曝露量（推定臨床曝露量）に対し、25 倍の曝露量が得られる用量とした。高用量群には第 1～35 週まで 800 mg/kg/日の用量で投与したが、第 1 日及び第 29 週の血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）が目標（推定臨床曝露量の 25 倍）未満であったため、第 36 週以降は用量を 1200 mg/kg/日まで増量した。用量増量後の曝露量は、ヒトでの曝露量の 39.0 倍となり、目標の 25 倍を大幅に上回った。本試験では、溶媒対照群と比較して 800/1200 mg/kg/日群の雄で、膵島

細胞腺腫の発現率が増加した。このラットで通常よく見られる腫瘍に対し、この発現率の差は、対比較で統計学的有意であったが、傾向検定では有意差は認められなかった。この高用量群の雄で認められた膵島細胞腺腫の発現率増加は、本試験で使用した Harlan Sprague-Dawley ラットで報告されている自然発生率を超えていたが、科学的根拠の重要度に基づく評価（weight-of-evidence アプローチ）の結果、本所見は投薬に関連するものではなく、NOAEL は 800/1200 mg/kg/日と判断した。

ラット受胎能及び初期胚発生試験では、処置雄を 100、500 及び 1500 mg/kg/日群の雌又は無処置の雌と交配させた場合、ミガーラスタット塩酸塩投与により受胎能が有意に低下した。自動精子解析では、精子の総数、形態又は運動率に投薬の影響はみられなかった。また、雄ラットの生殖器官の病理組織学的検査では、投薬による変化は認められなかった。4 週間の休薬期間後、全投薬群において、受胎能低下は完全に回復した。雄ラットの受胎能低下に関する NOAEL を求めるため、2 回目の受胎能試験を実施し、ミガーラスタット塩酸塩を 2.5、10 及び 25 mg/kg/日の用量で雄ラットに投与した。25 mg/kg/日群の雄では、受胎能に投薬に関連する明らかな低下が認められたが、中及び低用量群では用量依存的な影響は認められなかった。中及び低用量群における受胎能パラメーターは、背景値の下限値であるか、又はそれをわずかに下回った。高用量群での結果を考慮すると、中及び低用量群での所見は、おそらく投薬に関連すると判断した。また、後に実施した雌の受胎能試験では、ミガーラスタット塩酸塩を 10、100 及び 1000 mg/kg/日の用量で雌ラットに投与し、未処置の雄ラットと交配させた。本試験ではミガーラスタット塩酸塩の有害作用は示されず、ミガーラスタット塩酸塩は雄ラットの受胎能を低下させるが、雌ラットの受胎能に影響を及ぼさないことが確認された。ラットに 1500 mg/kg/日まで、またウサギに 750 mg/kg/日まで投与した胚・胎児毒性試験では、ミガーラスタット塩酸塩の催奇形性を示唆する所見は認められなかった。ウサギ試験では、300 及び 750 mg/kg/日群で、投与期間中の母動物に摂餌量の中等度～顕著な低下及び明らかな体重減少（750 mg/kg/日）又は体重増加抑制傾向（300 mg/kg/日）が認められた。母動物毒性と一致して、300 及び 750 mg/kg/日群では溶媒対照群と比較して、着床後胚死亡率増加、平均胎児体重減少並びに骨化遅延及び軽度の骨格変異の発現率増加が認められた。したがって、ウサギの母動物及び胚・胎児毒性に関する NOAEL は、最低用量の 120 mg/kg/日と判断した。ラット出生前及び出生後の発生毒性試験では、1000 mg/kg/日まで、ミガーラスタット塩酸塩の出生前及び出生後の発生に毒性を示唆する所見は認められなかった。

マウス α-Gal A 遺伝子（*Gla*）ノックアウト（KO）マウスモデルを用いたミガーラスタット塩酸塩とアガルシダーゼ ベータの 28 日間反復投与毒性試験では、忍容性に対し、これら薬剤の併用投与による明らかな相加作用は示されなかった。ミガーラスタット塩酸塩の 36.6 mg/kg 投与群（アガルシダーゼ ベータ静脈内投与 30 分前又は投与 3 時間後に投与）では、ミガーラスタット塩酸塩の 3.66 mg/kg 及びアガルシダーゼ ベータ併用投与群、いずれの薬剤も投与されなかった群（溶媒対照群）又はアガルシダーゼ ベータ単独投与群と比較して死亡率が増加したため、併用投与の影響を完全に否定することはできなかった。しかし、低用量群及び溶媒対照群を含む全投与群において、静脈内投与後早期に死亡が認められたことから、死亡はストレス及び／又は過剰な拘束に起因する可能性が考えられたが、詳細は不明である。

TK 評価では、全動物種において、ミガーラスタットは経口投与後速やかに吸収され、最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は概して投与 0.5～2 時間後であった（2.6.4.1 項）。その後、血漿中ミガーラスタット濃度は速やかに低下し、$t_{1/2}$ は 9 時間未満であった。この $t_{1/2}$ に一致して、反復投与による血漿中ミガーラスタットの蓄積は認められなかった。全動物種において、ミガーラスタットの AUC の増加率は高用量において用量比を下回ったが、検討した用量範囲では、ミガーラスタットの経口吸収の飽和を示唆する所見は認められなかった。ヒトでは、本剤の申請用量である 150 mg を含む 75～1250 mg の用量範囲では AUC_{0-t} は概して用量比例的に増加し、ミガーラスタットの経口吸収の飽和を示唆する所見は認められなかった（2.7.2.2.1 項）。TK データから、種々の毒性試験に使用した全用量で、ミガーラスタットの十分な血漿中曝露量が得られていたことが確認された。ミガーラスタットの薬物動態又は全身曝露量に、一貫した性差は認められなかった。非臨床毒性試験では動物に連日投与したのに対し、臨床投与レジメンは隔日投与であるため、安全域は、非臨床毒性試験で得られた AUC_{0-t} を 2 倍し、ヒトで推定される 0 時間から 48 時間までの AUC（AUC_{0-48}）と比較することによって算出した。

以上の通り、ミガーラスタット塩酸塩の毒性プロファイルについては、ICH ガイドライン及び GLP に準拠して実施した包括的毒性プログラムにより、その特徴が十分に明らかにされている。

2　単回投与毒性試験

2.1　ラット単回経口投与毒性試験

（試験番号 ITR5879、添付資料番号 4.2.3.1.1、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 2 匹）を用いたミガーラスタット塩酸塩の単回経口投与毒性試験を 1500 mg/kg（遊離塩基換算で 1230 mg/kg）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、5 mL/kg の投与容量で強制経口投与した。投与 3 日後に動物を屠殺した。死亡、一般状態及び体重を評価した。

試験期間中、死亡はなかった。一般状態及び体重に、投薬に関連する変化は認められなかった。以上の通り、ラットにミガーラスタット塩酸塩を 1500 mg/kg の用量で単回経口投与した際の忍容性は良好であり、概略の致死量は 1500 mg/kg 超と判断した。

2.2　イヌ単回経口投与毒性試験

（試験番号 ITR6001、添付資料番号 4.2.3.1.2、評価資料）

ビーグル犬（雌雄各 1 匹）を用いたミガーラスタット塩酸塩の最大耐量（MTD）を評価する単回経口投与毒性試験を、GLP を遵守して実施した。名目上の投与量は 500 mg/kg（遊離塩基換算で 410 mg/kg）であったが、被験物質分析により、使用したバッチ（Lot No. 398-35-1）には 36.8%（w/w）の塩化ナトリウムが含まれていることが明らかとなり、実投与量は 316 mg/kg（遊離塩基換算で 259 mg/kg）であった。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、5 mL/kg の投与容量で強制経口投与した。投与 3 日後に動物を屠殺した。死亡、一般状態、体重及び剖検所見を評価した。

試験期間中、死亡はなかった。体重及び一般状態に、投薬に関連する所見は認められなかった。剖検では、雌で縦隔リンパ節の暗色化及び雄で縦隔リンパ節の斑点形成が認められたが、これらは偶発的なものであり、投薬との関連性はないと判断した。これら結果から、イヌにミガーラスタット塩酸塩を 316 mg/kg で単回経口投与した際の忍容性は良好であり、概略の致死量は 316 mg/kg 超と判断した。

3　反復投与毒性試験

3.1　マウス

3.1.1　　マウス 28 日間経口投与用量設定試験

（試験番号 ITR70575、添付資料番号 4.2.3.2.1、評価資料）

Tg マウスを用いたがん原性試験（5.1 項）の用量選択のため、CByB6F1 マウス（雌雄各 10 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 28 日間経口投与毒性試験を、GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg/日（遊離塩基換算）の用量で 1 日 1 回 28 日間連日強制経口投与した。投与容量は各群 10 mL/kg とした。第 29 日に全動物を屠殺した。さらに、サテライト群の動物を用いて TK 評価を実施した（溶媒対照群：雌雄各 5 匹、投薬群：雌雄各 20 匹／群）。死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、血液生化学的検査値、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見（対照群及び高用量群、並びに高用量群で特定された標的器官は全群）を評価した。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、血液生化学的検査値、器官重量に、投薬に関連した影響は認められなかった。2000 mg/kg/日群の TK 動物 1 匹及び 500 mg/kg/日群の TK 動物 1 匹がそれぞれ第 5 及び 28 日に死亡した。死因は特定できなかったが、本試験中にこれら動物以外の死亡は認められなかったことから、投薬との関連性は低いと判断した。

投薬に関連した病理組織学的検査所見として、1000 mg/kg/日群の雌及び 2000 mg/kg/日群の雌雄に、大腸（盲腸、結腸及び直腸）の軽微～軽度の急性びまん性粘膜炎症が観察された。本病変は、2000 mg/kg/日群の雄 10 匹中 2 匹で、腸間膜リンパ節のアポトーシス増加を伴っていた。この腸間膜リンパ節のアポトーシス増加は、当初下部消化管病変に対する二次的反応と考えられた。しかし、免疫亢進にかかわる変化（リンパ嚢胞形成等）は認められておらず、大腸に炎症の認められた雌で本所見が観察されなかったことを考慮すると、腸間膜リンパ節のアポトーシス増加と下部消化管の炎症の関連は低いと考えられた。なお、腸間膜リンパ節のアポトーシスは頻度及び重症度が低く、その他、いずれの臓器又は組織にも投薬に関連した免疫亢進を示唆する所見は認められなかった。2000 mg/kg/日群の雄 1 匹で盲腸の肥厚が認められ、本組織で認められた病理組織学的検査所見との関連性が示唆された。また、大腸の炎症は被験薬の全身作用ではなく、刺激性に起因すると考えられた。本試験に用いた投与液濃度が高かったことから、本局所刺激所見に臨床的意義はないものと考えられる。

ミガーラスタットの血漿中曝露量の要約を表 2.6.6 - 2 に示した。$AUC_{0\text{-}t}$ 及び最高血漿中濃度（C_{max}）は、1000 及び 2000 mg/kg/日群では雄と比較して雌で高かったが、全体を通してミガーラスタット濃度の変動係数が最大 62%と大きかったことから、この差に毒性学的意義はないと考えられる。$AUC_{0\text{-}t}$ は、500～1000 mg/kg/日の範囲ではほぼ用量比例的に増加し、1000～2000 mg/kg/日の範囲では用量比をわずかに上回る増加を示した。C_{max} は雌雄いずれも用量比を下回る増加を示した。ミガーラスタットの明らかな蓄積性は示唆されなかった。

表 2.6.6 - 2 マウス 28 日間用量設定試験の第 28 日の TK パラメーター

Dose [a] (mg/kg/day)	Sex	Day 28	
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (μg•hr/mL)
500	Female	79.4	47.5
	Male	80.6	46.8
	Overall	80.0	47.2
1000	Female	112	124
	Male	94.3	79.3
	Overall	103	101
2000	Female	214	443
	Male	116	235
	Overall	165	373

a: Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)
Source: Study No. ITR70575, Text Table 1 modified.

以上の通り、CByB6F1 マウスに対し、ミガーラスタット塩酸塩を 500 mg/kg/日の用量で 28 日間経口投与した際の忍容性は良好であり、明らかな毒性所見は認められなかった。一方、1000 及び 2000 mg/kg/日の経口投与では大腸（盲腸、結腸及び直腸）に投薬に関連した刺激性が認められ、本試験の NOAEL は雌で 500 mg/kg/日、雄で 1000 mg/kg/日と判断した。この刺激性より、26 週間がん原性試験で雌への 1000 mg/kg/日投与及び雄への 2000 mg/kg/日投与は許容されないと判断した。本試験の結果に基づいて、マウス 26 週間がん原性試験の高用量には雄で 1000 mg/kg/日、雌で 500 mg/kg/日を選択した（5.1 項）。

3.2　ラット

3.2.1　　ラット 5 日間経口投与用量設定試験

（試験番号 ITR5881、添付資料番号 4.2.3.2.2、参考資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 3 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 5 日間経口投与毒性試験を 0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、各群 5 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回 5 日間連日強制経口投与した。第 6 日に全ての動物を屠殺した。TK 評価は、サテライト群の動物を用いて実施した（雌雄各 2 匹／群）。死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK（非 GLP）及び剖検所見を評価した。

死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値及び尿検査値に、投薬に関連した影響は認められなかった。また、投薬に関連する剖検所見は認められなかった。

AUC_{0-t} は、100～500 mg/kg/日の範囲では用量比を下回る増加を示したが、500～1500 mg/kg/日の範囲では用量比例的に増加した。C_{max} は、検討した用量範囲にわたって用量比を下回る増加を

示した。AUC_{0-t}は雌雄で同程度であったが、C_{max}は検討した用量範囲で雄と比較して雌でわずかに高かった。

以上の通り、Sprague-Dawley ラットにミガーラスタット塩酸塩を 1500 mg/kg/日（第 5 日の AUC_{0-t}：177896 ng•hr/mL）までの用量で 5 日間経口投与した際の忍容性は良好であり、続く反復投与毒性試験には 100、500 及び 1500 mg/kg/日の用量を選択した。

3.2.2　　ラット 14 日間経口投与毒性試験

（試験番号 ITR5850、添付資料番号 4.2.3.2.3、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 10 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 14 日間経口投与毒性試験を 0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、各群 5 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回 14 日間連日強制経口投与した。また、対照群及び 1500 mg/kg/日群の追加動物（雌雄各 5 匹／群）を 14 日間の休薬期間に供した。TK 評価は、サテライト群の投与動物を用いて第 1 及び 14 日に実施した（投薬群：雌雄各 6 匹／群）。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見（対照群及び高用量群、並びに高用量群で特定された標的器官については全群）を評価した。

死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、器官重量、剖検所見に、投薬に関連した影響は認められなかった。

投与期間終了時、1500 mg/kg/日群で尿中塩化物の上昇が認められた。尿中塩化物の上昇は、休薬期間終了時には対照値まで回復した。

病理組織学的検査において、腺胃への軽微～軽度の好酸球浸潤及び腺胃と非腺胃部の接合部における軽微～軽度の浮腫が 1500 mg/kg/日群で認められた。これらの所見は回復群動物には認められなかった。

AUC_{0-t}は、検討した用量範囲では概して雌雄で同程度と考えられた（表 2.6.6 - 3）。雌雄合算値では、AUC_{0-t}は第 1 日では 100～500 mg/kg/日の用量範囲、第 14 日では検討した用量範囲（100～1500 mg/kg/日）で用量比を下回る増加を示した。第 1 日の AUC_{0-t}は、500～1500 mg/kg/日の用量範囲で用量比例的に増加した。第 1 及び 14 日の C_{max}は、検討した用量範囲（100～1500 mg/kg/日）で用量比を下回る増加を示した。概して、検討した用量範囲（100～1500 mg/kg/日）では、ミガーラスタットの蓄積は認められなかった。

表 2.6.6 - 3　ラット 14 日間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 1 及び 14 日）

Dose (mg/kg/day)	Sex	Day 1		Day 14	
		C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)
100	Female	10146	17258	10109	19059
	Male	9251	21480	8917	18900
	Overall	9484	19369	9513	19152
500	Female	19783	45139	27099	59309
	Male	19761	55634	14886	46794
	Overall	19772	50387	19294	53051
1500	Female	26271	138525	24423	109394
	Male	31931	183895	35888	123935
	Overall	25606	161210	29693	116664

Source: Study No. ITR5850, Appendix VI, Table B and C modified.

以上の通り、1500 mg/kg/日の高用量で胃に認められた病理組織学的検査所見は、被験物質の全身性の影響ではなく、被験物質の高濃度液を投与したことによって発現した局所刺激性による所見と判断した。本試験の NOAEL は 500 mg/kg/日（第 14 日の AUC_{0-t}：53051 ng•hr/mL）と判断した。

3.2.3　　ラット 26 週間経口投与毒性試験

（試験番号 AA17017、添付資料番号 4.2.3.2.4、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 15 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 26 週間経口投与毒性試験を 0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、250 及び 750 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）26 週間強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。本試験では、各群に雌雄各 10 匹を追加し、第 13 週に中間屠殺した。また、対照群及び 1500 mg/kg/日群に雌雄各 10 匹／群を追加し、8 週間の休薬期間に供した。TK 評価は、サテライト群の動物（溶媒対照群：雌雄各 3 匹、投薬群：雌雄各 9 匹／群）を用いて第 0 日（初回投与日）、第 27 日（第 4 週）、第 90 日（第 13 週）及び第 181/182 日（第 26 週）に実施した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見（対照群と高用量群、並びに高用量群で特定された標的器官については全群）を評価した。

試験期間中、投薬に関連した死亡は認められなかったが、第 181 日に 1500 mg/kg/日の雌雄各 1 匹が死亡した。死亡前の一般状態に変化は認められなかったが、剖検で肺の暗色化が認められた。病理組織学的検査所見から、投与過誤が示唆された。したがって、これら死亡と投薬との関連性はないと判断した。1500 mg/kg/日群の雌 1 匹を、右後肢の腫脹のため、早期に屠殺したところ、剖検で脛骨の骨折が確認された。

体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値に、投薬に関連した影響は認められなかった。

投薬に関連した一般状態の変化として、1500 mg/kg/日群で軟便及び尿の酸性化が認められた。腎臓の病理組織学的検査で関連する所見が認められなかったことから、尿の酸性化は毒性学的に重要でないと判断した。これら所見は、休薬期間終了後には認められなかった。

投薬に関連した病理組織学的検査所見は、脾臓のリンパ濾胞の軽微～軽度増加のみであり、全投薬群の雌雄で認められた。また、1500 mg/kg/日群では、脾臓の絶対重量及び体重に対する相対重量の増加が観察された。休薬期間終了時、これら所見は部分的に回復した。

1 日 2 回経口投与での、第 0、27、90 及び 181 日の AUC_{0-t} 及び C_{max} は、雌雄合算値で、概して 100～1500 mg/kg/日の範囲では用量比を下回る増加を示した。検討した用量範囲（100～1500 mg/kg/日）で、第 27 及び 90 日に、1 日 2 回反復経口投与による蓄積は認められなかった。一方、第 181 日では、100、500 及び 1500 mg/kg/日の用量でそれぞれ約 28.7%、10.9%及び 24.3%の蓄積が認められた。

表 2.6.6 - 4　ラット 26 週間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 0 及び 181 日）

Dose[a] (mg/kg/day)	Sex	Day 0		Day 181	
		C_{max}[b] (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	C_{max}[b] (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)
100	Female	8630	21599	12770	30191
	Male	5110	25245	8137	30079
	Overall	6553	23422	9758	30147
500	Female	16933	71925	18167	108184
	Male	17500	102416	15000	85117
	Overall	15867	87171	16583	96659
1500	Female	31867	201724	27600	269183
	Male	24533	197921	21700	227526
	Overall	28200	199823	24283	248355

a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the first dose was not differentiated from C_{max} after the second dose. C_{max} in this table was based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
Source: Study No. AA17017, Addendum 6 (Amendment no. 1), Table 1 and 4 modified.

