2.6.6 毒性試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 2
略号一覧 4
1　まとめ 5
2　単回投与毒性試験 6
2.1　ウサギを用いた単回硝子体内投与毒性試験 6
2.2　カニクイザルを用いた単回硝子体内投与毒性試験 6
3　反復投与毒性試験 7
3.1　カニクイザルを用いた 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験 7
3.2　カニクイザルを用いた 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験 8
3.3　カニクイザルを用いた 3 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験 8
3.4　カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験 10
3.5　カニクイザルを用いた[redacted]社製造原薬使用製剤の 4 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験 11
4　遺伝毒性試験 12
5　がん原性試験 12
6　生殖発生毒性試験 12
6.1　カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験 12
7　局所刺激性試験 15
8　その他の毒性試験 15
8.1　新添加物の安全性評価 15
9　考察及び結論 17
10　参考文献 19

表 一 覧

Table 1-1　毒性試験一覧 5
Table 3-1　カニクイザルを用いた 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験における曝露量 7
Table 3-2　カニクイザルを用いた 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験に用いた各製剤中のエンドトキシン濃度 8
Table 3-3　カニクイザルを用いた 3 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験における雌雄合算の曝露量（血清及び硝子体） 9
Table 3-4　カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験における雌雄合算の曝露量 11

Table 3-5 カニクイザルを用いた[redacted]社製造原薬使用製剤の 4 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験における曝露量 12
Table 6-1 妊娠サルにおける曝露量 13
Table 6-2 乳汁中及び出生児の曝露量 13
Table 8-1 BRO 市販製剤に配合される添加物の国内一日最大投与量及び使用前例 15
Table 8-2 BRO の反復硝子体内投与毒性試験における溶媒投与群の添加物含有量及び試験成績 16
Table 8-3 BRO 市販製剤に配合される添加物の一日最大投与量における安全域 17

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
AUC	the area under the plasma (or serum or blood) concentration-time curve	血漿中（又は，血清中若しくは血液中）濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}168h}$	the area under the plasma (or serum or blood) concentration-time curve (AUC) from time zero to 168 hour after administration	薬物投与から投与後 168 時間までの血漿中（又は，血清中若しくは血液中）濃度－時間曲線下面積（AUC）
BLQ	below lower limit of quantitation	検出限界未満
BRO	brolucizumab	ブロルシズマブ
Cmax	the observed maximum plasma (or serum or blood) concentration following drug administration	薬物投与後の最高血漿中（又は，血清中若しくは血液中）濃度
ePPND	enhanced pre- and postnatal development,	拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level,	無毒性量
PlGF	placental growth factor	胎盤成長因子
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮細胞増殖因子

1 まとめ

ブロルシズマブ（以下 BRO，開発コード：ESBA1008，AL-86810，RTH258）は，分子量が約 26 kDa のヒト化一本鎖抗体フラグメント（single chain variable fragment, scFv）である。本薬は血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF）受容体の VEGF-A 結合部位に結合することで競合阻害作用を示す VEGF 阻害薬であり，滲出型加齢黄斑変性の治療薬として開発した。

BRO の非臨床安全性評価を目的として，最高用量 6 mg/眼で単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験を実施した。毒性試験の一覧を Table 1-1 に示す。BRO の非臨床安全性評価試験は，医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH）S6(R1)ガイドライン（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価）に従って実施した。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（Good Laboratory Practice, GLP）を遵守して実施した。

Table 1-1 毒性試験一覧

試験の種類	投与経路	動物種・試験系	GLP 適合
単回投与毒性試験			
ウサギ単回投与毒性試験	硝子体内	ウサギ	非適合
カニクイザル単回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	非適合
反復投与毒性試験			
カニクイザル 5 週間隔 2 回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	非適合
カニクイザル 6 週間隔 2 回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	非適合
カニクイザル 3 週間隔 3 回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	適合
カニクイザル 4 週間隔 6 回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	適合
カニクイザル 4 週間隔 3 回投与毒性試験	硝子体内	カニクイザル	適合
生殖発生毒性試験			
カニクイザル拡充型出生前及び出生後の発生試験	硝子体内	カニクイザル	適合

主要な試験では，BRO が薬理作用を示し（2.6.2 項），眼の解剖がヒトに近似しており（硝子体と水晶体の容積比が近似する，錐体が豊富な黄斑を有する，等）適切な硝子体内投与が可能であるカニクイザルを使用した。3 ヵ月（3 週間隔 3 回投与）及び 6 ヵ月（4 週間隔 6 回投与）硝子体内反復投与毒性試験は，[redacted]社で製造された原薬を用いて実施したが，第 III 相臨床試験では[redacted]社で製造された原薬を使用することとなったため，[redacted]製造品と[redacted]製造品を比較する目的で，カニクイザルを用いた 3 ヵ月（4 週間隔 3 回投与）硝子体内投与毒性試験（GLP 適合）を実施した。いずれの試験においても，眼毒性及び全身毒性変化は認められなかった。また，[redacted]製造品で実施したカニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生毒性試

験（GLP 適合）において，胚胎児発生に影響は認められず，乳汁中及び出生児に BRO の曝露は認められなかった。

2 単回投与毒性試験

2.1 ウサギを用いた単回硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.5-0017265]は，ウサギに[redacted]製造品の BRO を単回硝子体内投与したときの眼毒性を検討することを目的として，GLP 非適合で実施した。溶媒（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）に溶解した BRO を，ウサギ（ニュージーランドホワイト，雄 2 例及び雌 3 例）の右眼に 6 mg/眼用量（容量：50 µL）で単回硝子体内投与した。試験 3 日に眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査及び倒像検眼鏡検査）を実施した。

本試験において眼科学的検査における毒性変化は認められず，6 mg/眼の単回硝子体内投与では良好な忍容性が認められた。

2.2 カニクイザルを用いた単回硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.5-0011909]は，カニクイザルにエンドトキシンを増量した BRO 製剤を単回硝子体内投与したときの眼毒性及び全身毒性を検討することを目的として，GLP 非適合で実施した。溶媒（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）に溶解した BRO をカニクイザル（各群 2 例：雄 0～1 例及び雌 1～2 例）の右眼に 0，0.5，1，2 及び 3 mg/眼の用量（容量：50 µL，エンドトキシン用量はそれぞれ，0.021，0.042，0.084 及び 0.126 EU）で単回硝子体内投与し，一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，眼圧測定及び網膜電図測定），血液学的検査，病理検査（剖検及び病理組織学的検査）を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重，眼圧，網膜電図，血液学的検査値に変化はみられず，剖検及び眼の病理組織学的検査変化もみられなかった。細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査では，用量依存的な眼の炎症性変化（房水フレア，前房へのフィブリン漏出及び前部硝子体における白血球浸潤）がすべての用量で投与後 24 時間をピークに認められたが，徐々に減少し，試験 46 日には回復した。