以上の通り、ミガーラスタット塩酸塩を 500 mg/kg/日までの用量で経口投与した結果、毒性を示す一般状態の変化は認められなかった。1500 mg/kg/日群で軟便が認められた。1500 mg/kg/日で脾臓重量増加が観察され、全投薬群で脾臓のリンパ濾胞の軽微～軽度増加の発現率が高かった。しかし、本所見は部分的に回復し、免疫毒性作用は認められなかった。また、ラット 104 週間がん原性試験では、検討した 800/1200 mg/kg/日までの用量で、脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。ラット 104 週間試験の最高用量での曝露量（第 37 週の AUC_{0-t}：176000 ng•hr/mL）はラット 26 週間試験の最高用量よりもわずかに低いが、より長期投与の後でも（6 ヵ月間に対

し、2 年間）脾臓に投薬に関連した所見が認められなかった。さらに、サル 39 週間試験では、曝露量がわずかに高かったにも関わらず（$AUC_{0\text{-}t}$：305823 ng•hr/mL）、脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。したがって、本試験で観察された脾臓での所見は有害所見とみなさず、NOAEL は、500 mg/kg/日と判断した（第 181 日の $AUC_{0\text{-}t}$：96659 ng•hr/mL）。

3.3　イヌ

3.3.1　　イヌ 5 日間経口投与用量設定試験

（試験番号 ITR6003、添付資料番号 4.2.3.2.5、参考資料）

ビーグル犬（雌雄各 1 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 5 日間経口投与用量設定試験を 0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、各群 5 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回 5 日間連日強制経口投与した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK（非 GLP）及び剖検所見を評価した。

死亡、体重、摂餌量、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、剖検所見に、投薬に関連する影響は認められなかった。第 3～5 日に、500 mg/kg/日群で少量の液状便が認められた。

雌雄合算値では、第 1 日及び 5 日の $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は、検討した用量範囲で用量比を下回る増加を示した。500 mg/kg/日の用量では約 25%のミガーラスタットの蓄積が認められたが、50 及び 200 mg/kg/日では蓄積は認められなかった。

以上の通り、ビーグル犬にミガーラスタット塩酸塩を 500 mg/kg（第 5 日の $AUC_{0\text{-}t}$：613150 ng•hr/mL）までの用量で 5 日間経口投与した際の忍容性は良好であり、続く反復投与毒性試験には 50、200 及び 500 mg/kg/日の用量を選択した。

3.3.2　　イヌ 14 日間経口投与毒性試験

（試験番号 ITR2978、添付資料番号 4.2.3.2.6、評価資料）

ビーグル犬（雌雄各 3 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 14 日間経口投与毒性試験を 0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、各群 5 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回 14 日間連日強制経口投与した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、心電図（ECG）所見、血圧、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見を評価した。

死亡、体重、摂餌量、眼科学的検査、ECG、血圧、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値に、投薬に関連した影響は認められなかった。投薬に関連する一般状態の変化は便の変化（暗色又は淡色便並びに／又は液状便等）のみであり、主に 500 mg/kg/日群で認められた。投与期間終了時、500 mg/kg/日群の雄で、尿中塩化物及びカリウム濃度の明らかな上昇が認められた。器官重量や関連する剖検あるいは病理組織学的検査所見に変化が認められなかったことから、これら尿中電解質濃度の増加は有害ではないと判断した。

第 1 及び 14 日のミガーラスタットの全身曝露量は、検討した用量範囲では明らかな性差は認められなかった（表 2.6.6 - 5）。雌雄合算値では、第 1 及び 14 日の AUC_{0-t} 値は、検討した用量範囲（50～500 mg/kg/日）で概して用量比を下回る増加を示した。1 日 1 回反復経口投与によるミガーラスタットの蓄積は、認められなかった。

表 2.6.6 - 5　イヌ 14 日間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 1 及び 14 日）

Dose (mg/kg/day)	Sex	Day 1		Day 14	
		Mean C_{max} (ng/mL) (%CV)	Mean AUC_{0-t} (ng•hr/mL) (%CV)	Mean C_{max} (ng/mL) (%CV)	Mean AUC_{0-t} (ng•hr/mL) (%CV)
50	Female	46433 (15.9%)	132608 (5.4%)	31933 (26.5%)	109755 (20.0%)
	Male	31467 (31.8%)	80621 (23.2%)	33800 (24.0%)	92084 (3.0%)
	Overall	38950 (29.2%)	106615 (29.2%)	32867 (22.8%)	100920 (16.9%)
200	Female	131000 (21.2%)	395128 (25.7%)	144333 (18.8%)	374421 (15.9%)
	Male	116133 (19.7%)	342806 (16.2%)	101133 (46.2%)	320304 (41.9%)
	Overall	123567 (19.6%)	368967 (21.3%)	122733 (33.9%)	347363 (28.0%)
500	Female	188000 (25.9%)	545639 (28.8%)	169667 (21.9%)	537256 (32.6%)
	Male	120867 (48.2%)	384570 (46.2%)	174667 (18.8%)	489409 (0.3%)
	Overall	154433 (39.2%)	465104 (37.4%)	172167 (18.3%)	513332 (22.2%)

CV = coefficient of variation
Source: Study No. ITR2978, Appendix VII, Table B and C modified.

以上の結果から、本試験の NOAEL は 200 mg/kg/日と判断した（第 14 日の AUC_{0-t}：347363 ng•hr/mL）。

3.4　サル

3.4.1　　サル 14 日間経口投与用量設定試験

（試験番号 AA17225、添付資料番号 4.2.3.2.7、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 2 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 14 日間経口投与用量設定試験を 0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、25、100 及び 250 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）14 日間強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。死亡、一般状態、体重、摂餌量、ECG、血圧、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見を評価した。

死亡は認められず、また一般状態、体重、摂餌量、ECG、血圧、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値に、投薬に関連した影響は認められなかった。第 11 日に認められた赤血球数の減少は、複数回の採血との関連性が疑われた。この変化は、200 及び 500 mg/kg/日群の動物でより顕著であったが、変化量は小さかった。一方、試験期間中に消失した結果である可能性も否定

できないが、サル 39 週間毒性試験では同様の用量で同様の所見は認められなかった。したがって、本所見は回復性のある一過性所見と考えられる。

病理組織学的検査所見として、500 mg/kg/日群の雄で、十二指腸に隣接するリンパ節に軽微な泡状組織球及び十二指腸の乳糜管拡張が認められた。サル 39 週間経口投与毒性試験では同様の用量及び曝露量で同様の所見は認められなかったことから、投薬との関連性はないと考えられた。器官重量及び剖検所見に、投薬に関連した影響は認められなかった。

雌雄合算値では、第 0 及び 12 日の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は 50～200 mg/kg/日の用量範囲で用量比例的に増加した（表 2.6.6 - 6）。$AUC_{0\text{-}t}$ は、第 0 日では 200～500 mg/kg/日の用量範囲で用量比を下回る増加を示し、第 12 日では 200 及び 500 mg/kg/日の用量で同程度であった。C_{max} は、第 0 及び 12 日で、200 及び 500 mg/kg/日の用量で同程度であった。検討した用量範囲（50～500 mg/kg/日）では、1 日 2 回反復経口投与によるミガーラスタットの蓄積は認められなかった。

表 2.6.6 - 6　サル 14 日間用量設定試験の TK パラメーター（第 0 及び 12 日）

Dose[a] (mg/kg/day)	Sex	Day 0		Day 12	
		C_{max}[b] (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	C_{max}[b] (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)
50	Female	12500	57360	7800	54794
	Male	14800	82233	8590	60237
	Overall	9920	69829	7685	57513
200	Female	39900	223937	25700	169062
	Male	55900	232116	45000	274385
	Overall	46050	227981	30900	221785
500	Female	49800	348643	43400	359852
	Male	53500	311298	28000	152841
	Overall	51100	329996	33250	256309

a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the first dose was not differentiated from C_{max} after the second dose. C_{max} in this table was based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
Source: Study No. AA17225, Summary tables in section 11.9 Toxicokinetics modified.

以上の通り、ミガーラスタット塩酸塩を 500 mg/kg/日（第 12 日の $AUC_{0\text{-}t}$：256309 ng•hr/mL）までの用量で経口投与した際の忍容性は良好であり、中用量の 200 mg/kg/日と比較して高用量の 500 mg/kg/日で AUC は 1.2～1.4 倍しか増加しなかったため、続く反復投与毒性試験の高用量には 500 mg/kg/日を選択した。

3.4.2　　サル 39 週間経口投与毒性試験

（試験番号 AA17227、添付資料番号 4.2.3.2.8、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 4 匹／群）を用いたミガーラスタット塩酸塩の 39 週間経口投与毒性試験を 0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で GLP を遵守して実施した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、25、100 及び 250 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）39 週間強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。本試験では、各群に動物を追加し、第 13 週（雌雄各 3 匹／群）及び第 26 週（雌雄各 2 匹／群）に中間屠殺した。さらに、対照群及び高用量群に動物（雌雄各 2 匹／群）を追加して 8 週間の休薬期間を設けた。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、ECG、血圧、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、免疫検査値（リンパ球サブセット解析。第 13 週のみ）、TK、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見を評価した。

試験期間中、投薬に関連した死亡はなかった。200 mg/kg/日群の雌 1 匹を、骨端軟骨断裂を伴う大腿骨遠位端の骨折のため、第 26 日に屠殺した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、ECG、血圧、血液学的検査値、凝固検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、リンパ球パラメーター、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見に、投薬に関連した影響は認められなかった。

TK 評価では、検討した用量範囲（50～500 mg/kg/日）で、全身曝露量に性差は認められなかった（表 2.6.6 - 7）。単回及び 1 日 2 回反復投与時の $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は、雌雄ともに検討した用量範囲で、概して用量比を下回る増加を示した。1 日 2 回 39 週間反復経口投与によるミガーラスタットの蓄積は認められなかった。

表 2.6.6 - 7　サル 39 週間経口投与毒性試験の TK パラメーター（第 0 及び 267/268 日）

Dose[a] (mg/kg/day)	Sex	Day 0		Day 267/268[c]	
		Mean C_{max}[b] (SD) (ng/mL)	Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng•hr/mL)	Mean C_{max}[b] (SD) (ng/mL)	Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng•hr/mL)
50	Female	11537 (2341)	70616 (18582)	9258 (4819)	76028 (26257)
	Male	10123 (1703)	54525 (7318)	5843 (1361)	67669 (11850)
	Overall	10830	62571	7551	71849
200	Female	30600 (8867)	192441 (52485)	19800 (4080)	196031 (35869)
	Male	29600 (9125)	171203 (28628)	20375 (4286)	173379 (28482)
	Overall	30100	181822	20088	184705
500	Female	51582 (20851)	299164 (65049)	26083 (8045)	296996 (81979)
	Male	48191 (16352)	318534 (63666)	22750 (5235)	314649 (94321)
	Overall	49887	308849	24417	305823

a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the second dose was not reported. C_{max} in this table is the maximum measured concentration following the first dose.
c. Females and males were sampled on Days 267 and 268, respectively.
SD = standard deviation (not available for overall values)
Source: Study No. AA17227, Addendum 6

以上の通り、カニクイザルにミガーラスタット塩酸塩を 500 mg/kg/日までの用量で 39 週間経口投与した際の忍容性は良好であった。毒性所見は認められず、NOAEL は 500 mg/kg/日と判断した（第 267/268 日の $AUC_{0\text{-}t}$：305823 ng•hr/mL）。

4　遺伝毒性試験

4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験

4.1.1　　細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号 247/001、添付資料番号 4.2.3.3.1.1、評価資料）

細菌を用いる *in vitro* 変異原性試験において、*Salmonella typhimurium* 菌株 TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA102 の選択した遺伝子座で、ミガーラスタット塩酸塩の復帰突然変異誘発能を評価した。

予備試験の結果に基づいて、ミガーラスタット塩酸塩の評価は、492、878、1568、2800 及び 5000 µg/プレートの濃度（遊離塩基換算でそれぞれ 403、720、1285、2295 及び 4098 µg/プレート）でプレインキュベーション法により代謝活性化の存在下又は非存在下で行った。陽性反応は認められず、いずれの濃度でも、細胞毒性又は沈殿を示唆する所見は認められなかった。

ミガーラスタット塩酸塩は、代謝活性化の有無に関わらず、いずれの試験菌株においても復帰コロニー数を増加させなかった。したがって、本細菌を用いる復帰突然変異試験では、ミガーラスタット塩酸塩は遺伝毒性を有さないと結論付けられた。

4.1.2　　マウスリンフォーマ *TK* 試験

（試験番号 247/002、添付資料番号 4.2.3.3.1.2、評価資料）

哺乳類動物細胞を用いる *in vitro* 変異原性試験で、マウスリンパ腫細胞 L5178Y 株のチミジンキナーゼ遺伝子座（$TK^{+/-}$～$TK^{-/-}$）でのミガーラスタット塩酸塩の前進性突然変異誘発能を評価した。

ミガーラスタット塩酸塩の評価は、代謝活性化非存在下での 1.7、5.4、17、52、164、512、1600 及び 5000 µg/mL（遊離塩基換算でそれぞれ 1.4、4.4、14、43、134、420、1311 及び 4098 µg/mL）で 24 時間処理（長時間）、並びに代謝活性化の存在下及び非存在下での 87、155、276、492、878、1568、2800 及び 5000 µg/mL（遊離塩基換算でそれぞれ 71、127、226、403、720、1285、2295 及び 4098 µg/mL）で 4 時間処理（短時間）により行った。陽性反応は認められず、いずれの濃度でも、細胞毒性又は沈殿を示唆する所見は認められなかった。

ミガーラスタット塩酸塩は、代謝活性化の有無に関わらず、5000 µg/mL までマウスリンパ腫細胞 L5178Y $TK^{+/-}$を用いた試験で、突然変異頻度増加を示さなかった。したがって、本哺乳類動物細胞（マウスリンパ腫細胞 $TK^{+/-}$）を用いる遺伝子突然変異試験では、ミガーラスタット塩酸塩は遺伝毒性を有さないと結論付けられた。

4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

4.2.1　　ラット骨髄小核試験

（試験番号 AA18463、添付資料番号 4.2.3.3.2.1、参考資料）

In vivo 小核試験において、ミガーラスタット塩酸塩の雌雄ラット骨髄での多染性赤血球における小核誘発能を検討した。

予備試験では、ICH が定める限界用量（2000 mg/kg）でミガーラスタット塩酸塩の忍容性が確認された。この結果に基づき、ラット（雌雄各 5 匹／群）に、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、1000 mg/kg（1 日用量 2000 mg/kg/日、遊離塩基換算で 1639 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 4～6 時間）2 日間強制経口投与した。本試験では、溶媒（水）対照群及び陽性（シクロホスファミド）対照群を設けた。死亡又は一般状態における有害作用は認められなかった。投与 24 時間後に採取した骨髄細胞を顕微鏡下で解析し、小核を有する多染性赤血球の発現を評価した。投与後、溶媒対照群と比較して投薬群では、雌雄いずれにおいても、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合に統計学的又は生物学的に有意な低下は認められなかった。また、ミガーラスタット塩酸塩群では、小核を有する多染性赤血球の平均発現頻度に生物学的に有意な増加は認められず、背景値の範囲内であった。一方、陽性対照群の一部の動物の小核を有する多染性赤血球の発現頻度は溶媒対照群と同程度に低く、その平均値は施設の背景値を下回っていた。しかし、全例を用いたカイ二乗検定による統計解析において統計学的有意差が認められた。また、投薬群は 2000 mg/kg/日の用量が経口投与されていること、本試験では TK 評価を実施していないが、ラット 14 日間経口投与試験（3.2.2 項）の高用量群（1500 mg/kg/日、1 日 1 回）における初回投与後の C_{max}（雌雄合算値、25606 ng/mL）及び $AUC_{0\text{-}t}$（雌雄合算値、161210 ng·hr/mL）は、推定臨床曝露量（C_{max}：1180 ng/mL、$AUC_{0\text{-}t}$：9033 ng·hr/mL、2.7.2.1.2.2 項）のそれぞれ 21.7 倍及び 35.7 倍の曝露がなされていると推察されること（ラット 14 日間経口投与試験では連日投与であるのに対し、ヒトでは隔日投与であるため、ラット 14 日間経口投与試験の $AUC_{0\text{-}24}$ の 2 倍の値をヒト $AUC_{0\text{-}48}$ 推測値と比較）、投薬群の小核を有する多染性赤血球の発現頻度の個別値は背景値の生物学的なばらつきの範囲内であったこと等を踏まえると、ミガーラスタット塩酸塩の小核誘発性の評価まで否定されるものではないと考えられた。

以上の結果から、ラット骨髄小核試験において、ミガーラスタット塩酸塩が小核を誘発する可能性は乏しいと考えられる。なお、本考察は、ミガーラスタット塩酸塩のがん原性試験（5 項）が陰性であることからも支持される。

5　がん原性試験

5.1　Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験

（試験番号 ITR70576、添付資料番号 4.2.3.4.1.1、評価資料）

ミガーラスタット塩酸塩のがん原性を Tg.rasH2 マウスを用いて検討した。ミガーラスタット塩酸塩の用量は、CByB6F1 マウスを用いた 28 日間経口投与用量設定試験の結果（3.1.1 項）に基づいて選択した。用量設定試験では、500 mg/kg/日の用量まで毒性を示唆する所見は認められず、忍容性が良好であることが確認された。また、1000 及び 2000 mg/kg/日群の雌並びに 2000 mg/kg/日群の雄で大腸への刺激を示す組織学的所見が認められ、この所見は 26 週間試験では許容できないと判断した。がん原性試験の最高用量（雄：1000 mg/kg/日、雌：500 mg/kg/日）は、ICH ガイドライン S1C（R2）に基づいて選択した。本ガイドラインでは、げっ歯類を用いたがん原性試験の最高用量は、MTD を超えない用量又はがん原性試験で体重増加抑制が 10%を超える可能性の低い用量とされている。

Tg.rasH2 マウスに対し（雌雄各 25 匹／群）、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、雄には 0、100、300 及び 1000 mg/kg/日、雌には 0、50、150 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算）の用量を 1 日 1 回 26 週間連日強制経口投与した。陽性対照群には、ウレタンを第 1、3 及び 5 日の合計 3 回、1000 mg/kg/回の用量で腹腔内投与した。TK 評価は、サテライト群に割り付けた CByB6F1 マウスで実施した（溶媒対照群：雌雄各 5 匹、投薬群：雌雄各 20 匹／群）。死亡、一般状態（触知腫瘤の有無も含む）、体重、摂餌量、剖検所見及び病理組織学的検査所見を評価した。

死亡、一般状態、体重、摂餌量に、投薬に関連した影響は認められなかった。生存率は 92%～98%で、溶媒対照群と投薬群で同程度であったことから、許容できると判断した。生存率に、有意な性差は認められなかった（$P>0.05$）。陽性対照群では、試験期間中の死亡率は雄で 96%（25 匹中 24 匹）及び雌で 100%（25 匹中 25 匹）であった（$P<0.0001$、対溶媒対照群）。

投薬に関連した剖検所見は認められなかった。陽性対照群では、剖検で肺及び脾臓の病変が高頻度に認められた。

投薬に関連した増殖性病変は認められなかった。溶媒対照群の動物 50 匹中 3 匹、100 mg/kg/日群の雄 25 匹中 4 匹、300 mg/kg/日群の雄 25 匹中 2 匹、1000 mg/kg/日群の雄 25 匹中 2 匹、及び 500 mg/kg/日群の雌 25 匹中 4 匹で腫瘍が発現した。腫瘍は、主に全身血管腫・血管肉腫、肺腺腫・腺がん、唾液腺腺がん及び胃扁平上皮がんであった。投薬群の腫瘍の種類及び発現率は、文献及び試験実施施設のデータベースで報告されている本試験で使用したマウスと同系統のマウスにおける腫瘍性病変の種類及び発現率と同程度であった。投薬群と溶媒対照群とでは、腫瘍の発現率に統計学的有意差は認められなかった（$P<0.05$）。陽性対照（ウレタン）群では、増殖性病変の発現率が高く（50 匹中 50 匹）、本試験系の既知の発がん性物質への反応性が確認された。陽性対照群と溶媒対照群とでは、特に血管肉腫、ハーダー腺腺腫、細気管支肺胞腺腫及び細気管支肺胞がん腫瘍の発現率増加に、統計学的有意差が認められた（$P\leq0.05$）。

投薬に関連した非増殖性病変は認められなかった。陽性対照群の非増殖性病変は主に、肺胞出血（他の群と比較して発現率及び重症度が高かった）、肺の単核細胞浸潤、肺胞マクロファージの蓄積、胸腺の細胞数の減少及び肝臓の髄外造血の増加であった。

曝露量（AUC_{0-t} 及び C_{max}）は、雌雄それぞれ概して用量比を下回る増加を示した（表 2.6.6 - 8）。中及び高用量群では、投与量で換算した曝露量は雄と比較して雌で高かった。投与 24 時間後の濃度は、雌雄ともに大半が定量限界値又は限界値未満であったことから、ミガーラスタットの明らかな蓄積は示唆されなかった。

表 2.6.6 - 8　Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験の TK パラメーター（第 182 日）

Sex	Dose [a] (mg/kg/day)	Migalastat	
		Day 182	
		C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)
Male	100	27900	25800
	300	27100	38900
	1000	49600	121000
Female	50	14400	13500
	150	23800	31800
	500	64100	94400

CByB6F1 mice were used for the TK assessment.
a: Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)
Source: Study No. ITR70576, Text Table 2

以上の通り、Tg.rasH2 マウスにミガーラスタット塩酸塩を雄で 1000 mg/kg/日、雌で 500 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回 26 週間経口投与した際の忍容性は良好であった。ミガーラスタット塩酸塩のがん原性を示す所見は、認められなかった。予想した通り、陽性対照（ウレタン）群の結果から、Tg マウスが本発がん性物質に反応したことが示された。本試験の結果に基づいて、NOAEL は雌で 500 mg/kg/日（第 182 日の AUC_{0-t}：94400 ng•hr/mL）、雄で 1000 mg/kg/日（第 182 日の AUC_{0-t}：121000 ng•hr/mL）と判断した。

5.2　ラット 104 週間経口投与がん原性試験

（試験番号 G4970、添付資料番号 4.2.3.4.1.2、評価資料）
（試験番号 RR1001-64、添付資料番号 4.2.3.4.1.3、参考資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 50 匹／群）を用いた 104 週間がん原性試験でミガーラスタット塩酸塩の評価を行った。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0（2 つの溶媒対照群）、50、200 及び 800/1200 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 656/984 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間、1 回用量：25、100 及び 400/600 mg/kg）104 週間連日強制経口投与した。TK 評価はサテライト群で実施した（溶媒対照群：雌雄各 10 匹／群、投薬群：雌雄各 18 匹／群）。当初、最高用量には、推定臨床曝露量の約 25 倍の曝露量を得ることができると予測された 800 mg/kg/日を設定し、第 1～35 週まで投与した。しかし、第 1 日及び第 29 週の曝露量が目標とする曝露量を下回ったため、第 246 日（第 36 週）以降は用量を 1200 mg/kg/日まで増

量した。増量後の曝露量は、ヒトでの曝露量の 39.0 倍となり、目標である 25 倍を大幅に上回った。

死亡、一般状態（触知腫瘤の有無も含む）、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、TK、剖検所見及び病理組織学的検査所見を評価した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、剖検所見に、投薬に関連した影響は認められなかった。また、投薬に関連する非腫瘍性変化は認められなかった。投薬群の総死亡率（死亡及び切迫屠殺）は、雌雄別及び雌雄合算のいずれの場合も対照群と同程度であった（表 2.6.6 - 9）。

表 2.6.6 - 9　ラット 104 週間経口投与がん原性試験における死亡数及び死亡率

	Males					Females				
Dose (mg/kg/day)	0	0	50	200	800/ 1200	0	0	50	200	800/ 1200
Number[a]	33/50	33/50	30/50	29/50	28/50	25/50	20/50	21/50	31/50	23/50
Percentage	66%	66%	60%	58%	54% (56%[b])	50%	40%	40% (42%[b])	62%	46%

a　Includes dead and moribund sacrificed.
b　Inclusive of one rat that died after experimental schedule during staggered terminal sacrifice.
Source: Study No. G4970

腫瘍性変化については、800/1200 mg/kg/日群の雄の膵島細胞腺腫の発現率（20%）が溶媒対照群（6%）と比較して増加した（表 2.6.6 - 10 及び表 2.6.6 - 11）。このラットで通常よく見られる腫瘍（対照群で>1%と定義）に対し、この差は傾向検定（$P \leq 0.005$ と定義）では有意差は認められなかったが、対比較（$P<0.01$）では統計学的に有意であった。高用量群の雄で認められた膵島細胞腺腫の発現率増加は、Harlan Sprague-Dawley ラットで報告されている自然発生率を超えており、試験実施施設により投薬に関連した所見と判断された。しかし、以下に示す weight-of-evidence アプローチの結果、本所見と投薬との関連性はないと判断した。

表 2.6.6 - 10　ラットがん原性試験における膵臓所見の発現頻度

	Males					Females				
Dose (mg/kg/day)	0	0	50	200	800/1200	0	0	50	200	800/1200
No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Lobular atrophy	2	3	1	1	3	1	1	1	0	0
Islet cell hyperplasia; focal	1	1	1	1	2	0	1	0	1	1
Islet cell adenoma	4	2	6	4	10	1	2	2	1	1
Islet cell carcinoma	1	1	1	2	1	0	0	1	0	0

Source: Study No. G4970, Appendix16

表 2.6.6 - 11　ラットがん原性試験で認められた膵臓所見の統計学的解析

	Males				Females			
Dose (mg/kg/day)	0 [a]	50	200	800/1200	0 [a]	50	200	800/1200
No. examined	100	50	50	50	100	50	50	50
Islet cell adenoma + carcinoma (B+M)	8	7	6	11	3	3	1	1
Percentage	8	14	10	22	3	6	2	2
P values				0.0132				
Islet cell adenoma (B)	6	6	4	10	3	2	1	1
Percentage	6	12	8	20	3	4	2	2
P values				**0.0056***				

B = benign; M = malignant
a Combined vehicle control group
* Significantly higher than vehicle control at p≤0.01 (pair-wise)
Source: Study No. G4970, Appendix 16

対比較では統計学的有意差が認められたが、Sprague-Dawley ラットで通常よく見られるこの良性腫瘍の発現率が用量依存性の線形増加を示すか否かを検討した傾向検定では、統計学的有意性は認められなかった。膵島細胞の過形成、がん腫並びに腺腫及びがん腫の合計の発現率に投薬に関連した増加は認められず、腺腫の発現促進を示唆する所見も認められなかった。また、これらの腫瘍が、試験で早期に死亡した動物の死因又は疾病の原因とは考えられなかった。さらに、雌の膵島細胞腺腫の病理組織学的所見は、全投薬群で同様であった。高用量群の雌のミガーラスタット曝露量は、雄と同程度であったが、膵島細胞腺腫の発現率増加は認められなかった。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験（それぞれ 26 週間及び 39 週間）における曝露量は、本ラットがん原性試験の高用量群の雄の曝露量を超えていたが、病理組織学的検査又は剖検で膵臓に変化は認められなかった。また、Tg.rasH2 マウス 26 週間がん原性試験では、がん原性を示唆する所見は認められなかった。

ラット 104 週間がん原性試験報告書によると、1996 年～2002 年までに Harlan Sprague-Dawley ラットを用いて実施したがん原性試験はわずか 3 件であり、これら試験で得られた背景値に基づき、薬剤投与と雄の膵島細胞腺腫との関連性を判定している。本試験報告書に記載されている背景値での発現率は、本試験の対照群の発現率（6%）未満であった。本知見及び Harlan 社から入手可能な Sprague-Dawley ラットに関する背景値が限られていることから、Charles River 社の Sprague-Dawley（Crl SD）ラットの背景値も用いて、weight-of-evidence アプローチを行った。重要なのは研究所の所在地がヨーロッパであるか、米国であるかに関わらず、Sprague-Dawley ラットのコロニーの大半では、自由摂餌させた場合に膵島細胞腺腫の発現率が高くなることである（Anver et al, 1982; Greaves and Faccini, 1992; Dillberger, 1994; Molon-Noblot et al, 2001）。24 ヵ月試験で報告されている発現率は様々であるが、全体的に雄の 10%～20%強で認められている

（Greaves and Faccini, 1992; Dillberger, 1994）。これらの腫瘍は一般的に雌と比較して雄でよく見られ、遅発性に発現し、24 ヵ月試験の終了時付近で急激に増加することが多い（Anver et al, 1982; Dillberger, 1994）。雌の Sprague-Dawley ラットでも、雄の半分程度であるが、膵島細胞腫瘍は発現する。しかし、変動が大きく、試験内で群間差が認められる可能性がある（Molon-Noblot et al, 2001; Baldrick, 2005）。Harlan Sprague-Dawley ラットにおける雄の膵島細胞腫瘍の発現率（10%、Harlan Laboratories, Study C11963）は、他の供給先からの Sprague-Dawley ラットと比較して、わずかに低いとは言えなくとも同程度であると考えられる。

当初、本試験で認められた高用量群の雄における膵島細胞腺腫の発現率は高いと考えられたが、雄全体の発現率は約 10%（250 匹中 26 匹）であり、この系統のラットでは典型的な値の範囲内である。用量依存的な統計学的有意差は認められなかったこと、また同程度の曝露量が得られた雌（$AUC_{0\text{-}t}$ は雌で 168000 ng•hr/mL、雄で 184000 ng•hr/mL）で同様の影響が認められなかったことから、高用量群の雄で認められた本腫瘍の発現率増加は偶発的である可能性が高く、投薬との関連性はないと判断した。腺腫の発現時期及びその病理組織学的所見は全群で同様であり、本腫瘍が自然発生的なものであるという結論を裏付けている。また、膵島細胞腺腫と膵島細胞がんを併せた発現率に統計学的に有意な群間差は認められず、膵島細胞がんの発現率にも、統計学的有意な群間差は認められなかった。

以上より、weight-of-evidence アプローチから、104 週間がん原性試験で雄の Harlan Sprague-Dawley ラットに発現した膵島細胞腺腫は投薬に関連しないことが示される。本腫瘍は高齢の Sprague-Dawley ラット（特に雄）で通常よく見られる自然発生腫瘍であり、ヒトでのがんリスク評価での重要性は低い。膵島細胞腫瘍は Sprague-Dawley ラットで高頻度に発現するが、ヒトでは極めてまれである（Frankel, 2006）。比較病理学の観点から、ラット試験で非遺伝毒性異物投与後に発現する膵島細胞腫瘍などの内分泌腺腫瘍は、ヒトでの安全性評価ではそれほど重要ではないと考えられる（Capen et al, 2001; Edler et al, 2014）。外部の専門家による病理学的検討でも、高用量群の雄ラットにおける膵島細胞腺腫と投薬との関連性はないことが裏付けられている（RR1001-64）。

TK 評価では、第 1 日及び第 29 週の曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は、全群で用量比を下回る増加が認められた。しかし、高用量群の用量を 1200 mg/kg/日に増加（第 37 週に 50%増量）させると、総曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$）は約 70%増加した。第 1 日及び第 29 週では、全群で雄と比較して雌の曝露量がわずかに高い傾向が認められた。しかし、性差は 10%～25%であり、全体的な血漿中濃度のばらつきを考慮すると、生物学的意義はないと判断した。$AUC_{0\text{-}t}$ からは、反復投与による蓄積はほとんどなかった。

表 2.6.6 - 12　ラット 104 週間がん原性試験の TK パラメーター
（第 1 日並びに第 29 及び 37 週）

Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	Day 1		Week 29		Week 37	
		C_{max}[b] (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	C_{max}[b] (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	C_{max}[b] (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)
50	Female	8330	12400	7030	14900	ND	ND
	Male	4420	11600	4730	12600	ND	ND
	Overall	6380	12000	5880	13800	ND	ND
200	Female	14700	34600	14600	37100	ND	ND
	Male	10300	32700	9970	29500	ND	ND
	Overall	12500	34100	12300	33300	ND	ND
800[c]	Female	27500	101000	26600	117000	ND	ND
	Male	14000	89400	16900	89500	ND	ND
	Overall	20800	95400	20900	103000	ND	ND
1200[c]	Female	NA	NA	NA	NA	24200	168000
	Male	NA	NA	NA	NA	27600	184000
	Overall	NA	NA	NA	NA	25700	176000

NA = not applicable; ND = not determined
a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the first dose was not differentiated from C_{max} after the second dose. C_{max} was based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
c. The high dose of 800 mg/kg/day was increased to 1200 mg/kg/day as of Week 36. Samples for toxicokinetic analysis were only collected from the high-dose group.
Source: Study No. G4970, In-Text Table 1

以上の通り、Sprague-Dawley ラットにミガーラスタット塩酸塩を 800/1200 mg/kg/日の用量まで 1 日 2 回 104 週間経口投与した際の忍容性は良好であった。膵島細胞腫瘍の発現率に併合対照群の雄と 800/1200 mg/kg/日群の雄との間で統計学的有意差が認められたが、投薬との関連性はないと判断した。膵島細胞腫瘍は、高齢 Sprague-Dawley ラットの膵臓で通常よく見られる所見であり、本試験で観察された膵島腫瘍の総数は、自由摂餌させた本系統のラットで予測される範囲内であった。雌では、膵島細胞腫瘍の発現率に投与群間で統計学的有意差は認められなかった。これら考察に基づいて、本試験での NOAEL は 800/1200 mg/kg/日と判断した（AUC_{0-t}：第 29 週の 800 mg/kg/日群で 103000 ng•hr/mL、第 37 週の 1200 mg/kg/日群で 176000 ng•hr/mL）。

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能及び初期胚発生試験

6.1.1　　雌雄ラット受胎能試験

（試験番号 AA26533、添付資料番号 4.2.3.5.1.1、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 20 匹／群）の性腺機能、交配行動及び生殖能に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、250 及び 750 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。雌には、交配前 2 週間から交配期間中～妊娠 7 日まで投与し、妊娠 13 日に屠殺して、子宮内容物を観察した。各群 10 匹の雄は、交配前 4 週間、初回交配（第 4 週）及び無処置の雌（20 匹／群）との 2 回目交配（第 10 週）を通じて、第 88 日の剖検前日まで投与した。各群残りの雄 10 匹は第 105 日まで投与を継続し、4 週間休薬した。休薬後、別の無処置の雌 10 匹と交配させ、投薬による受胎能低下の回復性を検討した。回復群動物雄は休薬期間終了後（第 161 日）に屠殺した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、交配行動及び受胎能、精子パラメーター（総数、運動率及び形態）、妊娠データ（妊娠状況、黄体数、生存胚数、子宮内着床数及び吸収胚数）、器官重量（精巣及び精巣上体、卵巣を含む）、剖検所見及び病理組織学的検査所見（対照群及び高用量群の雄生殖器のみ）を評価した。

各群の雌雄いずれにおいても、投薬に関連する死亡又は一般状態の変化は認められなかった。雄では試験期間を通して、また雌では 2 週間の交配前期間中、摂餌量又は体重増加量に投与の有害作用は認められなかった。妊娠中の体重増加量は、処置雄と交配した雌では、投与の有無に関わらず、対照群と比較していずれの用量でも（データが存在する場合）減少したが、これは 1 腹あたりの胚数が小さかったことに起因する。

試験期間を通して、いずれの用量でも、雌雄の交配行動に投与の有害作用は認められなかった。全ての交配期間中、各群の雌の大半で交配開始後 4 日以内に受精の証拠が認められ、平均交配所要日数に投薬に関連する影響は認められなかった。

初回交配時、全投薬群で投薬に関連する明らかな受胎能の低下が認められ、雌の妊娠率は対照群（95%）と比較すると 100、500 及び 1500 mg/kg/日群でそれぞれ 20%、5%及び 5%であった。2 回目交配時にも同様の結果が得られ、雌の妊娠率は対照群（95%）と比較すると 100、500 及び 1500 mg/kg/日群でそれぞれ 45%、25%及び 10%であった。2 回目交配時には雌に投与を行わなかったため、2 回目交配時の妊娠率低下は、いずれの群も雄への投薬に関連する影響に起因するものと判断した。3 回目交配時、いずれの群においても休薬期間後の雄の受胎能に有害作用は認められず、受胎能は休薬期間後に完全に回復したことが示された。

初回交配後、対照群と比較して、全投薬群の処置雌では黄体数が顕著に減少した。この所見は、着床数及び 1 腹あたりの生存胚数の減少と一致した。着床数は 2 回目交配後の無処置の雌でも有意に減少し、その結果、着床前死亡率が増加した。しかし、投薬群の妊娠雌の大半で妊娠が

維持されていたのは 1 つの胚のみであったため、着床後死亡率は低かった。3 回目交配後の着床前データ、着床後死亡数及び 1 腹あたりの生存胚数は、全群で同程度であった。

妊娠率は有意に低下したにも関わらず、いずれの群においても、精子の総数、運動率及び形態の精子解析パラメーター、生殖器官重量、雄の生殖器官の剖検所見又は病理組織学的検査所見に、投薬に関連する影響は認められなかった。

本試験では、雄受胎能及び初期妊娠所見から NOAEL を推定できなかった（100 mg/kg/日未満）。

6.1.2　雄ラット受胎能試験

（試験番号 AA31159、添付資料番号 4.2.3.5.1.2、評価資料）

本試験は、先の雌雄ラット受胎能試験（6.1.1 項）で雄の受胎能低下が観察されたことから、ミガーラスタット塩酸塩のより低用量投与時の作用を評価するため実施した。Sprague-Dawley 雄ラット（20 匹／群）の性腺機能、交配行動及び生殖能に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、2.5、10 及び 25 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 0、2.05、8.2 及び 20.5 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、1.25、5 及び 12.5 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。雄の投与期間は、交配前 4 週間から交配期間 3 週間（無処置の雌と交配）を通して剖検前日までとした（合計 9 週間以上）。死亡、一般状態、体重、摂餌量、交配行動、妊娠パラメーター（妊娠状況、黄体数、生存胚数、子宮内着床数、吸収胚数）、精巣及び精巣上体重量及び剖検所見を評価した。交配期間終了後の第 50 日に雄から TK 評価のために採血した。

いずれの群においても、投薬に関連する死亡並びに一般状態、体重増加（雄）及び摂餌量に毒性変化は認めらなかった。25 mg/kg/日群の雄と交配した雌では、同腹児数の低値に関連して、わずかな体重増加抑制が認められた。

交配行動に投薬に関連する影響は認められなかった。全動物が交配し、また大半で交配開始後 4 日以内に受精の証拠が認められた。

25 mg/kg/日群では投薬に関連した受胎能低下が認められ、対照群（95%）と比較して雌の妊娠率はわずか 55%であった。2.5 及び 10 mg/kg/日群でも非妊娠雌の割合が増加し、妊娠率はそれぞれ 75%及び 85%であった。2.5 及び 10 mg/kg/日群における受胎能パラメーターは、背景値の下限値であるか、又はそれをわずかに下回った。高用量群での結果を考慮すると、中及び低用量群での所見は、おそらく投薬に関連すると判断した。25 mg/kg/日群の雄と交配した雌における受胎能低下に一致して、黄体数及び着床数の減少、着床前死亡数の増加並びに 1 腹あたりの生存胚数の有意な減少が認められた。

投薬に関連する剖検所見は認められず、精巣及び精巣上体重量は全群で同程度であった。

採血時点が限られていたが、曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は、検討した 2.5～25 mg/kg/日の用量範囲内で概して用量比例的に増加した（表 2.6.6 - 13）。

表 2.6.6 - 13　雄ラット受胎能試験の TK パラメーター（第 50 日）

Dose (mg/kg/day)[a]	C_{max}[b] (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)
2.5	207	736
10	1397	2030
25	1775	6663

a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the first dose was not differentiated from C_{max} after the second dose. C_{max} in this table was based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
Source: Study No. AA31159, Addendum 6