以上の結果から，すべての用量に認められた眼の炎症性変化は，可逆的で病理組織学的変化を伴わないものであった。

3 反復投与毒性試験

3.1 カニクイザルを用いた 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.6-0011462]は，カニクイザルに初期検討用バッチ製剤の BRO を 5 週間隔で 2 回硝子体内投与したときの眼毒性及び全身毒性を検討することを目的として，GLP 非適合で実施した。溶媒（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）に溶解した BRO をカニクイザル（各群 2 例：1～5 群は雌，及び 6 及び 7 群は雄）の右眼に 0（1 群，容量：50 µL），0.5（2 群，容量：50 µL），1（3 群，容量：50 µL），2（4 群，容量：50 µL），3（5 群，容量：50 µL），0（6 群，容量：100 µL）及び 6 mg/眼（7 群，容量：100 µL）の用量で硝子体内投与し，2 回目の投与後 6 週まで観察した。一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，角膜厚測定，眼圧測定及び網膜電図測定），臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検及び組織学的検査）及びトキシコキネティクス（Toxicokinetics, TK）試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重，細隙灯顕微鏡，倒像検眼鏡，角膜厚，眼圧及び臨床検査値においても被験物質投与に関連した変化はみられなかった。一方，3 mg/眼以上の各群で網膜電図異常が，すべての投薬群で網膜変性が認められた。網膜変性の重篤度は用量依存的であり，高用量では網膜機能の低下が網膜電図測定結果から示唆された。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-1）。

以上，すべての投薬群で網膜変性が認められたことから，本試験の無毒性量（No Observed Adverse Effect Level, NOAEL）を規定することはできなかった。

Table 3-1 カニクイザルを用いた 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）		$AUC_{0\text{-}168h}$（ng/mL*h）	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	0.5	-	58.9	-	2330
	1	-	114	-	4130
	2	-	198	-	13000
	3	-	349	-	16700
	6	583	-	24300	-
試験 36 日	0.5	-	35.0	-	1960
	1	-	135	-	4240
	2	-	212	-	10100
	3	-	283	-	13800
	6	537	-	32200	-

Source: [Table2.6.7.6-0011462]

3.2 カニクイザルを用いた 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.6-0012900]は，カニクイザルに初期検討用バッチ及び医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理規則（Good Manufacturing Practice, GMP）適合バッチの BRO を 6 週間隔で 2 回硝子体内投与し，初期検討用バッチを投与した前試験[Table2.6.7.6-0011462]で認められた網膜変性発症の有無を検討することを目的として，GLP 非適合で実施した。溶媒（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）に溶解した BRO をカニクイザル（各群 3 例：雄 1～2 例及び雌 1～2 例）の右眼に 0（溶媒），0（セルロースアセテートメンブレンフィルター抽出物），0（BRO モック，タンパク質非含有），0（初期検討用バッチ限外濾過抽出物），3（初期検討用バッチ），0（GMP 適合バッチ限外濾過抽出物）及び 3 mg/眼（GMP 適合バッチ）の用量（容量：50 µL）で硝子体内投与し，2 回目の投与後 6 週まで観察した。一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，眼圧測定及び網膜電図測定）及び病理検査（剖検及び眼の組織学的検査）を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重及び眼圧測定値においても被験物質投与に関連した変化はみられなかった。一方，BRO モックの 0 mg/眼投与群及び初期検討用バッチの 3 mg/眼投与群では眼の炎症性変化（前房中細胞漏出及び硝子体混濁）が，さらに初期検討用バッチの 3 mg/眼投与群では網膜電図異常，及び病理組織学的検査では網膜変性及び硝子体中の色素細胞浸潤が認められた。エンドトキシン含量を<0.05 EU/mL とした GMP 適合バッチ投与群では異常が認められなかったため，初期検討用バッチ投与群で観察された眼異常は初期検討用バッチの製造工程に由来するエンドトキシンに起因するものと考えられた。（Table 3-2）。

Table 3-2 カニクイザルを用いた 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験に用いた各製剤中のエンドトキシン濃度

製剤	BRO 濃度（mg/mL）	BRO 用量（mg/眼）	エンドトキシン濃度 (EU/mL)
溶媒	0	0	<0.05
セルロースアセテートメンブレンフィルター抽出物	0	0	<0.01
BRO モック	0	0	0.11
初期検討用バッチ限外濾過抽出物	0	0	<0.015
初期検討用バッチ	60	3	0.316
GMP 適合バッチ限外濾過抽出物	0	0	<0.05
GMP 適合バッチ	60	3	<0.05

Source: [Table2.6.7.6-0012900]

3.3 カニクイザルを用いた 3 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.7A-0012707]は，カニクイザルに BRO を 3 週間隔で 3 回硝子体内投与したときの眼毒性及び全身毒性を検討することを目的として，GLP 適合で実施した。溶媒（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）に溶解し

た BRO をカニクイザル（各群雌雄各 3 例）の右眼に 0（容量：100 µL），0.5（容量：50 µL），1（容量：50 µL），3（容量：50 µL）及び 6 mg/眼（容量：100 µL）の用量で，3 回（試験 1，22 及び 43 日）反復硝子体内投与し，3 回目の投与後 3 週まで観察した。一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，眼圧測定及び網膜電図測定），臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び眼の病理組織学的検査），TK 試験（血清及び硝子体中濃度）及び抗薬物抗体測定（血清及び硝子体中濃度）を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態（呼吸及び行動を含む），体重，眼圧測定，網膜電図及び臨床検査値においても被験物質投与に関連した変化はみられなかった。一方，眼科学的検査において眼の炎症性変化（房水フレア，前房への細胞漏出，硝子体混濁及び硝子体における細胞浸潤）が各群で投与後約 48～72 時間に低頻度で認められ，病理組織学的検査においても毛様体，脈絡膜及び強膜に外傷性と考えられる所見が認められた。しかし，これらの変化は対照群にも認められたことから，これらは本薬に起因するものではなく，硝子体内投与手技に関連した変化であると判断した。以上，細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査及び病理検査においても本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-3）。BRO の蓄積は認められなかった。

低用量群の 2 例を除いて，硝子体中の抗薬物抗体反応は陰性であったが，陽性を示した 2 例は血清中においても抗薬物抗体反応を示し，うち 1 例では 3 回目の投与後に血清中 BRO が速やかに消失し抗薬物抗体との関連性が示された。もう 1 例の陽性例では，血清中 BRO 曝露に対する関連性は明らかではなかった。BRO の全身曝露量は極めて低いため，全身において抗薬物抗体反応が生じる可能性は低いと考えられる。

以上，6 mg/眼群においても眼及び全身に対する毒性変化は認められなかったことから，本試験における NOAEL は 6 mg/眼と判断された。

Table 3-3　カニクイザルを用いた 3 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験における雌雄合算の曝露量（血清及び硝子体）

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}168h}$（ng/mL*h）	硝子体中濃度（ng/mL）
試験 1 日	0.5	28.3	1530	-
	1	125	7830	-
	3	107	7010	-
	6	312	20700	-
試験 22 日	0.5	23.3	1760	-
	1	95.5	6590	-
	3	150	12600	-
	6	295	22600	-
試験 43 日	0.5	40.5	1340	-
	1	75.8	5160	-
	3	177	13900	-

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}168h}$（ng/mL*h）	硝子体中濃度（ng/mL）
	6	286	21300	-
試験	0	-	-	BLQ [b)]
64/65 日 [a)]	0.5	-	-	99.6
	1	-	-	394
	3	-	-	682
	6	-	-	3160