雄の受胎能は 25 mg/kg/日の高用量で明らかに低下し、2.5 及び 10 mg/kg/日群では、受胎能にわずかではあるが用量に依存しない影響が認められた。本試験における雄の受胎能に関する NOAEL は 2.5 mg/kg/日未満であった。

6.1.3　雌ラット受胎能試験

（試験番号 AA93208、添付資料番号 4.2.3.5.1.3、評価資料）

Sprague-Dawley 雌ラット（20 匹／群）の性腺機能、交配行動及び生殖能に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、10、100 及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 0、8.2、82 及び 820 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、5、50 及び 500 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。雌の投与期間は、交配前 2 週間から交配期間を通して妊娠 7 日までとした。死亡、一般状態、体重、摂餌量、交配行動及び受胎能、妊娠パラメーター（妊娠状況、黄体数、子宮内着床数、吸収胚数）、同腹児パラメーター、卵巣重量及び剖検所見を評価した。

死亡、並びに一般状態、体重増加量及び摂餌量に、投薬に関連する変化は認められなかった。いずれの群においても、交配行動に投薬の影響は認められず、雌の大半で交配開始後 4 日以内に受精の証拠が認められた。全処置雌が妊娠した。母動物に投薬に関連する剖検所見又は卵巣重量変化は認めらなかった。着床前データ（平均黄体数、着床数、着床前死亡率）及び胎児の生存は、全群で同程度であった。

本試験では、投薬に関連する有害作用は認められず、NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断した。

6.2　胚・胎児発生に関する試験

6.2.1　ラット胚・胎児発生毒性試験

（試験番号 AA26551、添付資料番号 4.2.3.5.2.1、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（25 匹／群）の胚・胎児発生に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、250 及び 750 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。雌の投与期間は妊娠 6～17 日とした。母動物について、死亡、一般状態、体重及び摂餌量を評価した。

妊娠 20 日に母動物を剖検した。卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、子宮内着床数、早期・後期胚死亡及び生存胎児を調べた。胎児については、重量測定、性比、外表異常及び内臓異常並びに骨格検査を実施した。

母動物の評価パラメーター（死亡、一般状態、体重、摂餌量、妊娠パラメーター及び剖検）に、投薬に関連した所見は認められなかった。さらに、胎児体重及び性比に影響は認められず、外表異常、内臓異常及び変異並びに骨格の発生異常も観察されなかった。

本試験ではミガーラスタット塩酸塩の有害作用又は催奇形性を示唆する所見が認められず、ラットの母動物及び胚・胎児毒性に関する NOAEL は 1500 mg/kg/日と判断した。

6.2.2　非妊娠ウサギにおける用量設定予備試験

（試験番号 AA27674、添付資料番号 4.2.3.5.2.2、参考資料）

非妊娠 New Zealand White ウサギ（2 匹／群）に、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 410 及び 1230 mg/kg/日）の用量（第 1 期）で 6 日間、及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算で 820 mg/kg/日）の用量（第 2 期）で 3 日間、それぞれ 250 及び 750 並びに 500 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回、約 6 時間間隔で強制経口投与し、MTD を検討した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。死亡、一般状態、体重、摂餌量及び剖検所見を評価した。

1500 mg/kg/日の用量では顕著な食欲不振の徴候が認められ、摂餌量及び糞量が減少し、体重が 200～300 g 減少した。1000 mg/kg/日の用量では雌 2 匹中 1 匹で投与後に同様の所見が認められ、投与期間中に摂餌量が減少した。しかし、この雌の体重減少はわずか（1 g）であった。
500 mg/kg/日の用量では、投与後に体重及び摂餌量に有害作用は認められなかった。いずれの動物にも剖検所見に投薬の影響はみられなかった。

1500 mg/kg/日は MTD を超える用量と判断した。1000 mg/kg/日は、胚・胎児発生毒性試験での MTD に近い、又はそれを超える用量であると判断した。したがって、GLP を遵守したウサギ胚・胎児発生毒性試験の最高用量は 1000 mg/kg/日未満とするべきと判断し、用量として 0、120、300 及び 750 mg/kg/日を選択した。

6.2.3　ウサギ胚・胎児発生毒性試験

（試験番号 AA26552、添付資料番号 4.2.3.5.2.3、評価資料）

New Zealand White ウサギ（22 匹／群）の胚・胎児発生に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、120、300 及び 750 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 98、246 及び 615 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、妊娠 6～19 日まで 0、60、150 及び 375 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。また、サテライト群（雌 3 匹／群）から、妊娠 6 及び 19 日に TK 評価用試料を採取した。母動物について、死亡、一般状態、体重及び摂餌量を評価した。妊娠 29 日に母動物を剖検した。卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、子宮内着床数、早期・後期胚死亡及び生存胎児を調べた。胎児については、体重測定、性比、外表異常及び内臓異常並びに骨格検査を実施した。

投薬に関連した死亡は認められなかった。750 mg/kg/日群の雌 1 匹が投与過誤により妊娠 11 日に死亡した。また、750 mg/kg/日群の雌 7 匹に投薬に関連した食欲不振（慢性的な摂餌量低下、糞量減少及び体重減少）の発現後、妊娠 22～27 日に流産が観察されたため、屠殺した。投薬に関連する糞量減少は、750 mg/kg/日群の生存雌 14 匹中 10 匹及び 300 mg/kg/日群の雌 2 匹にも観察された。また、投与期間中に 750 mg/kg/日群の母動物に有意な体重減少、300 mg/kg/日群で体重増加抑制傾向がみられ、300 及び 750 mg/kg/日群で有意な摂餌量低下が認められた。

母動物の剖検所見に投薬の影響は認められなかった。対照群と比較して、300 及び 750 mg/kg/日群で、主に早期胚吸収の発現率増加による着床後胚死亡率が増加した。750 mg/kg/日群では、生存同腹児数が対照群と比較して、有意に低下した。生存同腹児数が低下したにもかかわらず、中及び高用量群の胎児体重が用量依存的に低下した（高用量群のみ有意）。

骨格検査では、750 mg/kg/日群で骨化遅延（特に足蹠骨）の発現率増加が認められ、300 mg/kg/日でも程度は軽いが同様の所見が認められた。その他、軽度の骨格変異として、主に 750 mg/kg/日群で対照群及び背景値と比較し頭頂骨の未骨化、軽度の胸骨分節の癒合、腰肋、尾骨位置異常及び鼻の縫合骨の頻度増加が認められた。腰肋の頻度増加は 300 mg/kg/日でも認められた。

TK 評価（表 2.6.6 - 14）では、妊娠 6 日の $AUC_{0\text{-}t}$ は 120～750 mg/kg/日の用量範囲で概して用量比例性の増加が示されたが、C_{max} は上記の用量範囲では用量比を下回る増加を示した。妊娠 19 日の用量比例性は、妊娠 6 日と類似した。妊娠 6 日と比較して、妊娠 19 日の $AUC_{0\text{-}t}$ に軽度の蓄積がみられた。

表 2.6.6 - 14　ウサギ胚・胎児発生試験の TK パラメーター（妊娠 6 及び 9 日）

Dose[a] (mg/kg/day)	Migalastat			
	Gestation Day 6		Gestation Day 19	
	Mean C_{max}[b] (SD) (ng/mL)	Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng•hr/mL)	Mean C_{max}[b] (SD) (ng/mL)	Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng•hr/mL)
120	27300 (10746)	190972 (52331)	39167 (4554)	334988 (122406)
300	50067 (8663)	405153 (10106)	78200 (18143)	1101185 (349566)
750	112000 (NA)	1113000 (NA)	123500 (NA)	1962625 (NA)

a. Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b. Although this study used twice daily dosing, C_{max} after the first dose was not differentiated from C_{max} after the second dose. C_{max} in this table was based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
NA = not applicable (SD not calculated when n<3); SD = standard deviation
Source: Study No. AA26552, Addendum 6

慢性的な食欲不振が認められ、その結果、雌 22 匹中 7 匹が流産したことから、750 mg/kg/日は MTD を超えると判断した。母動物毒性の認められた 300 及び 750 mg/kg/日群では、用量依存的な胚・胎児死亡、胎児体重低下、骨化遅延及び軽度の骨変異の頻度増加が認められた。したがって、母動物及び胚・胎児毒性に関する NOAEL は 120 mg/kg/日（妊娠 19 日の $AUC_{0\text{-}t}$：334988 ng•hr/mL）と判断した。750 mg/kg/日まで、ミガーラスタット塩酸塩の催奇形性を示唆する所見は認められなかった。

6.3　出生前及び出生後の発生、並びに母体の機能に関する試験

6.3.1　　ラット出生前及び出生後の発生に関する試験

（試験番号 AA94762、添付資料番号 4.2.3.5.3.1、評価資料）

Sprague-Dawley ラット（25 匹／群）の出生前及び出生後の発生、並びに出生児の生殖能に及ぼすミガーラスタット塩酸塩の影響を 0、50、200 及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 820 mg/kg/日）の用量で検討した。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、25、100 及び 500 mg/kg の 1 回用量で 1 日 2 回（投与間隔は約 6 時間）強制経口投与した。投与容量は各群 5 mL/kg/回とした。母動物の投与期間は、妊娠 6 日～分娩後 20 日とした。また、TK 評価のために、サテライト群母動物（12 匹／群）から、妊娠 6 及び 20 日（6 匹／群）及び授乳 15 日（6 匹／群）に採血した。さらに妊娠 20 日には、胎児からも採血し、授乳 15 日には乳汁も採取した。母動物について、死亡、一般状態、体重、摂餌量、妊娠及び分娩時の観察所見を評価した。第一世代（F_1）出生児については、一般状態、性別及び体重を評価した。分娩後 4 日に、F_1 出生児を 1 腹当たり雌雄各 4 匹となるように調整した。F_1 成熟動物については、死亡、一般状態、体重、身体的発達、行動、交配、妊娠及び分娩時の状態及び剖検所見を評価した。

母動物では、投薬に関連する死亡、並びに一般状態、体重増加量、摂餌量、剖検所見、妊娠期間及び着床数に、投薬に関連する影響は認められなかった。F_1 出生児の生存、一般状態、体重、体重増加量、離乳前の身体的及び機能的発達、剖検所見に、いずれの用量でも、投薬の影響は観察されなかった。TK 評価では、母動物及び胎児の血漿にミガーラスタットが検出され、母動物及び胎児がミガーラスタットに曝露されていたことが示された（表 2.6.6 - 15）。曝露は用量増加に伴い増加した。妊娠 20 日の平均血漿中濃度は胎児と比較して母動物で高く、胎児の血漿中濃度は母動物の血漿中濃度の 6%～11%であった。

表 2.6.6 - 15　ラット出生前及び出生後の発生に関する試験の母動物及び胎児血漿中ミガーラスタット濃度

Dose[a] (mg/kg/day)		Mean plasma concentration[b] (ng/mL)					
		Gestation Day 6		Gestation Day 20		Lactation Day 15	
	Time (hr)	1	4	1	4	1	4
Plasma - Dam	50	2167	154	4854	245	1847	218[c]
	200	7040	1553	10310	1220	7163	1290
	1000	17933	5403	21133	12667	25533	4867
Fetus	50	NA	NA	274	208	NA	NA
	200	NA	NA	888	383	NA	NA
	1000	NA	NA	2317	2290	NA	NA

a.　Administered twice daily approximately 6 hours apart.
b.　n = 3/time point, c. n = 2/time point
NA = not applicable
Source: Study No. AA94762, Addendum 5

F_1 動物では、投薬に関連する死亡、並びに一般状態、性成熟、離乳後の発達、体重、交配成績、妊娠パラメーターに、投薬に関連する影響は認められなかった。

いずれの群においても、F_1 出生児の出生前及び出生後の発生（生殖能を含む）に、母動物に投与したミガーラスタット塩酸塩の影響は観察されなかったことから、本試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断した。

6.4　幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた反復投与毒性試験は実施していない。

7　局所刺激性試験

ミガーラスタット塩酸塩の臨床投与経路は経口投与であり、全ての毒性試験は経口投与で実施されていることから、独立した局所刺激性試験は実施しなかった。

8　その他の毒性試験

8.1　*Gla* KO マウスを用いたミガーラスタット塩酸塩及びアガルシダーゼ ベータ 28 日間併用投与試験

（試験番号 RR1001-11、添付資料番号 4.2.3.7.7.1、参考資料）

ミガーラスタット塩酸塩及びアガルシダーゼ ベータを反復併用投与した際の影響を評価するため、機能性内因性 α-Gal A タンパク質を欠損したファブリー病モデルマウス（*Gla* KO マウス）を用いて探索的非 GLP 安全性試験を実施した。

雄 *Gla* KO マウス（24 匹／群）に、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、0、3.66 及び 36.6 mg/kg（遊離塩基換算でそれぞれ 3 及び 30 mg/kg）の用量で週 3 回、月曜日、水曜日及び金曜日に 4 週間強制経口投与した。アガルシダーゼ ベータは、0 又は 1 mg/kg の用量で月曜日にミガーラスタット塩酸塩投与 30 分後又は 3 時間前に静脈内投与した。投与レジメンを表 2.6.6 - 16 に示す。

表 2.6.6 - 16　群構成

	動物数	投与量（mg/kg）	
		ミガーラスタット塩酸塩 [a]	アガルシダーゼ ベータ [b]
第 1 群	24	0	0 [c]
第 2 群	24	0	1 [c]
第 3 群	24	3.66	1 [c]
第 4 群	24	36.6	1 [c]
第 5 群	24	36.6	1 [d]

a：月、水及び金曜日に経口投与
b：月曜日に静脈内投与
c：月曜日のミガーラスタット塩酸塩投与 30 分後に投与
d：月曜日のミガーラスタット塩酸塩投与 3 時間前に投与

ミガーラスタット塩酸塩及びアガルシダーゼ ベータの最終投与は、第 5 週の月曜日とした。アガルシダーゼ ベータの最終投与前（0 時間）及び最終投与 1 及び 24 時間後に、安全性評価のため、それぞれ 8 匹／群を屠殺した。本試験では、α-Gal A タンパク質及びグロボトリアオシルセラミド（GL-3）の組織中濃度の影響についても検討した。これら結果については、2.6.2.5.2.2 項に示した。

死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査値、血液生化学的検査値、血清学的検査値（特定の病原体に対する抗体の評価）及び剖検所見を評価した。

試験期間中、溶媒対照群を含む全群で、数匹の動物の死亡又は切迫屠殺が認められた。死亡動物 10 匹中 4 匹（第 1 及び 4 群各 1 匹並びに第 5 群 2 匹）で、浅呼吸、不活発、横臥位及びその他の瀕死状態等の一般状態の変化が観察された。早期死亡動物 10 匹について剖検を行った結果、6 匹（第 1、2、3 及び 4 群各 1 匹並びに第 5 群 2 匹）で、膀胱拡張及び消化管異常を含む様々な所見が認められた。溶媒対照群（第 1 群）、アガルシダーゼ ベータ単独群（第 2 群）又は

ミガーラスタット塩酸塩 3.66 mg/kg／アガルシダーゼ ベータ併用群（第 3 群）と比較して、ミガーラスタット塩酸塩 36.6 mg/kg 投与群（アガルシダーゼ ベータの静脈内投与 30 分前又は 3 時間後投与）（第 4 及び 5 群）での死亡率が高い傾向にあり、併用投与による影響である可能性を完全には否定できなかった。しかし、死亡は投与期間に関わらず試験期間を通して散発的に発現し、概してアガルシダーゼ ベータ静脈内投与後早期に発現した。これらの死亡はげっ歯類にアガルシダーゼ ベータ又はミガーラスタット塩酸塩を単独投与した際には毒性を示唆する所見は認められないこと、さらに本試験の溶媒対照群でも死亡が認められたことから、静脈内投与によるストレス及び／又は過剰な拘束に起因する可能性が考えられたが、詳細は不明である。

切迫屠殺動物では概して一般状態に投薬に関連する毒性変化は認められず、また、体重及び摂餌量にも投薬に関連する影響は認められなかった。動物数が少なかったため、血液学的検査値及び血液生化学的検査値の検討が十分に実施できなかったが、特にミガーラスタット塩酸塩 36.6 mg/kg 投与群（アガルシダーゼ ベータの静脈内投与 3 時間後投与）（第 5 群）で、血液学的検査値にいくつかの変化が認められた。ただし、動物数が少なかったこと及びばらつきが認められたことから、これら所見に生物学的意義はないと判断した。剖検所見に投薬に関連する異常は認められなかった。

以上の通り、*Gla* KO マウスに対し、ミガーラスタット塩酸塩を 0、3.66 及び 36.6 mg/kg の用量で週 3 回、アガルシダーゼ ベータ（週 1 回、1 mg/kg を静脈内投与）との併用で 28 日間強制経口投与した際の忍容性は良好であった。ミガーラスタット塩酸塩 36.6 mg/kg 投与群（アガルシダーゼ ベータの静脈内投与 30 分前又は 3 時間後投与）でわずかに死亡率が高かったが、低用量群と溶媒対照群を含む全ての投与群において静脈内投与後早期に死亡が認められたことから、死亡はストレス及び／又は過剰な拘束に起因する可能性が考えられたが、詳細は不明である。

8.2　光安全性

（試験番号 RR1001-65、添付資料番号 4.2.3.7.7.2、参考資料）

ミガーラスタット塩酸塩は、1 cm セルにおいて、検討した最高濃度である 0.05 mol/L でも波長 290～700 nm の光を吸収しなかった。モル吸光係数（MEC）はこの波長域で 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であることから、ミガーラスタット塩酸塩は光反応性ではなく、光毒性を有しないと考えられる。

9　考察及び結論

単回及び反復投与毒性試験において、ミガーラスタット塩酸塩の忍容性は良好であり、AUC に基づく長期投与毒性の安全域は 20 倍以上であった（表 2.6.6 - 17）。また、試験に用いたいずれの動物種においても、標的器官毒性に一貫した傾向は認められなかった。マウスでは、28 日間反復投与試験で認められた標的器官毒性は大腸の粘膜炎症のみであり、NOAEL は雌で 500 mg/kg/日、雄で 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算）と判断した。本試験に用いた投与液濃度が高かったことから、本局所刺激所見に臨床的意義はないものと考えられる。ラット 26 週間慢性毒性試験では、1500 mg/kg/日で軟便が認められた。また、全投薬群（100、500 及び 1500 mg/kg/日）で、病理組織学的検査において脾臓のリンパ濾胞の軽微～軽度増加が認められ、1500 mg/kg/日の用量では、脾臓重量の増加が観察された。免疫毒性作用は認められなかった。ラット 104 週間がん原性試験では、検討した 800/1200 mg/kg/日の用量まで脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。ラット 104 週間試験での最高用量での曝露量（第 37 週の $AUC_{0\text{-}t}$：176000 ng•hr/mL）は、ラット 26 週間試験で検討した最高用量である 1500 mg/kg/日での曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$：248355 ng•hr/mL）よりもわずかに低いが、より長期投与の後でも（6 ヵ月間に対し 2 年間）脾臓に所見が認められなかった。また、サル 39 週間試験では、曝露量がわずかに高かったにも関わらず（$AUC_{0\text{-}t}$：305823 ng•hr/mL）、脾臓に投薬に関連した所見は認められなかった。したがって、本試験で観察された脾臓での所見は有害所見とみなさず、ラット 26 週間慢性毒性試験での NOAEL は、500 mg/kg/日と判断した。サル 39 週間投与毒性試験では、ミガーラスタット塩酸塩は、最高用量の 500 mg/kg/日まで有意な有害作用を示さなかった。

遺伝毒性試験では、ミガーラスタット塩酸塩は、細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンパ腫細胞 L5178Y を用いた *in vitro* 試験で遺伝子突然変異を認めず、また、*in vivo* ラット小核試験で染色体損傷を認めなかった。 Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験にミガーラスタット塩酸塩のがん原性を示す所見は、認められなかった。ラット 104 週間がん原性試験では、最高用量群（800/1200 mg/kg/日、第 36 週に増量）で膵島細胞腺腫の発現率が対照群と比較して増加した。このラットで通常よく見られる腫瘍に対し、この発現率の差は、対比較で統計学的有意であったが、傾向検定では有意差は認められなかった。この高用量群の雄で認められた膵島細胞腺腫の発現率増加は、本試験で使用した Harlan Sprague-Dawley ラットで報告されている自然発生率を超えていたが、weight-of-evidence アプローチで、膵島細胞腺腫の発現率増加は偶発所見で、臨床的意義はないと判断した。

生殖毒性試験では、検討した全ての用量（2.5 mg/kg/日以上）で受精確認後の受胎能低下が認められたことから、ミガーラスタット塩酸塩により Sprague-Dawley ラットの受胎能は低下すると考えられた。処置雄と無処置雌を交配させた際に妊娠に同様の影響が認められたことから、この受胎能における低下は、雄でのみ認められる影響と結論付けられた。器官重量、精巣又は付属器官の病理組織学的検査所見及び精子パラメーター（総数、運動率及び形態）にミガーラスタット塩酸塩に関連する影響は観察されず、ミガーラスタット塩酸塩は、精子形成ではなく、成熟精子に影響を及ぼす可能性があることが示唆された。しかし、4 週間の休薬期間後、処置雄の 90%～100%は交配に成功し、また雌が妊娠していることから、観察された受胎能低下は比較的速や

かかつ完全に回復することが示された。ミガーラスタット塩酸塩はイミノ糖であり、このクラスの薬剤は、げっ歯類の雄で可逆性の受胎能低下を誘発することが報告されている。ミガーラスタット塩酸塩の影響は、ミグルスタット（N-ブチルデオキシノジリマイシン、ブレーザベス®）で報告されている影響と同様であった。日本ではミグルスタットはニーマン・ピック病 C 型治療薬として承認されており、また男性の可逆的避妊薬として探索的研究が行われている（Kogan and Wald, 2014）。ミグルスタットの短・長期投与により、雄マウスで受胎能が低下したが、6～9 週間の休薬期間中に回復したことが報告されている（van der Spoel et al, 2002; Walden et al, 2006）。ミグルスタットを投与されたマウスから採取した精子を解析した結果、精子の総数に変化は認められなかったが、精子の運動率は 75%以上低下し、精子及び先体の形態に顕著な異常が観察された。*In vitro* 試験から、ミグルスタットを投与されたマウスから採取した精子は、透明帯と適切に結合、貫通することができず、したがって卵母細胞に受精できないことが示唆されている（Suganuma et al, 2005）。ミガーラスタット及び構造が類似しているミグルスタットの受胎能試験においていずれも受胎能低下が認められたことから、ミガーラスタットについても精子先体反応を阻害する作用を有している可能性がある。

表 2.6.6 - 17　マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトでのミガーラスタット塩酸塩経口投与後の血漿中曝露量及び安全域

Type of study	NOAEL (mg/kg/day)	AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	Margin of Safety [a] (2xAUC_{0-t} at NOAEL / human AUC_{0-t})	Study number
Repeat Dose Toxicity Studies				
26-Week in Rats	500	96659	21.4	AA17017
39-Week in Monkey	500	305823	67.7	AA17227
Carcinogenicity Study				
Mice	1000 (male) [b] 500 (female) [b]	121000 94400	26.8 20.9	ITR70576
Rats	800/1200	103000 at 800 mg/kg/day and 176000 at 1200 mg/kg/day	22.8/39.0	G4970
Reproductive Development studies				
Male and Female Fertility Study in Rats	<100	19152 [c]	<4.24	AA26533
Male Fertility Study	<2.5	736	<0.163	AA31159
Embryo-Fetal Development Study in Female Rats	1500	116664 [c]	25.8	AA26551
Embryo-Fetal Toxicity Study in Rabbits	120 (female)	334988	74.2	AA26552
Clinical study				
Predicted PK from Study AT1001-011	150 mg QOD (proposed therapeutic dose)	9033		MGM 116016

a: Margins of safety were calculated by doubling the AUC_{0-t} values obtained in the nonclinical toxicity studies and comparing them to the estimated human AUC_{0-48} value since the animals were treated daily (AUC_{0-24}) whereas the clinical dosing regimen is once every other day.
b: Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)
c: AUC_{0-t} based on AUC results on Day 14 at a dose level of 100 or 1500 mg/kg/day in the 14-day repeat-dose toxicity study in rats (ITR5850).
NOAEL = no-observed-adverse-effect level; QOD = *quaque altera die* (every other day)

GLP 及び ICH ガイドラインを遵守して実施したミガーラスタット塩酸塩の非臨床評価結果から、本剤の忍容性は良好であると結論付けられる。また、ミガーラスタット塩酸塩の安全性プロファイルは、マウス、ラット及びサルを用いた反復投与試験で確立されており、申請臨床用量での曝露量と比較して高い安全域が得られている。さらに、ミガーラスタットは遺伝毒性、がん原性及び催奇形性を有さないことが示された。ミガーラスタット塩酸塩の非臨床毒性試験で特定されたハザードは、雄ラットで認められた可逆性の受胎能低下のみであり、この所見は他のイミノ糖で観察されている所見と類似していた。以上の通り、ミガーラスタット塩酸塩の非臨床安全性

評価により、ファブリー病治療を適応症とした本剤の承認申請を裏付ける結果が得られたと結論付けられる。

10　参考文献

Anver MR, Cohen BJ, Lattuada CP, Foster SJ. Age-associated lesions in barrier-reared male Sprague-Dawley rats: a comparison between Hap: (SD) and Crl:COBS[R]CD[R](SD) stocks. Exp Aging Res. 1982 Spring;8(1 Pt 1):3-24. (4.3.2)

Baldrick P. Carcinogenicity evaluation: Comparison of tumor data from dual control groups in the Sprague–Dawley rat. Toxicol Pathol. 2005;33:283-91. (4.3.4)

Capen CC, Karbe E, Deschl U, George C, Germann PG, Gopinath C, et al. Endocrine system. In International Classification of Rodent Tumors. The Mouse. Mohr U, editor. Springer Berlin; 2001, 269-322. (4.3.9)

Dillberger JE. Age-related pancreatic islet changes in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 1994;22:48-55. (4.3.12)

Edler L, Hart A, Greaves P, Carthew P, Coulet M, Boobis A, et al. Selection of appropriate tumour data sets for Benchmark Dose Modelling (BMD) and derivation of a Margin of Exposure (MoE) for substances that are genotoxic and carcinogenic: Considerations of biological relevance of tumour type, data quality and uncertainty assessment. Food Chem Toxicol. 2014;70:264-89. (4.3.13)

Frankel WL. Update on pancreatic endocrine tumors. Arch Pathol Lab Med. 2006;130:963-6. (4.3.21)

Greaves P, Faccini JM, editors. Pancreas. A Glossary for use in Toxicity and Carcinogenicity Studies. Elsevier, Amsterdam; 1992. p. 118-26. (4.3.30)

Harlan Laboratories, Inc., Generation of Historical Control Data for the Hsd:Sprague Dawley®SD® rat for up to 104 Weeks - Study C11963. (4.3.31)

Kogan P, Wald M. Male Contraception: History and Development. Urol Clin North Am. 2014; 41(1): 145-61. (4.3.35)

Molon-Noblot S, Keenan KP, Coleman JB, Hoe CM, Laroque P. The effects of ad libitum overfeeding and moderate and marked dietary restriction on age-related spontaneous pancreatic islet pathology in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 2001 May-Jun;29(3):353-62. (4.3.40)

Suganuma R, Walden CM, Butters TD, Platt FM, Dwek RA, Yanagimachi R, et al. Alkylated imino sugars, reversible male infertility-inducing agents, do not affect the genetic integrity of male mouse germ cells

during short-term treatment despite induction of sperm deformities. Biol Reprod. 2005 Apr;72(4):805-13. (4.3.49)

van der Spoel AC, Jeyakumar M, Butters TD, Charlton HM, Moore HD, Dwek RA, et al. Reversible infertility in male mice after oral administration of alkylated imino sugars: A nonhormonal approach to male contraception. PNAS. 2002:99(26):17173-8. (4.3.51)

Walden CM, Butters TD, Dwek RA, Platt FM, van der Spoel AC. Long-term non-hormonal male contraception in mice using N-butyldeoxynojirimycin. Hum Reprod. 2006 May;21(5):1309-15. (4.3.52)

ガラフォルド®カプセル 123mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験概要表

Amicus Therapeutics 株式会社

目次

2.6.7.1　毒性試験 一覧表 3
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 8
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 9
2.6.7.4　毒性試験： 使用したロット 12
2.6.7.5　単回投与毒性試験 15
2.6.7.6　反復投与毒性試験 重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7　反復投与毒性試験 重要な試験 17
2.6.7.8　遺伝毒性試験：*In Vitro* 24
2.6.7.9　遺伝毒性試験：*In Vivo* 29
2.6.7.10　がん原性試験 30
2.6.7.11　生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験 45
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験 46
2.6.7.13　生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験 56
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 62
2.6.7.15　幼若動物を用いた試験 67
2.6.7.16　局所刺激性試験 67
2.6.7.17　その他の毒性試験 68

2.6.7.1　毒性試験　一覧表

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	Single dose	1500	Yes	[redacted] Canada	ITR5879 (2010N10606_00)	4.2.3.1.1
Single-Dose Toxicity	Dog, Beagle	Oral gavage	Single dose	316	Yes	[redacted] Canada	ITR6001 (2010N110608_00)	4.2.3.1.2
Repeat-Dose Toxicity	Mouse, CByB6F1	Oral gavage	28 days	0, 500, 1000, 2000 [b]	Yes	[redacted] Canada	ITR70575 (2011N130178_00)	4.2.3.2.1
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	5 days	0, 100, 500, 1500	Yes [c]	[redacted] Canada	ITR5881 (2010N110607_00)	4.2.3.2.2
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	2 weeks	0, 100, 500, 1500	Yes	[redacted] Canada	ITR5850 (2010N110605_00)	4.2.3.2.3
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	26 weeks	0, 100, 500, 1500 (0, 50, 250, 750 BID)	Yes	[redacted] France	AA17017 (2010N110611_01)	4.2.3.2.4

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity	Dog, Beagle	Oral gavage	5 days	0, 50, 200, 500	Yes [c]	[redacted] Canada	ITR6003 (2010N110609_00)	4.2.3.2.5
Repeat-Dose Toxicity	Dog, Beagle	Oral gavage	14 days	0, 50, 200, 500	Yes	[redacted] Canada	ITR2978	4.2.3.2.6
Repeat-Dose Toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	14 days	0, 50, 200, 500 (0, 25, 100, 250 BID)	Yes	[redacted] France	AA17225 (2010N110612_00)	4.2.3.2.7
Repeat-Dose Toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	39 weeks	0, 50, 200, 500 (0, 25, 100, 250 BID)	Yes	[redacted] France	AA17227 (2010N110614_00)	4.2.3.2.8
Genotoxicity (bacterial reverse mutation test)	Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537, and TA102)	*In vitro*	NA	52, 164, 512, 1600, or 5000 µg/plate (plate incorporation method) 492, 878, 1568, 2800 or 5000 µg/plate (preincubation method)	Yes	[redacted] France	247/001 (2011N130179_00)	4.2.3.3.1.1

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity (mammalian cell gene mutation test)	Mouse Lymphoma Cells *TK*$^{+/-}$, L5178Y	*In vitro*	NA	1.7, 5.4, 17, 52, 164, 512, 1600, or 5000 µg/mL (24h; without metabolic activation) 87, 155, 276, 492, 878, 1568, 2800, or 5000 µg/mL (4h; with/without metabolic activation)	Yes	[redacted] France	247/002 (2011N130180_00)	4.2.3.3.1.2
Genotoxicity (mammalian erythrocyte micronucleus test)	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	2 days	2000 (BID)	Yes	[redacted] France	AA18463 (2011N130181_00)	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity	Mouse, hemizygous Tg.rasH2 (main study) Mouse, CByB6F1 (TK)	Oral gavage	26 weeks	M: 0, 100, 300, 1000 [b] F: 0, 50 ,150, 500 [b]	Yes	[redacted] Canada	ITR70576 (2012N141502_00)	4.2.3.4.1.1

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Carcinogenicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	104 weeks	0, 50, 200, 800/1200 (0, 25, 100, 400/600 BID) [d]	Yes	[redacted] India	G4970 (2012N142005_00)	4.2.3.4.1.2
Fertility	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	M: up to 15 weeks F: 3-6 weeks	0, 100, 500, 1500 (0, 50, 250, 750 BID)	Yes	[redacted] France	AA26533 (2011N130182_00)	4.2.3.5.1.1
Fertility	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	M: at least 9 weeks	0, 2.5, 10, 25 (0, 1.25, 5, 12.5 BID)	Yes	[redacted] France	AA31159 (2011N130184_00)	4.2.3.5.1.2
Fertility	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	F: 3-6 weeks	0, 10, 100, 1000 (0, 5, 50, 500 BID)	Yes	[redacted] France	AA93208 (2011N130185_00)	4.2.3.5.1.3
Embryo-Foetal Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6 to GD 17	0, 100, 500, 1500 (0, 50, 250, 750 BID)	Yes	[redacted] France	AA26551 (2011N130186_00)	4.2.3.5.2.1
MTD for Embryo-Foetal Toxicity	Rabbit, New Zealand White (non-pregnant)	Oral gavage	6 days (3 days for 1000 mg/kg/day group)	500, 1000, 1500 (250, 500, 750 BID)	No	[redacted] France	AA27674 (2011N130189_00)	4.2.3.5.2.2

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Embryo-Foetal Toxicity	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	GD 6 to GD 19	0, 120, 300, 750 (0, 60, 150, 375 BID)	Yes	[redacted] France	AA26552 (2011N130187_00)	4.2.3.5.2.3
Pre- and Post-Natal Development	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6 to PND 20	0, 50, 200 1000 (0, 25, 100, 500 BID)	Yes	[redacted] France	AA94762 (2011N130190_00)	4.2.3.5.3.1
Other Toxicity Studies	Mouse, *Gla* (-/-) knockout	Migalastat HCl: oral gavage Agalsidase beta: IV	4 weeks (thrice weekly for migalastat HCl and once weekly for agalsidase beta)	Migalastat HCl: 0, 3.6, 36.6 Agalsidase beta: 0, 1	No	[redacted] USA	RR1001-11 (22644, 2012N132939_00)	4.2.3.7.7.1
Other Toxicity Studies	NA	*In vitro*	NA	0.000053 to 0.053 mol/L	No	[redacted] Switzerland	RR1001-65	4.2.3.7.7.2

BID = *bis in die* (twice daily); F = female; GD = gestation day; IV = intravenous: M = male; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; PND = post-natal day; *TK* = thymidine kinase; TK = toxicokinetics

[a] For pivotal studies, the NOAEL (No-Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

[b] Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)

[c] Bioanalytical and toxicokinetics analysis were not conducted in accordance with GLP.

[d] The high dose of 800 mg/kg/day was increased to 1200 mg/kg/day as of Week 36 to increase exposure in an attempt to target the 25-fold safety margin over a human dose of 150 mg every other day based on plasma AUC values.

2.6.7.2　トキシコキネティクス　　トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg/day)**	**GLP Compliance**	**Study Number**
Repeat-Dose Toxicity	Mouse, CByB6F1	Oral gavage	0, 500, 1000, 2000 [a]	Yes	ITR70575
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 100, 500, 1500	Yes [b]	ITR5881
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	100, 500, 1500	Yes	ITR5850
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 100, 500, 1500 (0, 50, 250, 750 BID)	Yes	AA17017
Repeat-Dose Toxicity	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 50, 200, 500	Yes [b]	ITR6003
Repeat-Dose Toxicity	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 50, 200, 500	Yes	ITR2978
Repeat-Dose Toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	0, 50, 200, 500 (0, 25, 100, 250 BID)	Yes	AA17225
Repeat-Dose Toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	0, 50, 200, 500 (0, 25, 100, 250 BID)	Yes	AA17227
Carcinogenicity	Mouse, CByB6F1	Oral gavage	M: 0, 100, 300, 1000 [a] F: 0, 50 ,150, 500 [a]	Yes	ITR70576
Carcinogenicity	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 50, 200, 800/1200 (0, 25, 100, 400/600 BID) [c]	Yes	G4970
Fertility	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 2.5, 10, 25	Yes	AA31159
Embryo-Foetal Toxicity	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 120, 300, 750	Yes	AA26552

BID = *bis-in-die* (twice daily)

[a] Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)

[b] Bioanalytical and toxicokinetics analysis were not conducted in accordance with GLP.

[c] The high dose of 800 mg/kg/day was increased to 1200 mg/kg/day as of Week 36 to increase exposure in an attempt to target the 25-fold safety margin over a human dose of 150 mg every other day based on plasma AUC values.

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

Test Article: Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	Steady-State AUC_{0-t} (ng·h/mL) (Day or Week of Blood Collection)										Study Number
	Mouse [a]		Rat		Rabbit		Dog		Monkey		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
2.5	-	-	736 (D 50)	-	-	-	-	-	-	-	AA31159
10	-	-	2030 (D 50)	-	-	-	-	-	-	-	AA31159
25	-	-	6663 (D 50)	-	-	-	-	-	-	-	AA31159
50	-	-	12600 (W 29)	14900 (W 29)	-	-	92084 (D 14)	109755 (D 14)	60237 (D 12)	54794 (D 12)	G4970, ITR2978, AA17225
50	-	13500 (W 26)	-	-	-	-	105475 (D 5)	110922 (D 5)	67669 (D 268)	76028 (D 267)	ITR6003, AA17227, ITR70576
100	25800 (W 26)	-	23713 (D 5)	25205 (D 5)	-	-	-	-	-	-	ITR70576, ITR5881
100	-	-	18900 (W 2)	19059 (W 2)	-	-	-	-	-	-	ITR5850
100	-	-	30079 (D 181)	30191 (D 181)	-	-	-	-	-	-	AA17017
120	-	-	-	-	-	334988 (GD 19)	-	-	-	-	AA26552
150	-	31800 (W 26)	-	-	-	-	-	-	-	-	ITR70576

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）

Test Article: Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	Steady-State AUC_{0-t} (ng·h/mL) (Day or Week of Blood Collection)										Study Number
	Mouse [a]		Rat		Rabbit		Dog		Monkey		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
200	-	-	29500 (W 29)	37100 (W 29)	-	-	320304 (D 14)	374421 (D 14)	274385 (D 12)	169062 (D 12)	G4970, ITR2978, AA17225
200	-	-	-	-	-	-	299069 (D 5)	367386 (D 5)	173379 (D 268)	196031 (D 267)	ITR6003, AA17227
300	38900 (W 26)	-	-	-	-	1101185 (GD 19)	-	-	-	-	ITR70576, AA26552
500	46800 (D 28)	47500 (D 28)	67296 (D 5)	65900 (D 5)	-	-	489409 (D 14)	537256 (D 14)	152841 (D 12)	359852 (D 12)	ITR70575, ITR5881, ITR2978, AA17225
500	-	94400 (W 26)	46794 (W 2)	59309 (W 2)	-	-	668745 (D 5)	557555 (D 5)	314649 (D 268)	296996 (D 267)	ITR70576, ITR5850, ITR6003, AA17227
500	-	-	85117 (D181)	108184 (D 181)	-	-	-	-	-	-	AA17017
750	-	-	-	-	-	1962625 (GD 19)	-	-	-	-	AA26552
800	-	-	89500 (W 29)	117000 (W 29)	-	-	-	-	-	-	G4970
1000	79300 (D 28)	124000 (D 28)	-	-	-	-	-	-	-	-	ITR70575

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）

Test Article: Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	Steady-State AUC_{0-t} (ng·h/mL) (Day or Week of Blood Collection)										Study Number
	Mouse [a]		Rat		Rabbit		Dog		Monkey		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
1000	121000 (W 26)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ITR70576
1200	-	-	184000 (W 37)	168000 (W 37)	-	-	-	-	-	-	G4970
1500	-	-	184138 (D 5)	171654 (D 5)	-	-	-	-	-	-	ITR5881
1500	-	-	123935 (W 2)	109394 (W 2)	-	-	-	-	-	-	ITR5850
1500	-	-	227526 (D 181)	269183 (D 181)	-	-	-	-	-	-	AA17017
2000	235000 (D 28)	443000 (D 28)	-	-	-	-	-	-	-	-	ITR70575

Note: All studies listed in the table were GLP-compliant, with the exception of the bioanalysis/toxicokinetics portions of the 5-day rat (ITR5881) and 5-day dog (ITR6003) studies.