Source: [Table2.6.7.7A-0012707]

a) 雄は試験 64 日，雌は試験 65 日に硝子体試料を採取

b) Below lower limit of quantitation（検出限界未満：20 ng/mL）

3.4 カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.7B-0016684]は，カニクイザルに BRO を 4 週間隔で 6 回硝子体内投与したときの長期の眼毒性及び全身毒性，及び製剤改良の影響を検討することを目的として，GLP 適合で実施した。旧製剤（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）及び新製剤（0.428%クエン酸ナトリウム水和物，5.8%精製白糖， 0.05%ポリソルベート 80，注射用水）を使用し，カニクイザル（各群雌雄各 3 例）の右眼に 0（旧製剤溶媒；100 µL），0（新製剤溶媒；50 µL），1（新製剤溶媒；50 µL），3（新製剤溶媒；50 µL），6（新製剤溶媒；50 µL）及び 6 mg/眼（旧製剤溶媒；100 µL）の用量で，試験 1，29，57，85，113 及び 141 日の 6 回反復硝子体内投与し，最終投与後 4 週まで観察した。一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，眼圧測定及び網膜電図測定），心電図検査，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査），TK 試験及び抗薬物抗体測定を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重，眼科学的検査，心電図，臨床検査，剖検及び器官重量値においても被験物質投与に関連した変化はみられなかった。病理組織学的検査では，強膜におけるリンパ球浸潤，硝子体内における細胞の出現及び角膜血管新生がみられたが，硝子体内投与手技に関連した変化であると考えられた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-4）。反復投与によって BRO の蓄積がみられたが，いずれの投与群においても眼及び全身に対する毒性変化は認められなかった。

試験 1 日の投与前においても使用動物の 6/36 例に抗薬物抗体が検出され，6 回投与後には 17/36 例に増加した。また，抗体価には個体差がみられるものの，時間の経過とともに抗薬物抗体反応の例数が増加し抗体価も上昇した。しかしながら，抗薬物抗体の抗体価における用量反応性，及び抗薬物抗体の抗体価と BRO の全身曝露あるいは毒性変化に相関は認められなかった。

以上，いずれの投与群においても眼及び全身に対する毒性変化が認められなかったことから，製剤または用量／容量にかかわらず忍容性は良好で，本試験における NOAEL は 6 mg/眼と判断された。

Table 3-4 カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験における雌雄合算の曝露量

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}168h}$（ng/mL*h）
試験 1 日	1（新製剤溶媒；50 µL）	58.5	2220
	3（新製剤溶媒；50 µL）	162	10100
	6（新製剤溶媒；50 µL）	342	15500
	6（旧製剤溶媒；100 µL）	313	13400
試験 141 日	1（新製剤溶媒；50 µL）	172	9770
	3（新製剤溶媒；50 µL）	273	16000
	6（新製剤溶媒；50 µL）	577	30300
	6（旧製剤溶媒；100 µL）	352	15400

Source: [Table2.6.7.7B-0016684]

3.5 カニクイザルを用いた[redacted]社製造原薬使用製剤の 4 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験

本試験[Table2.6.7.7C-0017689]は，カニクイザルに BRO を 4 週間隔で 3 回硝子体内投与したときの眼毒性及び全身毒性，及び原薬製造施設変更の影響を検討することを目的として，GLP 適合で実施した。臨床試験用製剤及び予定最終製剤に用いる原薬の製造施設が[redacted]社から[redacted]社に変更されたことに伴い，本試験では[redacted]社製造原薬を使用した。溶媒（0.428%クエン酸ナトリウム水和物，5.8%精製白糖， 0.05%ポリソルベート 80，注射用水）に溶解した BRO をカニクイザル（各群雌雄各 3 例）の右眼に 0 及び 6 mg/眼の用量（容量：50 µL）で，試験 1，29 及び 56 日の 3 回反復硝子体内投与し，3 回目の投与後 4 週までの観察期間に一般状態観察，体重測定，眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査，倒像検眼鏡検査，眼圧測定及び網膜電図測定），心電図検査，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検及び器官重量測定），TK 試験及び抗薬物抗体測定を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態観察，体重測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床検査及び病理検査においても被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

TK 試験の結果，投薬群の動物で本薬の曝露が確認された（Table 3-5）。本試験では反復投与による BRO 蓄積はみられなかった。

試験 1 日の投与前においても，1 例に抗薬物抗体が検出された。投与後，溶媒投与群及び BRO 投与群の各 1 例に抗薬物抗体反応がみられたが，投与前に陽性であった BRO 投与群の 1 例は陰性であった。試験終了時においては，溶媒投与群及び BRO 投与群の各 1 例で抗薬物抗体反応が陽性であった。抗薬物抗体の抗体価と BRO の全身曝露あるいは毒性変化に相関は認められなかった。

以上，[redacted]社製造原薬においても忍容性は良好で，いずれの投与群においても眼及び全身に対する毒性変化が認められなかったことから，本試験における NOAEL は 6 mg/眼と判断された。

Table 3-5 カニクイザルを用いた[redacted]社製造原薬使用製剤の 4 週間隔 3 回反復硝子体内投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）		$AUC_{0\text{-}168h}$（ng/mL*h）	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	6	406	308	14400	20000
試験 56 日	6	250	406	15500	20600

Source: [Table2.6.7.7C-0017689]

4 遺伝毒性試験

天然に存在するアミノ酸で構成される BRO は，DNA 組換え技術を利用して製造されるが合成後化学修飾を受けない。ICH S6(R1)ガイドラインでは，従来の医薬品について実施されている遺伝毒性試験はバイオ医薬品に対しては適切なものでなく必要とされないこと，また大量のペプチドやタンパク質を投与した場合には解釈不可能な結果が起こる可能性があることが記述されている。さらに，このような成分が DNA や他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいと述べられていることから，BRO の遺伝毒性試験は実施しなかった。

5 がん原性試験

ICH S6(R1)ガイドラインには，バイオ医薬品においては，標準的ながん原性試験は一般的に不適当である旨が記述されている。げっ歯類を用いた *in vivo* がん原性試験の実施は適切ではなく，また，*in vitro* がん原性試験についても，BRO を評価できる適切な方法が確立されていないことから信頼性がある結果が得られる可能性は低いと考えられた。VEGF 阻害薬の硝子体内投与は，がん原性リスクがない治療法として確立されており，非臨床試験においても BRO のがん原性を疑わせる所見は認められていない。以上の理由から，BRO のがん原性試験は実施しなかった。

6 生殖発生毒性試験

ICH S6(R1)ガイドラインでは，生殖発生毒性試験実施の必要性について，臨床での適応及び予想される対象疾患患者群により判断すべきことが記述されており，本申請の対象疾患である滲出性加齢黄斑変性患者は一般的に高齢で，臨床での適応は硝子体内投与である。BRO の生殖発生毒性試験として，硝子体内投与による拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（ePPND）を実施した。

6.1 カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験

本試験[Table2.6.7.14-1670189]は，妊娠カニクイザルに BRO を妊娠 20 日から分娩まで 4 週間隔で硝子体内投与したときの妊娠及び分娩，胚胎児発生，出生児の出生，成長，及び出生後発達への影響を検討することを目的として，GLP 適合で実施した。妊娠カニクイザル（各群雌 16 例，約 4～6 歳齢）に BRO を 0（溶媒対照），3 及び 6 mg/眼（それぞれ 60 及び 120 mg/mL，投与容

量：50 µL）の用量で妊娠 20 日から分娩まで，4 週に 1 回（妊娠 20，48，76，104，132 及び 160 日）右眼に硝子体内投与した。また，生存児を有する各群 4 例の母動物について分娩後 28 日に追加投与を実施し，トキシコキネティクス（TK）評価のための血液及び乳汁を採取した。出生児は分娩後 12 週間観察した。

母動物について，一般状態観察，超音波検査（妊娠モニタリング），体重測定，分娩観察，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，サル絨毛性ゴナドトロピン測定，剖検，TK（血清及び乳汁）及び抗薬物抗体（ADA）測定を実施した。また，出生児について，一般状態観察，体重測定，外表検査，形態計測，神経行動学的検査，握力測定，骨格検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，TK（血清）及び ADA 測定を実施した。