[a] Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22).

2.6.7.4　毒性試験：　使用したロット

Drug Substance　**Test Article:** Migalastat HCl

Batch No.	**Purity (%)**	**Specified Impurities (%)**			**Study Number**	**Type of Study**
		C-023409	**C-023817**	**C-023992**		
PROPOSED SPECIFICATION:	**98.0%-102.0%**	**≤0.15**	**≤0.15**	**≤0.15**		
398-3-2	99.7	ND	ND	ND	ITR5879	Single-Dose Oral Toxicity in Rats
398-35-1	98.7	ND	ND	ND	ITR6001	Maximum-Tolerated Dose Oral Toxicity Study in Beagle Dogs
F09-03208	98.7	0.2	ND	ND	ITR70575	28-Day Oral Dose-Range Finding Toxicity Study in Mice
CML-187/03-AM5	99.3	ND	ND	ND	ITR5881	5-Day Oral Dose-Range Finding Toxicity Study in Rats
CML-359/03-AM5	100.4	ND	ND	ND	ITR5850	2-Week Oral Toxicity Study in Rats
CML-546/03-AM5	98.6	ND	ND	ND	AA17017	26-Week Oral Toxicity Study in Rats
CML-125/04-AM5	99.0	ND	ND	ND		
CML-035/04-AM5	98.8	ND	ND	ND		
CML-150/04-AM5	99.5	ND	ND	ND		
CML-187/03-AM5	99.3	ND	ND	ND	ITR6003	5-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs
CML-478/03-AM5	100.1	ND	ND	ND	ITR2978	14-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs
CML-478/03-AM5	100.1	ND	ND	ND	AA17225	14-Day Oral Dose-Range Finding Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys

2.6.7.4　毒性試験：　使用したロット （続き）

Drug Substance **Test Article:** Migalastat HCl

Batch No.	**Purity (%)**	**Specified Impurities (%)**			**Study Number**	**Type of Study**
		C-023409	**C-023817**	**C-023992**		
PROPOSED SPECIFICATION:	**98.0%-102.0%**	**≤0.15**	**≤0.15**	**≤0.15**		
CML-150/04-AM5	99.5	ND	ND	ND	AA17227	39-Week Oral Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys
CML-471/04-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-483/04-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-060/05-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-123/05-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-169/05-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-211/05-AM5	100	ND	ND	ND		
CML-245/05-AM5	98	ND	ND	ND		
398-68-2	98.6	ND	ND	ND	247/001	Bacterial Reverse Mutation Test
398-68-2	98.6	ND	ND	ND	247/002	*In vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test
CML-125/04-AM5	99.0	ND	ND	ND	AA18463	*In vivo* Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test in Rat Bone Marrow
F09-03208	98.7	0.2	ND	ND	ITR70576	26-Week Oral Carcinogenicity Study in Mice
F10-02433	98.7	n.d.	n.d.	n.d.		
F09-03208	98.7	0.2	ND	ND	G4970	104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats
CMLW-081/07-AM5	100.8	0.1	0.1	<0.1		
CMLW-037/06-AM5	99.6	<0.1	0.1	<0.1		

2.6.7.4　　毒性試験：　　使用したロット （続き）

Drug Substance　　**Test Article:** Migalastat HCl

Batch No.	**Purity (%)**	**Specified Impurities (%)**			**Study Number**	**Type of Study**
		C-023409	**C-023817**	**C-023992**		
PROPOSED SPECIFICATION:	**98.0%-102.0%**	**≤0.15**	**≤0.15**	**≤0.15**		
F10-02433	98.7	n.d.	n.d.	n.d.	G4970	104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats
F11-00767	101.4	n.d.	n.d.	n.d.		
F11-00766	100.7	n.d.	n.d.	n.d.		
F11-00765	101.1	n.d.	n.d.	n.d.		
F11-00692	100.8	n.d.	n.d.	n.d.		
F11-00768	100.9	n.d.	n.d.	n.d.		
F10-04862	100.5	0.1	n.d.	n.d.		
CML-244/05-AM5	98	ND	ND	ND	AA26533	Fertility Study in Male and Female Rats
CML-244/05-AM5	98	ND	ND	ND	AA31159	Fertility Study in Male Rats
F10-02433	98.7	<0.1	<0.1	<0.1	AA93208	Fertility Study in Female Rats
CML-211/05-AM5	100	ND	ND	ND	AA26551	Embryo-foetal Toxicity Study in Rats
CML-211/05-AM5	100	ND	ND	ND	AA27674	Maximum Tolerated Dose in Non-Pregnant Rabbits
CML-244/05-AM5	98	ND	ND	ND	AA26552	Embryo-foetal Toxicity Study in Rabbits
F10-02433	98.7	<0.1	<0.1	<0.1	AA94762	Pre- and Post-Natal Development Study Rats

ND = not determined; n.d. = not detected

2.6.7.5　単回投与毒性試験

Test Article: Migalastat HCl

Species/Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)**	**Approximate Lethal Dose (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number / Location in CTD**
Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (water)	1500	2/sex	1500	> 1500	None	ITR5879 /4.2.3.1.1
Dog, Beagle	Oral gavage (water)	316	1/sex	316	> 316	None	ITR6001 /4.2.3.1.2

Doses of 316 and 1500 mg/kg were equivalent to 259 and 1230 mg/kg as free base, respectively.

2.6.7.6　反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験

Nonpivotal Studies　　**Test Article:** Migalastat HCl

Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)**	**Gender and No. Per Group**	**NOAEL (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number / Location in CTD**
Mouse, CByB6F1- Tg (HRAS) 2Jic – Wild Type	Oral gavage (water)	28 days	0, 500, 1000, 2000 [a]	Main study: 10/sex	500	**1000 (females) and 2000 (males and females) mg/kg/day:** minimal to mild acute diffuse mucosal inflammation of the large intestine (caecum, colon and rectum).	ITR70575 /4.2.3.2.1
Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (water)	5 days	0, 100, 500, 1500	Main study: 3/sex	1500	None.	ITR5881 /4.2.3.2.2
Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (water)	2 weeks	0, 100, 500, 1500	Main study: 10/sex Recovery phase: 5/sex (control and high-dose group)	500	**1500 mg/kg/day:** microscopic findings noted in the stomach appeared to be due to irritation rather than a systemic effect of the test article.	ITR5850 /4.2.3.2.3
Dog, Beagle	Oral gavage (water)	5 days	0, 50, 200, 500	1/sex	500	None.	ITR6003 /4.2.3.2.5
Dog, Beagle	Oral gavage (water)	14 days	0, 50, 200, 500	3/sex	200	None.	ITR2978 /4.2.3.2.6
Monkey, Cynomolgus	Oral gavage (water)	14 days	0, 50, 200, 500 (0, 25, 100, 250 BID)	2/sex	500	None.	AA17225 /4.2.3.2.7

Doses of 50, 100, 200, 500, 1000 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 41, 82, 164, 410, 820 and 1230 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily)
[a] Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22).

2.6.7.7　反復投与毒性試験　　重要な試験

2.6.7.7.A　ラット 26 週間経口投与毒性試験

Report Title: AT-1001 - 26 Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat With an Interim Kill After 13 Weeks, and Followed by an 8-Week Treatment-free Period

Test Article: Migalastat HCl

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley

Duration of Dosing: 26 weeks with an interim sacrifice after 13 weeks

Study No. AA17017

Initial Age: Approximately 6 weeks

Duration of Postdose: 8 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2.4

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage, BID (~6 hours apart)

Vehicle/Formulation: Water

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: 500 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**
Toxicokinetics:								
Numbers examined	3	3	9	9	9	9	9	9
Day 90								
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	ND	ND	20156	23207	64765	94720	141929	188114
C_{max1} (ng/mL)	ND	ND	5113	8400	8517	16267	13767	16000
C_{max2} (ng/mL)	ND	ND	4813	6060	9293	14057	18800	23833
Day 181								
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	ND	ND	30079	30191	85117	108184	227526	269183
C_{max1} (ng/mL)	ND	ND	6747	12770	10740	17400	21700	23167
C_{max2} (ng/mL)	ND	ND	8137	4380	15000	18167	20967	27600

2.6.7.7.A　　ラット 26 週間経口投与毒性試験（続き）

Study No. AA17017　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Soft faeces	-	-	-	-	-	-	Present	Present
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis								
pH								
Day 91 for M; Day 92 for F	7.4	6.8	7.4	6.7	7.3	6.7	6.0	5.6
Day 182 for M; Day 183 for F	7.5	6.9	7.1	6.4	6.5	6.3	5.5	5.2
Day 238	7.2	6.6	-	-	-	-	7.3	6.4
Organ Weights[a]								
Spleen (%) (Week 13)	0.72047 (g)	0.54752 (g)	+4.64	+0.93	+15.0	+1.70	+38.8[#]	+6.33
Relative body weight (%)	0.15497	0.19933	+6.1	+1.31	+12.6	-4.62	+50.9[##]	+1.08
Spleen (%) (Week 26)	0.76676 (g)	0.51734 (g)	+0.62	+11.8	+13.6	+7.33	+9.51	+27.0**

2.6.7.7.A　　ラット 26 週間経口投与毒性試験（続き）

Study No. AA17017　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**	**M: 10, 15**	**F: 10, 15**
Relative body weight (%)	0.14047	0.15673	+5.09	+14.0	+9.63	+12.5	+13.4	+22.1[#]
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (incidence)								
Numbers examined (Week 13)	10	10	10	10	10	10	10	10
Spleen - Increased lymphoid follicle	2	2	8	6	9	10	7	8
Minimal	2	2	6	5	6	8	2	3
Slight	0	0	2	1	3	2	5	5
Numbers examined (Week 26)	15	15	15	15	15	15	15	15
Spleen - Increased lymphoid follicle	1	1	7	5	7	5	12	11
Minimal	1	1	6	5	6	5	8	6
Slight	0	0	1	0	1	0	4	5

2.6.7.7.A　　ラット 26 週間経口投与毒性試験（続き）

Study No. AA17017　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1500**	
Postdose Evaluation: Number Evaluated	**10**	**10**	**0**	**0**	**0**	**0**	**10**	**10**
Organ weights [a]								
Spleen (%)	0.77167 (g)	0.55128 (g)	ND	ND	ND	ND	+10.6	+7.09
Relative body weight (%)	0.12954	0.14932	ND	ND	ND	ND	+10.5	+17.4^
Histopathology (incidence)								
Spleen - Increased lymphoid follicle	2	0	ND	ND	ND	ND	4	5
Minimal	2	0	ND	ND	ND	ND	3	3
Mild	0	0	ND	ND	ND	ND	1	2

Doses of 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); ND = not determined, C_{max1} = Maximum plasma concentration following the first dose administration, C_{max2} = Maximum plasma concentration following the second dose administration
- = no noteworthy findings; # = $p<0.05$; ## = $p<0.01$ (Dunn test); * = $p<0.05$; ** = $p<0.01$ (Dunnett test); ^ = $p<0.05$ (Student's t test)
[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on mean data (not on the percent differences).

2.6.7.7.B　　サル 39 週間経口投与毒性試験

Report Title: AT-1001**:** 39 Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey With an Interim Sacrifice After 13 and 26 Weeks and Followed by an 8 Week Treatment-Free Period

Test Article: Migalastat HCl

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus

Duration of Dosing: 39 weeks

Study No. AA17227

Initial Age: 21 to 27 months

Duration of Postdose: 8 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2.8

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage, BID (~6 hours apart)

Vehicle/Formulation: Water

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: 500 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26, Week 39	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**
Toxicokinetics:								
Day 84								
Numbers examined	11	11	9	9	9	8	11	11
Mean AUC_{0-t} (SD) (ng·h/mL)	ND	ND	58756 (15628)	61812 (21247)	182961 (76981)	181989 (62828)	300600 (79789)	305411 (69944)
Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	ND	ND	8747 (9018)	5992 (1891)	21422 (13258)	18813 (4547)	29055 (4307)	32700 (7624)

2.6.7.7.B　　サル 39 週間経口投与毒性試験（続き）

Study No. AA17227　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26, Week 39	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**
Day 175								
Numbers examined	8	8	6	6	6	6	8	8
Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng·h/mL)	ND	ND	55909 (11359)	58094 (14550)	170259 (44669)	161286 (34646)	293110 (48107)	273794 (64757)
Mean C_{max} (SD)(ng/mL)	ND	ND	6807 (2069)	6762 (1547)	16917 (3830)	14533 (2279)	29350 (8320)	26613 (5619)
Day 268M/267F								
Numbers examined	6	6	4	4	4	4	6	6
Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD) (ng·h/mL)	ND	ND	67669 (11850)	76028 (26257)	173379 (28482)	196031 (35869)	314649 (94321)	296996 (81979)
Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	ND	ND	5843 (1361)	9258 (4819)	20375 (4286)	19800 (4080)	22750 (5235)	26083 (8045)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.B　　サル 39 週間経口投与毒性試験（続き）

Study No. AA17227　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**500**	
Number of Animals for Week 13, Week 26, Week 39	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**	**M: 3, 2, 4**	**F: 3, 2, 4**
Haematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Lymphocyte subsets (Week 13))	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose Evaluation: Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Noteworthy Findings	-	-	ND	ND	ND	ND	-	-

Doses of 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); SD = standard deviation, ND = not determined
- = no noteworthy findings

2.6.7.8　遺伝毒性試験：*In Vitro*

2.6.7.8.A　細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: AT-001: Bacterial Reverse Mutation Test (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)　**Test Article:** Migalastat HCl

Test for Induction of: gene point mutation at the histidine-requiring locus in strains of *Salmonella typhimurium*　**No. of Independent Assays:** 2　**Study No.** 247/001

Strains: *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 and TA102)　**No. of Replicate Cultures:** 3　**Location in CTD:** 4.2.3.3.1.1

Metabolizing System: Aroclor 1254-induced male Sprague-Dawley rat liver S9　**No. of Cells Analyzed/Culture:** 1 x 10^8 – 1 x 10^9

Vehicles:　**For Test Article:** Water　**For Positive Controls:** Not specified　**GLP Compliance:** Yes

Treatment: Plate incorporation and Pre-incubation methods - Treatment with and without metabolic activation　**Date of Treatment:** [redacted]

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Mean Revertant Colonies per Plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Plate incorporation method							
Without Activation	Vehicle	0	30.3	78.3	20.0	7.0	371.0
	Migalastat HCl	52	27.0	77.3	21.3	8.7	366.3
		164	25.7	62.3	20.7	7.7	376.0
		512	24.0	75.3	21.7	9.7	366.3
		1600	30.7	76.3	15.7	6.7	337.3
		5000	25.7	75.0	18.3	7.3	315.3

2.6.7.8.A　　細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Study No. 247/001　　**Test Article:** Migalastat HCl

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Mean Revertant Colonies per Plate**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
Without Activation	2-Nitrofluorene	5	477.7	ND	ND	ND	ND
	Sodium azide	10	ND	1603.7	1686.3	ND	ND
	9-Aminoacridine	50	ND	ND	ND	161.7	ND
	t-Butyl hydroperoxide	100	ND	ND	ND	ND	2326.3
With Activation	Vehicle	0	40.7	81.7	9.3	13.3	424.0
	Migalastat HCl	52	42.7	93.0	13.3	14.3	432.7
		164	36.3	67.7	14.3	13.7	450.3
		512	37.3	76.7	13.0	12.3	424.3
		1600	39.0	86.0	13.3	14.3	390.0
		5000	30.7	73.0	13.7	12.3	394.0
	2-Amino-anthracene	5	1019.0	1005.3	92.3	43.7	879.3
Pre-incubation method							
Without Activation	Vehicle	0	23.0	49.7	13.7	6.0	247.3
	Migalastat HCl	492	32.3	62.7	14.0	7.3	307.7*
		878	28.3	53.0	14.0	8.3	275.3
		1568	23.0	55.3	9.3	4.7	295.3
		2800	26.3	54.7	13.7	11.0	324.3**
		5000	24.3	49.0	14.7	6.0	345.7***

2.6.7.8.A　細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Study No. 247/001　　**Test Article:** Migalastat HCl

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Mean Revertant Colonies per Plate**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
Without Activation	2-Nitrofluorene	5	713.0	ND	ND	ND	ND
	Sodium azide	10	ND	1399.3	1551.7	ND	ND
	9-Aminoacridine	50	ND	ND	ND	147.0	ND
	t-Butyl hydroperoxide	100	ND	ND	ND	ND	2348.3
With Activation	Vehicle	0	32.3	60.3	12.7	15.0	413.0
	Migalastat HCl	492	32.0	79.0*	9.0	12.7	367.3
		878	30.3	70.3	12.7	7.7	389.0
		1568	45.0	65.7	11.3	8.7	366.0
		2800	37.7	60.3	13.0	7.3	371.0
		5000	29.0	53.7	10.7	10.0	385.3
	2-Amino-anthracene	5[a]	1249.7	974.7	89.0	174.3	979.3

Concentrations of 52, 164, 512, 1600 and 5000 µg/plate used in plate incorporation method were equivalent to 43, 134, 420, 1311 and 4098 µg/plate as free base, respectively.
Concentrations of 492, 878, 1568, 2800 and 5000 µg/plate used in pre-incubation method were equivalent to 403, 720, 1285, 2295 and 4098 µg/plate as free base, respectively.
* = p≤0.05;** = p≤0.01; *** = p≤0.005; ND = not determined
[a] Except for strain TA102 using the pre-incubation method: 10 µg/plate.