いずれの検査においても，BRO 投与に起因した変化は認められなかった。

母動物における BRO の曝露は用量の増加に伴い増加し，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は用量比と同程度の増加を示した（妊娠 48 及び 132 日，並びに分娩後 28 日）。反復投与後の曝露は，2 回目の投与後（妊娠 48 日）と概ね同じであった（Table 6-1）。母動物の乳汁及び出生児の血清中に BRO の曝露は認められなかった（Table 6-2）。

Table 6-1　妊娠サルにおける曝露量

測定時期	用量（mg/眼）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（ng/mL*h）
妊娠 48 日	3	224	3420
妊娠 132 日		253	4310
分娩後 28 日		248	4820
妊娠 48 日	6	389	6090
妊娠 132 日		301	5120
分娩後 28 日		483	8100

Table 6-2　乳汁中及び出生児の曝露量

測定時期	用量（mg/眼）	乳汁（ng/mL）	出生児（ng/mL）
分娩後 28 日	0	BLQ [a)]	BLQ [a)]
	3	BLQ [a)]	BLQ [a)]
	6	BLQ [a)]	BLQ [a)]

a) Below lower limit of quantitation（検出限界未満，血清：< 5.00 ng/mL，乳汁：< 10.0 ng/mL）

母動物の本剤に対する免疫原性は，対照群で 8/16 例，3 mg/眼群で 14/16 例，6 mg/眼群で 9/16 例で陽性であった。出生児の対照群で ADA 陽性反応は認められなかったが，3 mg/眼群で 5/12 例，6 mg/眼群で 1/7 例に認められた。しかしながら母動物において ADA 陽性反応に一致した本剤曝露の低下は認められず，また，前述のように，出生児においては被験物質の曝露は認められなかった。

以上より，カニクイザルに本剤を 4 週に 1 回の頻度で妊娠 20 日から分娩まで，あるいは分娩までと分娩後 28 日に反復硝子体内投与した結果，妊娠及び分娩，胚胎児発生，出生児の出生，成長，出生後発達に影響は認められなかった。本試験における NOAEL は母動物及び出生児に対して 6 mg/眼と判断された。

カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験（3.4 項）では，雄性生殖器の病理組織学的検査（精巣，精巣上体及び精嚢）において BRO 投与の影響は認められなかった。精巣毒性は，病理組織学的検査によって鋭敏に検出することが可能であることから（Creasy 1997），BRO 投与による雄性受胎能に対するリスクは極めて低いと考えられることから，雄性授胎能試験は実施しなかった。

一方，卵巣及び黄体の発達には血管新生が関わっていることから，VEGF の阻害が雌性受胎能に影響を与えることが既知である。BRO と同様に VEGF 阻害作用を示すアフリベルセプトでは静脈内投与によるカニクイザルの雌性受胎能試験において，性ホルモンレベルの変化を伴う無月経または月経不順及び卵巣の変化がみられている（バイエル薬品株式会社 2012）。また，ベバシズマブでは静脈内投与によるカニクイザルの 13 又は 26 週間反復投与毒性試験において，黄体減少・欠失，卵巣・子宮重量の減少，子宮内膜増殖抑制及び卵胞成熟阻害が，静脈内投与によるウサギの探索毒性試験では性ホルモンに対する影響が報告されている（中外製薬株式会社 2007）。これらのことから，BRO においても雌性受胎能に対する影響が示唆される。しかし，カニクイザルを用いた 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与毒性試験（3.4 項）では，4.5～5.5 歳の性成熟した雌動物を使用し，雌性生殖器の病理組織学的検査（卵巣，卵管，子宮，子宮頚部及び膣），卵巣重量の測定及び性ホルモンに関与する内分泌系組織（視床下部及び下垂体）の病理組織学的検査を実施したが，BRO 投与による影響は認められなかった。カニクイザルの月経周期が 29.4 日であることから（吉田, 2006），本試験では月経周期ごとにおよそ各 1 回投与されたことになるが，雌性生殖器及び内分泌系組織に病理組織学的異常が認められなかったことから，性ホルモンレベル及び月経周期に BRO 投与による影響があった可能性は低い。以上のとおり，硝子体内投与時の全身曝露量は極めて低いことから，BRO の用法・用量に従った臨床使用におけるリスクは極めて低いと考えられた。このため，雌性受胎能試験を実施しても新たに得られる情報は限定的であることから，動物福祉（3Rs）の観点からも実施は不適切と考え，BRO の雌性受胎能試験は実施しなかった。

VEGF は発生段階の胚胎児組織に発現することから（Fong et al. 1995, Shalaby et al. 1995, Gerber et al. 1999），VEGF の阻害が胚胎児発生に影響を与えることは既知であり，BRO と同様に VEGF 阻害作用を示すアフリベルセプトではウサギを用いた静脈内投与の胚胎児毒性試験で胚胎児毒性が認められている。一方，ラニビズマブではカニクイザルを用いた硝子体内投与の胚胎児毒性試験で母体毒性，胎盤に対する影響及び胚胎児毒性のいずれも認められていない。アフリベルセプトでは VEGF-A アイソフォームに加えて VEGF-B 及び胎盤成長因子（placental growth factor,

PlGF）-1 及び-2 にも結合することが，胚胎児毒性に影響を与えた可能性も考えられるが，ラニビズマブで胚胎児毒性所見が認められなかったのは，硝子体内投与後の全身曝露量が低く，胎盤・胎児への到達量が少なかったことによるものと考えられる。

7 局所刺激性試験

眼刺激性は，硝子体内投与反復投与毒性試験（3 項）において眼毒性の一部として評価した結果，眼局所に BRO 投与の影響は認められず，眼刺激性は認められなかった。

8 その他の毒性試験

ヒト T 細胞増殖分析による免疫原性評価試験については薬理試験の概要文[2.6.2-2.2]に記述する。また，BRO の結合親和性（動物種選択性及びアイソフォーム特異性を含む）及び薬理活性についても薬理試験の概要文[2.6.2]に記述する。

8.1 新添加物の安全性評価

BRO 市販製剤に配合される添加物のうち，クエン酸ナトリウム水和物及びポリソルベート 80 は医薬品添加剤としての硝子体内投与による使用前例がなく，精製白糖の一日最大使用量は硝子体内投与による使用前例を超える（Table 8-1）。したがって，これらの添加物を硝子体内投与したときの安全性について以下のとおり評価した。

Table 8-1 BRO 市販製剤に配合される添加物の国内一日最大投与量及び使用前例

	投与経路	本製品使用時の一日最大使用量	使用前例
クエン酸ナトリウム水和物	硝子体内投与	0.13 mg (0.0022 mg/kg)[a]	NA
	静脈内投与	-	1764 mg[b]
ポリソルベート 80	硝子体内投与	0.01 mg (0.0002 mg/kg)[a]	NA
	静脈内投与	-	500 mg[b]
精製白糖	硝子体内投与	2.9 mg (0.048 mg/kg)[a]	2.5 mg[c]
	静脈内投与	-	39.84 g[b]

NA = not applicable a = 体重 60 kg のヒトにおける投与量 b = 医薬品添加物事典 2016（2016） c = アイリーア硝子体内注射液 40 mg/mL 申請資料概要（バイエル薬品株式会社 2012）

全身毒性及び遺伝毒性については，クエン酸ナトリウム水和物，ポリソルベート 80 及び精製白糖のいずれも静脈内投与の使用前例が本薬硝子体内投与時の一日最大使用量をそれぞれ約 14000 倍，50000 倍あるいは 14000 倍上回っていることから，安全性が確認されているものと判断した。