2.6.7.8.B　　マウスリンフォーマ *TK* 試験

Report Title: AT-1001: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test on L5178Y Mouse Lymphoma Cells $TK^{+/-}$ (Microwell Method)

Test Article: Migalastat HCl

Test for Induction of: gene point mutations at the thymidine kinase (*TK*) locus in Mouse Lymphoma cells (L5178Y)

No. of Independent Assays: 1

Study No. 247/002

Strains: Mouse Lymphoma cells (L5178Y)

No. of Replicate Cultures: 2

Location in CTD: 4.2.3.3.1.2

Metabolizing System: Aroclor 1254-induced male Sprague-Dawley rat liver S9

No. of Cells Analyzed/Culture: 5 x 10^5 cells/mL

Vehicles:　**For Test Article:** Water

For Positive Controls: Not specified

GLP Compliance: Yes

Treatment: Treatment for 24h without metabolic activation and for 4h with or without metabolic activation

Date of Treatment: [redacted]

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Test Article	Conc. (µg/mL)	Duration of Treatment (hours)											
		24 (-S9) [a]				4 (-S9) [a]				4 (+S9) [a]			
		RS	RTG	MF	S/L	RS	RTG	MF	S/L	RS	RTG	MF	S/L
UT	0	1.51	1.26	0.75	1.42	1.15	1.04	0.97	1.50	0.95	1.06	0.91	0.67
Migalastat HCl	1.7	1.05	1.12	0.78	0.92	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	5.4	1.41	1.27	0.85	1.08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	17	1.05	0.95	1.07	1.17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	52	1.32	1.16	0.97	1.33	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	87	ND	ND	ND	ND	1.27	1.00	0.79	1.41	0.93	0.99	0.95	0.89
	155	ND	ND	ND	ND	1.16	0.87	1.00	1.68	0.87	1.13	0.91	0.89
	164	1.46	1.12	0.97	1.17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	276	ND	ND	ND	ND	1.20	1.17	0.88	1.91	0.88	1.09	0.91	0.81

2.6.7.8.B　　マウスリンフォーマ *TK* 試験（続き）

Study No. 247/002　　**Test Article:** Migalastat HCl

Test Article	Conc. (µg/mL)	Duration of Treatment (hours)											
		24 (-S9) [a]				4 (-S9) [a]				4 (+S9) [a]			
		RS	RTG	MF	S/L	RS	RTG	MF	S/L	RS	RTG	MF	S/L
Migalastat HCl	492	ND	ND	ND	ND	1.11	1.18	0.90	1.95	0.93	1.29	0.83	1.07
	512	1.24	1.36	0.77	0.92	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	878	ND	ND	ND	ND	1.15	1.13	0.72	2.00	0.91	1.03	1.06	1.11
	1568	ND	ND	ND	ND	1.20	0.94	0.88	0.82	0.87	1.26	0.92	1.07
	1600	1.04	0.88	1.03	0.75	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	2800	ND	ND	ND	ND	0.90	1.00	0.92	1.32	0.90	1.11	0.96	1.26
	5000	1.15	0.98	0.87	1.25	1.36	0.94	0.88	1.27	1.04	1.22	0.95	1.15
MMS	4	0.57	0.41	3.06	2.92	0.73	0.76	2.43	3.73	ND	ND	ND	ND
	7.5	0.18	0.09	6.07	6.50	0.80	0.56	4.32	6.36	ND	ND	ND	ND
CP	2.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.62	0.63	5.03	3.44
	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.17	0.14	10.98	5.74

Concentrations of 1.7, 5.4, 17, 52, 87, 155, 164, 276, 492, 512, 878, 1568, 1600, 2800 and 5000 µg/mL were equivalent to 1.4, 4.4, 14, 43, 71, 127, 134, 226, 403, 420, 720, 1285, 1311, 2295 and 4098 µg/mL as free base, respectively.
CP = Cyclophosphamide; MF = mutant frequency; MMS = Methylmethanesulfonate; ND = not determined; RS = relative survival; RTG = relative total growth; S/L = small/large colonies ratio; UT = untreated control
[a] The values (calculated from duplicate cultures) are relative to the concurrent negative (vehicle) control value (set to 1.00).

2.6.7.9　遺伝毒性試験：*In Vivo*

2.6.7.9.A　ラット小核試験

Report Title: AT-1001: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test in the Rat Bone Marrow

Test Article: Migalastat HCl

Test for Induction of: Micronuclei in Sprague-Dawley rat bone marrow erythrocytes

Treatment Schedule: 2 daily administrations (approximately 4-6 hours apart) for 2 days

Study No. AA18463

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley

Sampling Time: 24 hours

Location in CTD: 4.2.3.3.2.1

Age: 5 to 6 weeks

Method of Administration: Oral gavage

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocyte

Vehicle/Formulation: Water

GLP Compliance: Yes

No. of Cells Analyzed/Animal: 2000

Date of Dosing: [redacted]

Special Features: None

Toxic/Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Evidence of Exposure: Not applicable – limit test

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	PCE/NCE Erythrocytes (Mean)	MN-PCEs Number per 1000 PCEs (Mean)	
				Per sex	Per treatment group
Vehicle	0	5M	0.88	0.88	0.63
		5F	0.60	0.39	
Migalastat HCl	2000	5M	1.15	2.07*	1.56**
		5F	1.11	1.05	
Cyclophosphamide	60	5M [a]	0.15	3.13**	3.63**
		5F [a]	0.33	4.13**	

Doses of 2000 mg/kg were equivalent to 1639 mg/kg as free base. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ (chi-square test)
MN-PCE = micronucleated-polychromatic erythrocyte; PCE = polychromatic erythrocyte; PCE/NCE = polychromatic erythrocyte/normochromatic erythrocyte
[a] The frequencies of MN-PCEs were low and similar to those seen in the negative controls in 3 of 5 males and 2 of 5 females, however, statistically significant increases in the mean frequency of MN-PCEs were observed when using a chi-square test which included values for all animals in the positive control group.

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.A　Tg.rasH2 マウス 26 週間がん原性試験

Report Title: AT1001: A 26-Week Oral Carcinogenicity Study in Tg.rasH2 Mice

Test Article: Migalastat HCl

Species/Strain: Mouse, hemizygous Tg.rasH2 (Main study); Mouse, CByB6F1 (Toxicokinetic study)

Duration of Dosing: 26 weeks

Study No. ITR70576

Initial Age: 7 to 8 weeks

Method of Administration: Oral gavage

Location in CTD: 4.2.3.4.1.1

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: Water

Treatment of Controls: Vehicle

GLP Compliance: Yes

Basis for High-Dose Selection: Dose levels were selected based on data from a 28-day oral dose range-finding toxicity study in CByB6F1 mice (Study No. ITR70575), where doses up to 500 mg/kg/day were well tolerated without any evidence of toxicity. There was histological evidence of irritation of the large intestine in females at doses of 1000 and 2000 mg/kg/day and in males at 2000 mg/kg/day. The NOAEL was 500 mg/kg/day for females and 1000 mg/kg/day for males; therefore, the highest doses in this study (males: 1000 mg/kg/day; females: 500 mg/kg/day) were selected based on ICH Guideline S1C (R2).

Special Features: Doses are based on free base equivalents (correction factor: 1.22)

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**Positive Control (Urethane)**		**100**	**50**	**300**	**150**	**1000**	**500**
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Toxicokinetics [a]:										
Numbers examined	5	5	0	0	20	20	20	20	20	20
Day 182										
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	ND	ND	ND	ND	NC	NC	38900	32000	121000	94400
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	ND	ND	ND	ND	25800	13500	38900	31800	121000	94400
C_{max} (ng/mL)	ND	ND	ND	ND	27900	14400	27100	23800	49600	64100

2.6.7.10.A　Tg.rasH2 マウス 26 週間がん原性試験（続き）

Study No. ITR70576　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**Positive Control (Urethane)**		**100**	**50**	**300**	**150**	**1000**	**500**
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals: (Main study)										
At Start	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Died/Sacrificed Moribund	0	2	24	25	1	0	1	1	2	2
Terminal Sacrifice	25	23	1	0	24	25	24	24	23	23
Survival (%)	100	92	4	0	96	100	96	96	92	92
Body Weight[b] (%) (Week 26)	29.6 (g)	23.8 (g)	31.9 (g)	24.5 (g)	+0.34	-2.52	-1.01	-1.68	+1.35	+1.68
Food Consumption[b] (%) (Week 25 to 26)	32 (g)	31 (g)	33 (g)	33 (g)	+6.25	0	+3.13	0	+12.5	+3.23
Number of Animals with Neoplasms and hyperplastic Lesions:	2	1	25	25	4	0	2	0	2	4
Caecum										
Leiomyoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Circulatory System										
Haemangioma	0	1	3	0	1	0	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	1	0	25	23	2	0	0	0	1	0

2.6.7.10.A　Tg.rasH2 マウス 26 週間がん原性試験（続き）

Study No. ITR70576　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**Positive Control (Urethane)**		**100**	**50**	**300**	**150**	**1000**	**500**
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Harderian Gland										
Hyperplasia	0	1	10	8	0	1	0	0	0	1
Adenoma	0	0	7	16	0	0	1	0	0	0
Adenocarcinoma	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Lungs										
Hyperplasia, alveolar epithelial	0	0	4	3	0	0	1	0	0	1
Adenoma, bronchioloalveolar	1	0	25	25	1	0	0	0	0	2
Carcinoma, bronchioloalveolar	0	0	19	21	0	0	1	0	0	0
Haemolymphoreticular System										
Lymphoma, malignant	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Salivary gland, mandibular										
Adenocarcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Skin and Subcutis										
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Stomach										
Carcinoma, squamous cell	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
Uterus										
Adenocarcinoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0

2.6.7.10.A　Tg.rasH2 マウス 26 週間がん原性試験（続き）

Study No. ITR70576　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**Positive Control (Urethane)**		**100**	**50**	**300**	**150**	**1000**	**500**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology – Non-Neoplastic	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NA = not applicable; NC = not calculated; ND = not determined
- = no noteworthy findings
[a] CByB6F1 mice were used for the TK assessment
[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験

Report Title: AT1001: 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Sprague Dawley Rats

Test Article: Migalastat HCl

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley

Duration of Dosing: 104 weeks

Study No. G4970

Initial Age: 7 to 8 weeks

Method of Administration: Oral gavage

Location in CTD: 4.2.3.4.1.2

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: Water

Treatment of Controls: Vehicle

GLP Compliance: Yes

Basis for High-Dose Selection: The top dose was selected based upon achieving approximately 25-fold exposure over a human dose of 150 mg administered orally every other day based on plasma AUC values.

Special Features: The high dose of 800 mg/kg/day was increased to 1200 mg/kg/day as of Week 36 to increase exposure in an attempt to target the 25-fold exposure over a human dose of 150 mg every other day based on plasma AUC values.

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Toxicokinetics:								
Numbers examined	10	10	18	18	18	18	18	18
Week 29 $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	ND	ND	12600	14900	29500	37100	89500	117000
C_{max} (ng/mL)	ND	ND	4730	7030	9970	14600	16900	26600
Week 37 $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	184000	168000
C_{max} (ng/mL)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	27600	24200
Number of Animals: (Main study)								
At Start	100	100	50	50	50	50	50	50
Died/Sacrificed Moribund	66	45	30	21[c]	29	31	28[c]	23
Terminal Sacrifice	34	55	20	29	21	19	22	27

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Survival (%)	34	55	40	58	42	38	44	54
Body Weight [b] **(%) (Week 104)**	546.32 (g)	366.63 (g)	-3.53	-4.13	-0.58	-4.64	-7.25	-7.97
Food Consumption [b] **(%) (Week 104)**	25.46 (g/rat/day)	20.88 (g/rat/day)	-7.42	-3.40	-0.12	+3.21	-5.58	-0.53
Number of Animals with Neoplastic Lesions:								
Pancreas								
Islet cell adenoma + carcinoma (benign + malignant)	8	3	7	3	6	1	11	1
Islet cell adenoma (benign)	6	3	6	2	4	1	10*	1
Adenoma (acinar cell)	2	0	0	0	1	0	2	0
Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Liver								
Adenoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Endometrial adenocarcinoma	0	1	0	0	0	0	0	1
Hepatocellular adenoma	0	0	0	1	0	1	2	0
Hepatocellular carcinoma	0	1	0	1	0	0	0	0
Cholangioma	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Kidneys								
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Liposarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lung with Bronchi								
Bronchiolar alveolar adenoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Neurofibrosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Endometrial adenocarcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Adenocarcinoma	0	2	0	0	0	0	0	1
Adenosquamous carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
C-cell carcinoma	0	1	1	0	0	0	0	0
Malignant pheochromocytoma	0	0	1	0	1	0	1	0
Heart								
Benign schwannoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Stomach								
Squamous cell carcinoma	0	0	2	0	0	0	0	0
Duodenum								
Adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Jejunum								
Cystadenoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Rectum								
Adenocarcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric								
Hemangioma	0	1	0	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen								
Malignant pheochromocytoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangiopericytoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Thyroid gland								
Adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0
C-cell adenoma	3	6	3	9	1	3	2	4
C-cell carcinoma	5	1	2	3	1	0	1	2
Follicular cell carcinoma	1	0	0	1	0	0	0	0
Follicular cell adenoma	0	3	0	0	1	0	0	0
Parathyroid gland								
C-cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
C cell adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Adrenal glands								
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Benign pheochromocytoma	30	11	16	3	10	4	19	2
Cortical cell carcinoma	0	0	1	1	1	0	0	0
Cortical cell adenoma	0	6	1	0	1	1	3	1
Malignant pheochromocytoma	9	1	4	1	4	0	4	0
Testes								
Mesothelioma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Ovaries with oviduct								
Benign granulosa cell tumour	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Malignant granulosa cell tumor	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Endometrial adenocarcinoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Luteoma	NA	0	NA	2	NA	0	NA	0
Sex chord stromal tumour	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Thecoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Uterus with cervix								
Polyp	NA	12	NA	6	NA	5	NA	9
Endometrial adenocarcinoma	NA	6	NA	4	NA	1	NA	6
Adenocarcinoma	NA	2	NA	0	NA	0	NA	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Uterus with cervix (continued)								
Adenosquamous carcinoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Squamous cell carcinoma	NA	0	NA	2	NA	1	NA	2
Malignant schwannoma	NA	0	NA	2	NA	0	NA	1
Squamous cell papilloma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Papilloma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Hemangioma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Granular cell tumour	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Adenoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Vagina								
Malignant schwannoma	NA	0	NA	2	NA	0	NA	0
Epididymides								
Mesothelioma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Pituitary gland								
Adenoma	21	55	13	30	18	37	11	30
Malignant schwannoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma	0	1	0	0	0	1	0	1
Brain cerebrum								
Oligodendroglioma	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Brain cerebrum (continued)								
Malignant glioma	0	1	0	0	0	0	0	0
Adenocarcinoma	0	1	0	0	0	1	0	1
Meningeal tumour	0	1	0	0	0	0	0	0
Brain cerebellum								
Malignant glioma	0	1	0	0	0	0	0	0
Brain medulla/pons								
Benign glioma	0	0	0	0	0	0	1	0
Malignant glioma	0	1	0	0	0	0	0	0
Meningioma	0	1	0	0	0	0	0	0
Spinal cord								
Malignant glioma	0	1	0	0	0	0	0	0
Eyes with optic nerves								
Malignant schwannoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Leiomyoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin/subcutis								
Fibroma	0	1	0	0	0	0	1	0
Keratoacanthoma	2	0	2	0	2	0	1	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	2	0	0	1	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Skin/subcutis (continued)								
Malignant schwannoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Squamous cell papilloma	0	0	2	0	0	0	0	0
Mammary glands								
Adenoma	0	2	0	1	0	2	0	2
Fibroadenoma	1	46	1	20	3	26	1	30
Fibroma	0	0	0	0	0	0	0	1
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Squamous cell carcinoma	0	1	0	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma	0	11	0	3	0	3	0	9
Gland, preputial								
Hemangioma	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Squamous cell carcinoma	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Gland, clitoral								
Squamous cell carcinoma	NA	2	NA	1	NA	0	NA	0
Squamous cell papilloma	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0
Harderian glands								
Adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hemolymphoreticular system								
Large granular lymphocyte lymphoma	1	0	0	0	1	0	0	1
Lymphoma	0	1	0	0	1	1	0	0
Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	1
Cavity, peritoneal								
Round cell tumour	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node								
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Mesentery								
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	0	0
Head								
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Tail								
Benign schwannoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Hindlimb								
Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Forelimb								
Undifferenciated sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Abdominal region								
Fibroma	1	0	2	0	0	0	2	0
Cervical region								
Fibroma	1	0	0	0	1	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Basal cell tumour	0	0	1	0	0	0	0	0
Thoracic region								
Fibrosarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Lipoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Neurofibroma	0	0	0	0	1	0	0	0
Neck region								
Squamous cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Pelvic region								
Fibroma	1	0	0	0	0	0	0	0
Thoraco abdominal region								
Fibroma	1	0	0	0	0	0	0	0
Keratoacanthoma	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10.B　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study No. G4970　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**200**		**800/1200** [a]	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Preputial region								
Liposarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lesion								
Neurofibrosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Fibroma	0	0	1	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	1	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma nos	1	0	0	0	0	0	0	0
Lumbar region								
Malignant schwannoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology – Non-Neoplastic								
Pancreas								
Lobular atrophy	5	2	1	1	1	0	3	0
Islet cell hyperplasia; focal	2	1	1	0	1	1	2	1

Doses of 50, 200 and 800/1200 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 656/984 mg/kg/day as free base, respectively.
ND = not determined, NA = not applicable
- = no noteworthy findings; * = $p<0.01$ (pair-wise comparison)
[a] The high-dose group was treated with 800 mg/kg/day during Weeks 1 - 35, and then 1200 mg/kg/day from Week 36 until termination
[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
[c] Inclusive of one rat that died after experimental schedule during staggered terminal sacrifice.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験

Test Article: Migalastat HCl

Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number / Location in CTD**
Rabbit, New Zealand White (non-pregnant)	Oral gavage (water)	Phase 1: 6 days; Phase 2: 3 days	Phase 1: 500, 1500; Phase 2: 1000	2F	**1500 mg/kg/day:** marked signs of anorexia (body weight loss of between 200 and 300g with reduced food consumption and faecal output). **1000 mg/kg/day:** reduced food consumption; however, this was associated with only a small (-1 g) loss in body weight for 1/2 females.	AA27674 / 4.2.3.5.2.2

Doses of 500, 1000 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 410, 820 and 1230 mg/kg/day as free base, respectively.

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験

2.6.7.12.A　雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験

Report Title: AT-1001: Fertility Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat (Segment I)

Test Article: Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.1? Yes

Duration of Dosing: M: 1st mating: after 4 weeks treatment; 2nd mating: after 10 weeks treatment; 3rd mating: after 15 weeks treatment + 4 weeks recovery.

F: 1st mating: 2 weeks before mating, throughout mating, and until day GD7; 2nd and 3rd mating: untreated.

Study No. AA26533

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley

Day of Mating: GD0

Location in CTD: 4.2.3.5.1.1

Initial Age: 9 weeks

Day of C-Section: GD13

Date of First Dose: Males: [redacted]; Females: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage, BID (~6 hours apart)

GLP Compliance: Yes

Special Features: Sperm Analysis

Vehicle/Formulation: Water

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Males: <100 mg/kg/day, F_0 Females: <100 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Males				
Toxicokinetics:	ND	ND	ND	ND
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-

2.6.7.12.A　　雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA26533　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Mean No. Days Prior to Mating				
1st Mate	2.83	2.75	1.89	2.25
2nd Mate	2.32	1.68	2.39	3.65
3rd Mate	3.13	2.67	2.50	5.38
No. of Males that Mated				
1st Mate	19	20	20	20
2nd Mate	20	19	20	20
3rd Mate	9 (of 10)	10 (of 10)	10 (of 10)	9 (of 9)
No. of Fertile Males				
1st Mate	19	4	1	1
2nd Mate	19	9	5	2
3rd Mate	8 (of 9)	9 (of 10)	10 (of 10)	9 (of 9)
Sperm Analysis [sperm counts (from the testis), sperm motility evaluation (from the epididymis), and sperm morphological examination]	-	-	-	-
Histopathology (testis, epididymides, prostate gland and seminal vesicles)	-	ND	ND	-
Females				
Toxicokinetics:	ND	ND	ND	ND
No. Evaluated[a]	20	20	20	20

2.6.7.12.A　　雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA26533　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights [b] (%)				
Ovaries				
1st Mate	0.13868 (g)	-10.8	-11.6	-11.9
2nd Mate	0.14806 (g)	-10.9	-12.8*	-5.69
3rd Mate	0.13407 (g)	+5.68	+0.97	+8.22
Ovaries to Body Weight ratio [b] (%)				
1st Mate	0.04268	-0.37	-3.82	-4.19
2nd Mate	0.04744	-2.23	-8.07	+2.32
3rd Mate	0.04647	+3.96	+0.71	+5.75
Premating Body Weight (%)	-	-	-	-
Gestation Body Weight (%)	-	-	-	-
Terminal Body Weight [b] (%)				
1st Mate	324.6 (g)	-10.2**	-7.67**	-7.89**
2nd Mate	312.2 (g)	-8.10**	-4.90**	-7.69**
3rd Mate	287.6 (g)	+2.16	+0.52	+2.61
Premating Food Consumption (%)	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (%)	-	-	-	-

2.6.7.12.A　　雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA26533　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Mean No. Estrous Cycles/14 days	ND	ND	ND	ND
1st Mate				
Mean No. Days Prior to Mating	2.83	2.75	1.89	2.25
No. of Females Sperm Positive	19	20	20	20
No. of Pregnant Females	19	4	1	1
Fertility index (%)	100	20	5	5
2nd Mate				
Mean No. Days Prior to Mating	2.32	1.68	2.39	3.65
No. of Females Sperm Positive	20	19	20	20
No. of Pregnant Females	19	9	5	2
Fertility index (%)	95	47	25	10
3rd Mate				
Mean No. Days Prior to Mating	3.13	2.67	2.50	5.38
No. of Females Sperm Positive	9 (of 10)	10 (of 10)	10 (of 10)	9 (of 9)
No. of Pregnant Females	8 (of 9)	9 (of 10)	10 (of 10)	9 (of 9)
Fertility index (%)	89	90	100	100
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0

2.6.7.12.A 雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA26533 **Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Number of Dams				
1st Mate	19	4	1	1
2nd Mate	19	9	5	2
3rd Mate	8	9	10	9
Mean No. Corpora Lutea (per dam)				
1st Mate	16	6**	1	3
2nd Mate	16	7**	11	12
3rd Mate	14	15	16	15
Mean No. Implantations (per dam)				
1st Mate	15	2**	1	1
2nd Mate	15	1^^	1^^	3
3rd Mate	13	15	14	15
Mean % Preimplantation Loss (statistics based on preimplantation loss per group)				
1st Mate	6.4	63.6##	0.0	66.7#
2nd Mate	10.3	83.1##	91.1##	75.0##
3rd Mate	1.8	4.4	8.3	1.5
Mean No. Live Conceptuses	ND	ND	ND	ND
Mean No. Resorptions	ND	ND	ND	ND
No. Dead Conceptuses	ND	ND	ND	ND

2.6.7.12.A　　雌雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA26533　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Mean No. Viable Embryos (per dam)				
1st Mate	14	1**	0	0
2nd Mate	14	1^^	1^^	1^
3rd Mate	13	14	13	14
Mean % Postimplantation Loss (statistics based on postimplantation loss per group)				
1st Mate	6.5	75.0##	100	100
2nd Mate	5.4	0.0	20.0	83.3##
3rd Mate	1.9	3.1	6.3	5.3

Doses of 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; ND = not determined
- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ (ANOVA/Dunnett test); # = $p < 0.05$, ## = $p < 0.01$ (Chi^2/Fisher Exact test); ^ = $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$ (Kruskal-Wallis/Dunn test)

[a] The first and second mate females consisted of 20 rats/group. The third mate females consisted of 10 rats/group, except for the high dose group, which consisted of 9 rats (due to unpaired rats).

[b] Values for the control groups are the means and for the treated are the percent differences from the controls. Statistical significance is based on mean data (not on the percent differences).

2.6.7.12.B　　雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験

Report Title: AT-1001: Fertility Study by the Oral Route (Gavage) in the Male Rat (Segment I)　　**Test Article:** Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.1? Yes　　**Duration of Dosing:** M: 4 weeks before mating, throughout mating and up to the day before necropsy (at least 9 weeks)　　**Study No.** AA31159

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley　　**Day of Mating:** GD0　　**Location in CTD**: 4.2.3.5.1.2

Initial Age: 9 weeks　　**Day of C-Section:** GD13

Date of First Dose: [redacted]　　**Method of Administration:** Oral gavage, BID (~6 hours apart)　　**GLP Compliance:** Yes

Special Features: None　　**Vehicle/Formulation:** Water

No Observed Adverse Effect Level: <2.5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2.5**	**10**	**25**
Males				
Toxicokinetics:				
Day 50				
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	ND	736	2030	6663
C_{max1} (ng/mL)	ND	207	1397	1775
C_{max2} (ng/mL)	ND	167	477	1338
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-

2.6.7.12.B 雄ラット受胎能及び初期胚発生に関する（続き）

Study No. AA31159 **Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2.5**	**10**	**25**
Mean No. Days Prior to Mating	3.61	2.95	2.65	2.50
No. of Males that Mated	20	20	20	20
No. of Fertile Males	19	15	17	11
Fertility Index (%)	95	75	85	55
Litter Data				
No. Females Evaluated	20	20	20	20
No. of Pregnant Females	19	15	17	11
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	ND	ND	ND	ND
Mean No. Corpora Lutea (per dam)	17	16	18	9^^
Mean No. Implantations (per dam)	16	15	15	4**
Mean % Preimplantation Loss (statistics based on preimplantation loss per group)	8.8	5.7	15.0	54.5##
Mean No. Live Conceptuses	ND	ND	ND	ND
Mean No. Resorptions	ND	ND	ND	ND
No. Dead Conceptuses	ND	ND	ND	ND
Mean No. Viable Embryos (per dam)	15	15	14	4**
Mean % Postimplantation Loss (statistics based on postimplantation loss per group)	3.0	3.0	7.1	0.0

Doses of 2.5, 10 and 25 mg/kg/day were equivalent to 2.05, 8.2 and 20.5 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; ND = not determined, C_{max1} = Maximum plasma concentration following the first dose administration, C_{max2} = Maximum plasma concentration following the second dose administration
- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ (ANOVA/Dunnett test); ^ = $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$ (Kruskal-Wallis/Dunn test); # = $p < 0.05$, ## = $p < 0.01$ (Chi^2/Fisher Exact test)

2.6.7.12.C　　雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験

Report Title: AT-1001: Fertility Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Female Rat (Segment I)　　**Test Article:** Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.1? Yes　　**Duration of Dosing:** F: 2 weeks before mating, throughout mating, until day GD7　　**Study No.** AA93208

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley　　**Day of Mating:** GD0　　**Location in CTD**: 4.2.3.5.1.3

Initial Age: 8 weeks　　**Day of C-Section**: GD13

Date of First Dose: [redacted]　　**Method of Administration:** Oral gavage, BID (~6 hours apart)　　**GLP Compliance:** Yes

Special Features: None　　**Vehicle/Formulation:** Water

No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**100**	**1000**
Females				
Toxicokinetics	ND	ND	ND	ND
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight (%)	-	-	-	-
Gestation Body Weight (%)	-	-	-	-
Premating Food Consumption (%)	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (%)	-	-	-	-
Mean No. Estrous Cycles/14 days	ND	ND	ND	ND
Mean No. Days Prior to Mating	4.15	2.15	2.85	2.58

2.6.7.12.C　　雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Study No. AA93208　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**100**	**1000**
No. of Pregnant Females	20	20	20	20
Fertility index (%)	100	100	100	100
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	ND	ND	ND	ND
Mean No. Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean No. Implantation	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean No. Live Conceptuses	ND	ND	ND	ND
Mean No. Resorptions	ND	ND	ND	ND
No. Dead Conceptuses	ND	ND	ND	ND
Mean No. Viable Embryos	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-

Doses of 10, 100 and 1000 mg/kg/day were equivalent to 8.2, 82 and 820 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; ND = not determined
- = no noteworthy findings

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.A　ラット胚・胎児発生に関する試験

Report Title: AT-1001: Embryo Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat (Segment II)　**Test Article:** Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.3? Yes　**Duration of Dosing:** GD6 to GD17　**Study No.** AA26551

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley　**Day of Mating:** GD0 (time-mated females)　**Location in CTD**: 4.2.3.5.2.1

Initial Age: 10 to 13 weeks (approximate age at mating)　**Day of C-Section:** GD20

Date of First Dose: [redacted]　**Method of Administration:** Oral gavage, BID (~6 hours apart)

Special Features: None　**Vehicle/Formulation:** Water　**GLP Compliance:** Yes

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 1500 mg/kg/day, **F_1 Litters:** 1500 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Dams:				
Toxicokinetics	ND	ND	ND	ND
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Pregnant	25	22	25	23
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-

2.6.7.13.A　　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No. AA26551　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**500**	**1500**
Mean No. Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean No. Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Litters:				
No. Litters Evaluated	25	22	25	23
Total No. Live Foetuses	305	260	302	282
Mean No. Resorptions	-	-	-	-
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Foetal Body Weight (g)	-	-	-	-
Foetal Sex Ratios (M:F)	-	-	-	-
Foetal Anomalies:				
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-
Total Affected Foetuses (Litters)	-	-	-	-

Doses of 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; ND = not determined
- = no noteworthy findings

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Report Title: AT-1001: Embryo Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Rabbit (Segment II)

Test Article: Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of Dosing: GD6 to GD19

Study No. AA26552

Species/Strain: Rabbit, New Zealand White

Day of Mating: GD0 (time-mated females)

Location in CTD: 4.2.3.5.2.3

Initial Age: 17 to 19 weeks (approximate age of mating)

Day of C-Section: GD29

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage, BID (~6 hours apart)

Special Features: None

Vehicle/Formulation: Water

GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 120 mg/kg/day

F_1 Litters: 120 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**120**	**300**	**750**
Dams:				
Toxicokinetics:				
GD19				
Mean $AUC_{0\text{-}t}$ (SD)(ng·h/mL)	ND	334988 (122406)	1101185 (349566)	1962625 (NA)
Mean C_{max1} (SD) (ng/mL)	ND	39167 (4554)	75700 (15185)	116650 (NA)
Mean C_{max2} (SD) (ng/mL)	ND	31033 (9028)	78200 (18143)	123500 (NA)
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	20	20	19	12
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	1 (dosing error), 7 (after aborting)
No. Aborted	0	0	1	7 [a]

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No. AA26552　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**120**	**300**	**750**
Clinical Observations				
Reduced faecal output	0	1	2	10 [b]
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight [c] (%)	3653 (g)	+1.37	+0.60	-8.10*
Food Consumption [c] (%) (GD6 – GD20)	131 (g)	+0.76	-17.6*	-50.4**
Mean No. Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean No. Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	12.3	13.7	4.8[#]	11.2
Litters:				
No. Litters Evaluated	20	19[d]	19	12
No. Live Foetuses	186	173	176	70** (statistics based on mean no. per animal)
Mean No. Resorptions (early)	0.3	0.4	0.9	2.4[#]
No. of Litters with Dead Foetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	7.9	11.0	13.7	34.2
Mean Foetal Body Weight [c] (g)	34.5 (g)	+8.99	-3.19	-15.7*
Foetal Sex Ratios (M:F)	-	-	-	-
Foetal Anomalies:				
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies	-	-	-	-

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No. AA26552　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**120**	**300**	**750**
Skeletal Anomalies				
Incomplete Ossification of Paw (Foetal Incidence [%])				
Metacarpal, 2nd to 5th Digits	0.0	0.6	2.3	5.7
Phalanx, Forepaw	1.1	0.0	2.3	18.6
Tarsal Bone	1.6	0.6	5.1	8.6
Phalanx, Hindpaw	1.1	0.0	3.4	5.7
Incomplete Ossification of Sternum (Foetal Incidence [%])				
2nd /4th Sternebra	6.5	5.8	14.2	25.7
1st /3rd Sternebra	0.0	0.0	1.1	2.9
Incomplete Ossification of Pelvis (Foetal Incidence [%])				
Pubis	3.8	2.9	1.7	11.4
No Ossification of Paws (Foetal Incidence [%])				
Phalanx, 1st or 5th Digit, Forepaw	24.7	5.8	21.0	48.6
Phalanx, forepaw	1.1	0.0	2.8	11.4
Metacarpal, 1st Digit	19.9	6.9	21.0	28.6
Phalanx, Hindpaw	2.2	0.0	5.1	12.9
No Ossification of Pelvis (Foetal Incidence [%])				
Pubis	0.0	0.0	4.0	2.9

2.6.7.13.B　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Study No. AA26552　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**120**	**300**	**750**
Other Findings (Foetal Incidence [%])				
Cranium (Parietal, unossified area)	0.0	0.0	1.1	8.1
Sternum (Sternebrae, minor fusion)	0.0	1.7	0.6	4.3
Vertebrae (Lumbar, n=7)	0.0	0.0	2.8	10.0
Vertebrae (Caudal, malpositioned)	0.0	0.0	1.7	8.6
Facial (Nasal, Sutural Bone)	1.0	1.1	1.1	10.8
Total Affected Foetuses (Litters)	NR	NR	NR	NR

Doses of 120, 300 and 750 mg/kg/day were equivalent to 98, 246 and 615 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; NA = not applicable (SD not calculated when n<3); ND = not determined; NR = not reported; SD = standard deviation
C_{max1} = Maximum plasma concentration following the first dose administration, C_{max2} = Maximum plasma concentration following the second dose administration,
- = no noteworthy findings; * = p<0.05, ** = p<0.01 (Anova/Dunnett test); # = p<0.05 (Kruskal-Wallis/Dunn test)
[a] Aborted due to treatment-related anorexia (chronic reduction in food consumption and faecal output resulting in body weight loss).
[b] Treatment-related reduction in faecal output at least throughout most of the 14-day treatment period for 10/14 of the surviving animals.
[c] Values for the control groups are the means and for the treated are the percent differences from the controls. Statistical significance is based on mean data (not on the percent differences).
[d] There were 20 litters but one litter had no viable foetuses.

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

Report Title: AT-1001: Pre- and Post-Natal Development Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat

Test Article: Migalastat HCl

Design similar to ICH 4.1.2? Yes

Duration of Dosing: GD6 to PND20

Study No. AA94762

Day of Mating: GD0 (time-mated)

Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

Species/Strain: Rat, Sprague-Dawley

Method of Administration: Oral gavage, BID (~6 hours apart)

Initial Age: 10 to 13 weeks (age at mating)

Vehicle/Formulation: Water

Date of First Dose: Main study: [redacted]; **Satellites:** [redacted]

Litters Culled/Not Culled: Culled on PND4

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level

F_0 Females: 1000 mg/kg/day, **F_1 Males:** 1000 mg/kg/day, **F_1 Females:** 1000 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)			**0 (Control)**	**50**	**200**	**1000**
Toxicokinetics:						
Numbers examined			6	6	6	6
Plasma concentration						
F_0 Females	GD 6	1h / 4h after dosing (ng/mL)	0 / 0	2167 / 154	7040 / 1553	17933 / 5403
	GD 20:	1h / 4h after dosing (ng/mL)	0 / 0	4854 / 245	10310 / 1220	21133 / 12667
	LD 15:	1h / 4h after dosing (ng/mL)	52# / 0	1847 / 218	7163 / 1290	25533 / 4867
F_1 Litters:	GD 20:	1h / 4h after dosing (ng/mL)	0 / 0	274 / 208	888 / 383	2317 / 2290
Milk concentration						
F_0 Females	LD 15	1h / 4h after dosing (ng/mL)	0 / 0	2087 /1765	6300 / 3297	16133 / 11977

2.6.7.14　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（続き）

Study No. AA94762　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**200**	**1000**
F_0 Females:				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Pregnant	25	24	24	24
Fertility Index (%)	100.0	96.0	96.0	96.0
No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
No. Aborted or with Total Res. of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight [a] (%) (GD 20)	396.7 (g)	+0.28	-1.81	-0.63
Lactation Body Weight [a] (%) (PND 21)	329.4 (g)	+0.94	-1.88	+1.00
Gestation Food Consumption [a] (%) (GD 6 to 20)	28.8 (g)	+1.04	0.0	0.0
Lactation Food Consumption [a] (%) (PND 1-21)	61.1 (g)	+1.64	-3.27	+3.44
Mean Duration of Gestation (days)	22	21.8	21.9	21.9
Abnormal Parturition	-	-	-	-

2.6.7.14　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（続き）

Study No. AA94762　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**50**	**200**	**1000**
F_1 Litters: (Preweaning)	No. Litters Evaluated	24	24	24	24
	Mean No. of Implantations	13.8	13.8	14.2	14.1
	Mean No. Pups/Litter	11.8	12.3	12.5	12.5
	Mean No. Liveborn Pups/Litter (Day 21)	7.8	8.0	7.7	7.9
	No. of Litters with Stillborn Pups	7	4	1	1
	Postnatal Survival to Day 4	275	283	294	297
	Viability Index (%)	97.9	98.6	99.0	99.3
	Postnatal Survival to Weaning	180	183	185	189
	Viability Index (%)	98.9	100.0	100.0	100.0
	No. of Total Litter Losses	1	0	0	0
	Change in Pup Body Weights (g) (Day 4-21)	48.4	48.1	45.8	48.1
	Pup Sex Ratios (Male: Total Pups) (%) (Day 21)	51.1	50.3	48.6	47.6
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14　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（続き）

Study No. AA94762　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**50**	**200**	**1000**
F_1 Males: (Postweaning)	No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight Change (g) (Day 0 to 89)	460.4	463.5	457.1	449.7
	Food Consumption	ND	ND	ND	ND
	Preputial Separation	-	-	-	-
	Sensory Function	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.40	3.05	3.35	3.12
	No. of Males that Mated	25	25	25	25
	No. of Fertile Males	23	25	25	22
F_1 Females: (Postweaning)	No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Change (g) (Day 0 to 56)	217.8	210.6	215.5	207.7
	Gestation Body Weight Change (g) (Days 0 – 13)	60.2	60.5	58.9	57.9
	Premating Food Consumption	ND	ND	ND	ND

2.6.7.14　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（続き）

Study No. AA94762　　**Test Article:** Migalastat HCl

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**50**	**200**	**1000**
F_1 Females: (Postweaning) *(continued)*	Gestation Food Consumption	ND	ND	ND	ND
	Mean Age of Vaginal Patency (days)	ND	ND	ND	ND
	Sensory Function	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.40	3.05	3.35	3.12
	No. of Females Sperm-Positive	25	25	25	25
	No. of Pregnant Females	23	25	25	22
	Fertility Index (%)	92	100	100	88
	Mean No. Corpora Lutea (per dam)	18	17	17	18
	Mean No. Implantations (per dam)	16	15	16	17
	Mean % Preimplantation Loss	8.5	8.3	6.7	5.4

Doses of 50, 200 and 1000 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 820 mg/kg/day as free base, respectively.
BID = *bis-in-die* (twice daily); GD = gestation day; ND = not determined; PND = post-natal day, LD = lactation day
[#] A single female in the control group had measurable migalastat concentrations in plasma on Day 15 of lactation at 1 hour after dosing. The female had 156 ng/mL of migalastat, approximately 5 times the LLOQ (29.4 ng/mL). It should be noted, however, that this female had no measurable migalastat in the milk at the same time-point as opposed to all treated females that had measurable levels of migalastat in both the milk and plasma. It was therefore considered unlikely that there was any inadvertent systemic migalastat exposure to the female.
[a] Values for the control groups are the means and for the treated are the percent differences from the controls.

2.6.7.15　幼若動物を用いた試験

該当せず

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当せず

2.6.7.17　その他の毒性試験

Test Article: Migalastat HCl (and agalsidase beta)

Species/ Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number / Location in CTD**
Mouse, *Gla* (-/-) knockout	Migalastat HCl: oral gavage Agalsidase beta: IV	4 weeks Migalastat HCl: thrice weekly, Monday, Wednesday, Friday Agalsidase beta: once weekly on Mondays 30 minutes after migalastat HCl administration or 3 hours before (for 36.6 mg/kg migalastat HCl dose only).	Migalastat HCl: 0, 3.66, 36.6 Agalsidase beta: 0, 1	24 males	Administration of migalastat HCl with and without IV injection of agalsidase beta was well tolerated. Given the small group size, there appeared to be a greater incidence of mortality in groups receiving 36.6 mg/kg migalastat HCl (30 minutes before [n=2] or 3 hours after agalsidase beta IV injection [n=4]) and an effect of co-administration could not unequivocally be eliminated. However, mortality was observed shortly after IV dosing in all groups, including the lower dose [n=1] and vehicle control groups [n=1 for neither migalastat HCl nor agalsidase beta, n=2 for no migalastat HCl], and was likely due to stress and/or excessive restraint.	RR1001-11 /4.2.3.7.7.1
NA	*In vitro*	NA	0.000053 to 0.053 mol/L	NA	Migalastat HCl did not absorb light between wavelengths of 290 to 700 nm at the highest tested concentration of 0.05 mol/L in a 1 cm cell. The MEC was <<1000 L mol^{-1} cm^{-1} throughout this range of wavelengths.	RR1001-65 /4.2.3.7.7.2

Doses of 3.66 and 36.6 mg/kg were equivalent to 3 and 30 mg/kg as free base, respectively.
IV = intravenous; MEC = Molar Extinction Coefficient; NA = not applicable