硝子体内投与による局所の安全性については，BRO 製剤を用いた単回硝子体内投与毒性試験及び反復硝子体内投与毒性試験の溶媒投与群（対照群）の成績から評価した（Table 8-2）。なお，BRO の単回硝子体内投与毒性試験及び反復硝子体内投与毒性試験では，異なる濃度の添加物を含有した 2 種類の製剤が使用され，いずれも市販製剤とは異なるものである。

Table 8-2 BRO の反復硝子体内投与毒性試験における溶媒投与群の添加物含有量及び試験成績

試験	添加物局所投与量 [1]	試験成績	報告書番号
カニクイザル 単回硝子体内投与	ロット番号 [2]：ESBA1008-0949TR2 50 µL を片眼投与 ①0.295 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0011909
カニクイザル 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与	ロット番号 [2]：100208MK001 50 µL を片眼投与 ①0.295 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0011462
カニクイザル 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与	ロット番号 [2]：100208MK001 50 µL を片眼投与 ①0.295 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0012900
カニクイザル 3 週間隔 3 回反復硝子体内投与	ロット番号 [2]：ESBA1008-101601-2 100 µL を片眼投与 ①0.59 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0012707
カニクイザル 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与	ロット番号 [2]：12-67014-1 100 µL を片眼投与 ①0.59 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0016684
カニクイザル 4 週間隔 6 回反復硝子体内投与	ロット番号 [3]：12-66760-1 50 µL を片眼投与 ①0.21 mg/眼，②0.025 mg/眼，③2.9 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0016684
カニクイザル 4 週間隔 3 回反復硝子体内投与	ロット番号 [3]：14-68740-1 50 µL を片眼投与 ①0.21 mg/眼，②0.025 mg/眼，③2.9 mg/眼	全身毒性所見：なし 眼局所毒性所見：なし	0017689

1: ①クエン酸ナトリウム水和物，②ポリソルベート 80，③精製白糖

2: 旧製剤を使用（0.59%クエン酸ナトリウム水和物，0.73%塩化ナトリウム，0.001%ポリソルベート 20，注射用水）

3: 新製剤を使用（0.428%クエン酸ナトリウム水和物，5.8%精製白糖， 0.05%ポリソルベート 80，注射用水）

旧製剤及び新製剤を使用した単回あるいは反復投与毒性試験の溶媒投与群では，眼の炎症性変化が認められた試験もあったが，軽微かつ一時的な変化であり，硝子体内投与手技に起因するもので溶媒投与の影響による変化はなかった。これらの他に少数例に白内障や瞳孔膜遺残が観察された試験もあったが，投与前から観察されていることから自然発生性病変と考えられる。上記の他に特記すべき眼の変化は認められなかった。

カニクイザルの硝子体容量はヒトの約 1/2 であることから（Girach and Pakola 2012, Struble et al. 2014），市販製剤と同等以上の濃度のクエン酸ナトリウム水和物，ポリソルベート 80 及び精製白糖を含有した製剤を用いた毒性試験の成績に基づき，眼局所毒性に対してこれらの添加物には 2～9 倍を超える安全域があると考えられた（Table 8-3）。

Table 8-3 BRO 市販製剤に配合される添加物の一日最大投与量における安全域

添加物	本製品使用時のヒト一日最大使用量	カニクイザル毒性試験の最大局所投与量	安全域 [1]
クエン酸ナトリウム水和物	0.13 mg	0.59 mg	>9.08
ポリソルベート 80	0.01 mg	0.025 mg	>5
精製白糖	2.9 mg	2.9 mg	>2

1: カニクイザルの硝子体容量はヒトの約 1/2（Girach and Pakola 2012, Struble et al. 2014）

以上，それぞれの添加物の使用前例に加え，BRO 製剤を用いた硝子体内投与毒性試験における溶媒投与群の成績においても新たな毒性変化は認められず，BRO の用法・用量に従った一日最大使用量をヒト硝子体内へ投与した場合の安全性は確認されたものと判断した。

9 考察及び結論

BRO の非臨床試験は，現行の規制ガイドライン（ICH S6(R1)及び M3(R2)）に従って実施された。本概要文に示す主要な非臨床安全性試験は，臨床試験用製剤を用いて，ヒトの予定臨床投与経路である硝子体内投与で GLP を遵守して実施された。すべての反復投与毒性試験では，BRO に対して薬理作用を示し（2.6.2 項），眼の解剖がヒトに近似しており（硝子体と水晶体の容積比が近似する，錐体が豊富な黄斑を有する，等），適切な硝子体内投与が可能であるカニクイザルを使用した。これらの試験では，臨床適応を想定した間隔で片眼（反対眼は無処置対照）に投与可能な最大量である 6 mg/眼までの用量を投与した。その結果，眼毒性及び全身毒性のいずれの兆候も認められなかった。0.5～6 mg/眼の BRO をカニクイザルに硝子体内投与した結果，遊離 BRO の AUC は，用量比をやや上回って増加した。カニクイザルに 6 mg/眼の用量で BRO を反復投与した結果，血清中 BRO 蓄積が認められたが，蓄積に関連する眼毒性及び全身毒性はみられなかった。

一部の動物では投与前から抗薬物抗体の陽性反応が認められたが，一部の試験では抗薬物抗体陽性の動物数と抗体価は試験の経過とともに増加した。BRO の投与と抗薬物抗体産生の間に相関は認められず，抗薬物抗体反応は BRO の曝露あるいは眼毒性及び全身毒性のいずれにも影響を与えなかった。

初期検討用バッチを使用したカニクイザルの 5 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験（3.1 項）において，0.5 mg/眼以上のすべての投薬群で網膜変性が認められた。しかし，初期検討用バッチと GMP 適合バッチを比較するカニクイザルの 6 週間隔 2 回反復硝子体内投与毒性試験（3.2 項）では，初期検討用バッチ投与群で眼の炎症性変化，網膜電図異常及び網膜変性が認められた一方，エンドトキシン含量を<0.05 EU/mL とした GMP 適合バッチ投与群では異常が認められなかったため，初期検討用バッチ投与群で認められた眼の異常は初期検討用バッチの製造工程に由来するエンドトキシンに起因するものと考えられた。

最高用量 6 mg/眼の BRO 硝子体内投与における全身曝露は極めて低く，3～4 週間隔の反復硝子体内投与によっても全身毒性が認められておらず，また VEGF 阻害薬の全身作用はよく知られていることから，一般的な静脈内投与毒性試験の必要性は乏しいと考えられた。

VEGF 阻害は胚胎児発生に影響を与えることが知られていることから，BRO の生殖発生毒性試験として，カニクイザルを用いた ePPND 試験を実施した。母動物及び出生児のいずれにおいても，最高用量 6 mg/眼までの BRO 投与による影響は認められなかった。また，乳汁中及び出生児における曝露は認められなかった。カニクイザルを用いた反復硝子体内投与毒性試験において，雄性生殖器の病理組織学的検査（精巣，精巣上体及び精嚢）に BRO 投与の影響が認められなかったことから，雄性受胎能に対するリスクは極めて低いと考えられた。また，雌性生殖器の病理組織学的検査（卵巣，卵管，子宮，子宮頚部及び膣），卵巣重量の測定及び性ホルモンに関与する内分泌系組織（視床下部及び下垂体）の病理組織学的検査に BRO 投与の影響は認められず，硝子体内投与時の全身曝露量が極めて低いことから雌性受胎能に対するリスクは極めて低いと考えられた。

予定臨床用法・用量では，6 mg/眼（容量：50 µL）の BRO を 3 ヵ月の導入投与後 12 週間隔で反復硝子体内投与することとなっている。眼局所に対しては，NOAEL と申請用量はいずれも 6 mg/眼であるが，カニクイザルの硝子体容量はヒトの 1/2 である（Girach and Pakola 2012, Struble et al. 2014）ことから，2 倍の安全域があると考えられた。全身に対しては，ヒト申請用量での C_{max} が 49 ng/mL 及び AUC が 5320 ng*h/mL（RTH258-003 試験）であるのに対し， カニクイザルにおける NOAEL の C_{max} が 577 ng/mL 及び AUC が 30300 ng*h/mL であることから C_{max} で 12 倍及び AUC で 6 倍の安全域があると考えられた。以上，非臨床安全性試験の結果，6 mg/眼までの用量における BRO 硝子体内投与の安全性が確認された。

10 参考文献

[Creasy DM (1997)] Evaluation of testicular toxicity in safety evaluation studies: the appropriate use of spermatogenic staging. Toxicol Pathol; 25(2):119-31.

[Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, et al. (1995)] Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. Nature; 376(6535):66-70.

[Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, et al (1999)] VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. Development; 126(6):1149-59.

[Girach A and Pakola S (2012)] Vitreomacular interface diseases: pathophysiology, diagnosis and future treatment options. Expert Rev Ophthalmol; 7(4):311-23.

[Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al. (1995)] Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. Nature; 376(6535):62-6.

[Struble C, Howard S, Relph J (2014)] Comparison of ocular tissue weights (volumes) and tissue collection techniques in commonly used preclinical animal species. Oct 1-4 2014, Nice, France. European Association for Vision and Eye Research annual meeting[abstract]. Acta Ophthalmologica; 92:s253.

日本医薬品添加剤協会 (2016) 医薬品添加物事典 2016. 東京:薬事日報社 (available upon request)

中外製薬株式会社 (2007) アバスチン点滴静注用 100 mg/4 mL アバスチン点滴静注用 400 mg/16 mL（ベバシズマブ（遺伝子組換え）申請資料概要 (Internet) Available from: <http://www.pmda.go.jp/drugs/2007/P200700027/index.html> (Accessed 21 Feb 2021)

バイエル薬品株式会社 (2012) アイリーア硝子体内注射液 40mg/mL 及びアイリーア硝子体内注射用キット 40mg/mL に関する資料 申請資料概要 (Internet) Available from: <http://www.pmda.go.jp/drugs/2012/P201200133/index.html> (Accessed 21 Feb 2021)

吉田高志 (2006) 繁殖. 医科学研究資源としてのカニクイザル. 霊長類医科学研究センター30 年の集積; 東京:シュプリンガー・ジャパン, p. 31-46. (available upon request)

2.6.7 毒性試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.7.1 毒性試験の一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧表 7
2.6.7.4 毒性試験に用いた製剤 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 11
2.6.7.7 反復投与毒性試験 12
2.6.7.7A 反復投与毒性試験 (0012707) 12
2.6.7.7B 反復投与毒性試験 (0016684) 14
2.6.7.7C 反復投与毒性試験 (0017689) 16
2.6.7.8 *in vitro* 遺伝毒性試験 18
2.6.7.9 *in vivo* 遺伝毒性試験 18
2.6.7.10 がん原性試験 18
2.6.7.11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 18
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 - 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 18
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験 18
2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - 拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験 19
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 22
2.6.7.16 局所刺激性試験 22
2.6.7.17 その他の毒性試験 22

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度 - 時間曲線下面積
BLQ	Below limit of quantification	定量限界以下
C	Concentration	濃度
Cmax	Maximum observed concentration	最高実測濃度
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準
h	Hour	時
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
p.p.	post-partum	分娩後
p.c.	post-coitum	妊娠後
Q3W	Quaque 3 week	3 週間毎
Q4W	Quaque 4 week	4 週間毎
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

Study type	Species and strain	Method of administ-ration	Duration of dosing	Doses (mg/eye)	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Single dose toxicity:	Rabbit/New Zealand White	Intravitreal	Single	6	No	Alcon Research, Ltd.	[0017265]	No	4.2.3.1-1
	Cynomolgus monkey	Intravitreal	Single	0, 0.5, 1, 2, 3	No	Alcon Research, Ltd.	[0011909]	No	4.2.3.1-2
Repeated-dose toxicity: 11 week	Cynomolgus monkey	Intravitreal	One dose every 5 weeks for a total 2 doses, followed by 6 weeks of observation	0, 0.5, 1, 2, 3, 6	No	Alcon Research, Ltd.	[0011462]	Yes	4.2.3.2-1
12 week	Cynomolgus monkey	Intravitreal	One dose every 6 weeks for a total 2 doses, followed by 6 weeks of observation	0, 0, 0, 0, 3, 0, 3	No	Alcon Research, Ltd.	[0012900]	No	4.2.3.2-2
9 week	Cynomolgus monkey	Intravitreal	One dose every 3 weeks for a total of 3 doses, followed by 3 weeks of observation	0, 0.5, 1, 3, 6	GLP	Alcon Research, Ltd.	[0012707]	Yes	4.2.3.2-3
24 week	Cynomolgus monkey	Intravitreal	One dose every 4 weeks for a total of 6 doses, followed by 4 weeks of observation	0, 0, 1, 3, 6, 6	GLP	Alcon Research, Ltd.	[0016684]	Yes	4.2.3.2-4
12 week	Cynomolgus monkey	Intravitreal	One dose every 4 weeks for a total of 3 doses, followed by 4 weeks of observation	0, 6	GLP	Alcon Research, Ltd.	[0017689]	Yes	4.2.3.2-5
Reproductive developmental toxicity: ePPND	Cynomolgus monkey	Intravitreal	Once every 4 weeks beginning on Day 20 post-coitum to delivery, and on Day 28 post-partum	0, 3, 6	GLP	Covance Laboratories Inc.	[1670189]	Yes	4.2.3.5.3-1

For Repeated-Dose Toxicity and Reproductive Developmental Toxicity, the highest NOAEL is underlined.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

Study type	Species	Strain	Method of administration	Doses (mg/eye)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q5Wx2)	Monkey	Cynomolgus	Intravitreal	0, 0.5, 1, 2, 3, 6	No	[0011462]	4.2.3.2-1
Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q3Wx3)	Monkey	Cynomolgus	Intravitreal	0, 0.5, 1, 3, 6	GLP	[0012707]	4.2.3.2-3
Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q4Wx6)	Monkey	Cynomolgus	Intravitreal	0, 0, 1, 3, 6, 6	GLP	[0016684]	4.2.3.2-4
Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q4Wx3)	Monkey	Cynomolgus	Intravitreal	0, 6	GLP	[0017689]	4.2.3.2-5
Toxicity study of enhanced pre- and postnatal development	Monkey	Cynomolgus	Intravitreal	0, 3, 6	GLP	[1670189]	4.2.3.5.3-1

2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧表

	AUC0-168h (h·ng/mL)		
	Monkeys		
Doses (mg/eye)	Male/female combined	**Study number**	**Location in CTD**
0.5	2330 [c] (Day 1), 1960 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	1530 [a] (Day 1), 1760 [a] (Day 22), 1340 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
1	4130 (Day 1), 4240 (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	7830 [a] (Day 1), 6590 [a] (Day 22), 5160 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	2220 [b] (Day 1), 9770 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
2	13000 [c] (Day 1), 10100 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
3	16700 [c] (Day 1), 13800 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	7010 [a] (Day 1), 12600 [a] (Day 22), 13900 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	10100 [b] (Day 1), 16000 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
	3420 [d, e] (Day 48 p.c.), 4310 [d, e] (Day 132 p.c.), 4820 [d, e] (Day 28 p.p.)	1670189	4.2.3.5.3-1
6	24300 [c] (Day 1), 32200 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	20700 [a] (Day 1), 22600 [a] (Day 22), 21300 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	15500 [b] (Day 1), 30300 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
	13400 [c] (Day 1), 15400 [c] (Day 141)		
	14400 [b] (Day 1, male), 15500 [b] (Day 56, male)	0017689	4.2.3.2-5
	20000 [b] (Day 1, female), 20600 [b] (Day 56, female)		
	6090 [d,e] (Day 48 p.c.), 5120 [d,e] (Day 132 p.c.), 8100 [d,e] (Day 28 p.p.)	1670189	4.2.3.5.3-1

[a] = Vehicle: GMP manufactured formulation elution/dilution buffer.

[b] = Vehicle: 0.428% trisodium citrate, 5.8% sucrose, 0.05% polysorbate 80, with water for injection.

[c] = Vehicle: 0.59% trisodium citrate, 0.73% sodium chloride, 0.001% polysorbate 20, with water for injection.

[d] = $AUC_{0\text{-}24h}$

[e] = Vehicle: RTH258 Placebo (0.00945% citric acid monohydrate, 0.0429% sodium citrate dihydrate, 6.75% sucrose, 0.020% polysorbate 80, with water for injection).

2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

	Cmax (ng/mL)		
	Monkeys		
Doses (mg/eye)	Male/female combined	**Study number**	**Location in CTD**
0.5	58.9 [c] (Day 1), 35.0 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	28.3 [a] (Day 1), 23.3 [a] (Day 22), 40.5 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
1	114 [c] (Day 1), 135 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	125 [a] (Day 1), 95.5 [a] (Day 22), 75.8 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	58.5 [b] (Day 1), 172 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
2	198 [c] (Day 1), 212 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
3	349 [c] (Day 1), 283 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	107 [a] (Day 1), 150 [a] (Day 22), 177 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	162 [b] (Day 1), 273 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
	224 [d] (Day 48 p.c.), 253 [d] (Day 132 p.c.), 248 [d] (Day 28 p.p.)	1670189	4.2.3.5.3-1
6	583 [c] (Day 1), 537 [c] (Day 36)	0011462	4.2.3.2-1
	312 [a] (Day 1), 295 [a] (Day 22), 286 [a] (Day 43)	0012707	4.2.3.2-3
	342 [b] (Day 1), 577 [b] (Day 141)	0016684	4.2.3.2-4
	313 [c] (Day 1), 352 [c] (Day 141)		
	406 [b] (Day 1, male), 250 [b] (Day 56, male)	0017689	4.2.3.2-5
	308 [b] (Day 1, female), 406 [b] (Day 56, female)		
	389 [d] (Day 48 p.c.), 301 [d] (Day 132 p.c.), 483 [d] (Day 28 p.p.)	1670189	4.2.3.5.3-1

[a] = Vehicle: GMP manufactured formulation elution/dilution buffer.

[b] = Vehicle: 0.428% trisodium citrate, 5.8% sucrose, 0.05% polysorbate 80, with water for injection.

[c] = Vehicle: 0.59% trisodium citrate, 0.73% sodium chloride, 0.001% polysorbate 20, with water for injection.

[d] = Vehicle: RTH258 Placebo (0.00945% citric acid monohydrate, 0.0429% sodium citrate dihydrate, 6.75% sucrose, 0.020% polysorbate 80, with water for injection).

2.6.7.4 毒性試験に用いた製剤

Batch no.	Purity (%)[a]	Specified impurities (%)	Study type	Study number	Location in CTD
13-68149-1	Not specified	Not specified	Toxicity study of single intravitreal injection	0017265	4.2.3.1-1
ESBA1008-0949TR2	97-100%	Endotoxin 2.5 EU/mL DNA < 1.6 pg/mg	Toxicity study of single intravitreal injection	0011909	4.2.3.1-2
100208 MK001	98-100%	Endotoxin 0.316 EU/mL DNA 19.5 pg/mL	Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q5Wx2)	0011462	4.2.3.2-1
			Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q6Wx2)	0012900	4.2.3.2-2
ESBA1008-101601-2	98-100%	Endotoxin < 0.05 EU/mL DNA < 1.6 pg/mL	Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q6Wx2)	0012900	4.2.3.2-2
			Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q3Wx3)	0012707	4.2.3.2-3
12-66764-1	98-100%	Endotoxin 0.1 EU/mL DNA < 1.6 pg/mL	Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q4Wx6)	0016684	4.2.3.2-4
12-67016-1	99-100%	Endotoxin < 0.05 EU/mL DNA < 1.6 pg/mL	Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q4Wx6)	0016684	4.2.3.2-4
14-501477-1	98-100%	Endotoxin < 0.2 EU/mL DNA < 200 pg/mg	Toxicity study of repeat intravitreal injections (Q4Wx3)	0017689	4.2.3.2-5
2019600	99-100%	Endotoxin < 0.594 EU/mL DNA < 1 pg/mg	Toxicity study of enhanced pre- and postnatal development	1670189	4.2.3.5.3-1
2022748	98-100%	Endotoxin < 1.188 EU/mL DNA < 1 pg/mg	Toxicity study of enhanced pre- and postnatal development	1670189	4.2.3.5.3-1

a) Purity range depending on analytical procedure.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Species/strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Observed maximum non-lethal dose (mg/kg)	Observed minimum lethal dose (mg/kg)	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Rabbit/New Zealand White	Intravitreal [a]	6	2M+3F	6	NA	The dose was generally well tolerated, with minimal effects observed.	No	[0017265]	4.2.3.1-1
Cynomolgus monkey	Intravitreal [a]	0, 0.5, 1, 2, 3 [b]	0-1M+1-2F	NA	NA	Dose-dependent ocular inflammation following IVT injection was consistent with endotoxin-induced ocular inflammation.	No	[0011909]	4.2.3.1-2

F = Female, M = Male, NA = not applicable

a) 0.59% trisodium citrate, 0.73% sodium chloride, 0.001% polysorbate 20, with water for injection.

b) Endotoxin doses for each dose group were 0 EU, 0.021 EU, 0.042 EU, 0.084 EU and 0.126 EU, respectively.

2.6.7.6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

Species/strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Cynomolgus monkey	Intravitreal [a]	One dose every 5 weeks for a total 2 doses, followed by 6 weeks of observation	0, 0.5, 1, 2, 3, 6	2 animals (0-2M + 0-2F)	Not established	There were no test article-related effects in clinical observations, indirect ophthalmoscopy, body weights, intraocular pressure, pachymetry, clinical pathology and macroscopy. At doses 3 ≥ mg, retinal function was also reduced as measured by electretinography. Retinal degeneration was observed at all doses with a dose-dependent increase in severity.	[0011462]	4.2.3.2-1
Cynomolgus monkey	Intravitreal [a]	One dose every 6 weeks for a total 2 doses, followed by 6 weeks of observation	0 (vehicle), 0 (filter extract), 0 (pilot mock), 0 (pilot batch permeate), 3 (pilot batch), 0 (GMP vehicle), 3 (GMP batch)	3 animals (1-2M + 1-2F)	Not established	There were no clinical signs body weights or intraocular pressure. Ocular inflammation in animals that received the pilot mock and pilot batch were related to higher levels of endotoxin and/or process-related characteristics introduced during the pilot manufacturing process.	[0012900]	4.2.3.2-2

F = Female, M = Male, NOAEL = no observable adverse effect level

a) 0.59% trisodium citrate, 0.73% sodium chloride, 0.001% polysorbate 20, with water for injection.

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A 反復投与毒性試験 (0012707)

Report title: Ocular Toxicity Evaluation of Repeat Intermittent Intravitreal Injections (Q3Wx3) of AL-86810 (ESBA 1008) in Cynomolgus Monkeys with a 3-week Post Dose Observation Period

Study no.: [0012707]

Test article: AL-86810

Location in CTD: 4.2.3.2-3

Species/strain: Monkey, Cynomolgus

Duration of dosing: 1 dose every 3 weeks for a total of 3 doses

GLP compliance: yes

Initial age: 2 to 4 years

Duration of postdose: 3 weeks

Date of first dose: 21 September 2010

Method of administration: Intravitreal injection

Vehicle/formulation: GMP manufactured formulation elution/dilution buffer

Special features: ADA, intraocular pressure, electroretinograms

No Observed Adverse-Effect Level: 6 mg/eye

Dose (mg/eye)		0 (Control – Group 1)		0.5 (Group 2)		1 (Group 3)		3 (Group 4)		6 (Group 5)	
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:											
Serum											
Cmax (ng/mL)[a]	Day 1	BLQ		28.3		125		107		312	
	Day 22	BLQ		23.3		95.5		150		295	
	Day 43	BLQ		40.5		75.8		177		286	
AUC0-168h (h·ng/mL)[a]	Day 1	N/C		1530		7830		7010		20700	
	Day 22	N/C		1760		6590		12600		22600	
	Day 43	N/C		1340		5160		13900		21300	
Vitreous humor											
C (ng/mL)[a]	Day 64/65	BLQ		99.6		394		682[b]		3160	
Serum ADA response		No correlation between the dose injected and the induction of ADA.									
Vitreous humor ADA response		Vitreous humor ADA response was negative except for two animals in the low dose group. However, the assay may be subject to interference from relatively low concentrations of AL-86810 and as a result, it is not possible to determine for certain that there were no additional ADA in the vitreous humor.									

Dose (mg/eye)		0 (Control – Group 1)		0.5 (Group 2)		1 (Group 3)		3 (Group 4)		6 (Group 5)	
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Noteworthy findings											
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (g)	Day 64/65[c]	3610.3	3164.0	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ocular evaluations											
Slit lamp biomicroscopy											
Severe aspiration/injection procedure related ocular inflammation		1	1	1	0	1	1	0	1	0	0
Indirect ophthalmoscopy		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Intraocular pressure		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electroretinograms		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings, BLQ = <2.00 ng/mL for serum, <20.0 ng/mL for vitreous humor, N/C = Not calculated.

[a] = Male/Female combined, [b] = N=5, [c] = Day of necropsy.

2.6.7.7B 反復投与毒性試験 (0016684)

Report title: AL-86810 (ESBA 1008): A Six-Month Intermittent Dose (Q4Wx6) Intravitreal Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys with a 3-Month Interim Evaluation

Study no.: [0016684]

Test article: AL-86810

Location in CTD: 4.2.3.2-4

Species/strain: Monkey, Cynomolgus

Duration of dosing: 1 dose every 4 weeks for a total of 6 doses

GLP compliance: yes

Initial age: approximately 4.5-5.5 years

Duration of postdose: 4 weeks

Date of first dose: 16 October 2012

Method of administration: Intravitreal injection

Vehicle/formulation:

Control vehicle: 0.59% trisodium citrate, 0.73% sodium chloride, 0.001% polysorbate 20, with water for injection

Test vehicle: 0.428% trisodium citrate, 5.8% sucrose, 0.05% polysorbate 80, with water for injection

Special features: ADA, intraocular pressure, electroretinograms

No Observed Adverse-Effect Level: 6 mg/eye

Dose (mg/eye)		0 (Control) (Group 1)[a]		0 (Control) (Group 2)[b]		1 (Group 3)[b]		3 (Group 4)[b]		6 (Group 5)[b]		6 (Group 6)[a]	
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:													
Cmax (ng/mL)[c]	Day 1	BLQ		BLQ		58.5		162		342		313	
	Day 141	BLQ		BLQ		172		273		577		352	
AUC0-168h (h·ng/mL)[c]	Day 1	N/C		N/C		2220		10100		15500		13400	
	Day 141	N/C		N/C		9770		16000		30300		15400	
ADA response		No dose-response relationship and no correlation between ADA titers and systemic exposure.											
Noteworthy findings													
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (g)	Day 170/171[d]	5844.3	4266.3	6056.0	4457.0	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ocular evaluations													

Dose (mg/eye)	0 (Control) (Group 1)[a]		0 (Control) (Group 2)[b]		1 (Group 3)[b]		3 (Group 4)[b]		6 (Group 5)[b]		6 (Group 6)[a]	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Slit lamp biomicroscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indirect ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Intraocular pressure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electroretinograms	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Veterinary physicals	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiograms	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings, BLQ = <2.00 ng/mL, N/C = Not calculated.
[a] = Control vehicle, [b] = Test vehicle, [c] = Male/Female combined, [d] = Day of necropsy.

2.6.7.7C 反復投与毒性試験 (0017689)

Report title: AL-86810 (ESBA 1008, [redacted] Drug Substance): A Three-Month Intermittent Dose (Q4Wx3) Intravitreal Toxicity Study with a Four Week Observation Period in Cynomolgus Monkeys

Study no.: [0017689]

Test article: AL-86810

Location in CTD: 4.2.3.2-5

Species/strain: Monkey, Cynomolgus

Duration of dosing: 1 dose every 4 weeks for a total of 3 doses

GLP compliance: yes

Initial age: approximately 5 − 7 years

Duration of postdose: 4 weeks

Date of first dose: 06 May 2014

Method of administration: Intravitreal injection

Vehicle/formulation: 0.428% trisodium citrate, 5.8% sucrose, 0.05% polysorbate 80, with water for injection

Special features: ADA, intraocular pressure, electroretinograms

No Observed Adverse-Effect Level: 6 mg/eye

Dose (mg/eye)		0 (Control, Group 1)		6 (Group 2)	
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:					
Cmax (ng/mL)	Day 1	BLQ	BLQ	406	308
	Day 56	BLQ	BLQ	250	406
AUC0-168h (h·ng/mL)	Day 1	N/C	N/C	14400	20000
	Day 56	N/C	N/C	15500	20600
ADA response		No correlation between ADA titers and systemic exposure.			
Noteworthy findings					
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0
Body weight (g)	Day 85[a]	5925.3	3710.0	-	-
Clinical observations		-	-	-	-
Ocular evaluations					
Slit lamp biomicroscopy		-	-	-	-
Indirect ophthalmoscopy		-	-	-	-
Intraocular pressure		-	-	-	-
Electroretinograms		-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-

Dose (mg/eye)	0 (Control, Group 1)		6 (Group 2)	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3
Clinical chemistry	-	-	-	-
Veterinary physicals	-	-	-	-
Electrocardiograms	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-

- = No noteworthy findings, BLQ = <2.00 ng/mL, N/C = Not calculated.

[a] = Previous day of necropsy

2.6.7.8 *in vitro* 遺伝毒性試験

該当試験なし

2.6.7.9 *in vivo* 遺伝毒性試験

該当試験なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当試験なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

該当試験なし

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

該当試験なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

該当試験なし

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - 拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験

Report title: Enhanced Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study with RTH258 following Intravitreal Administration in Cynomolgus Monkeys with a 12-Week Post Partum Period

Study no.: [1670189]

Test article: RTH258

Location in CTD: 4.2.3.5.3-1

Species/strain: Monkeys, Cynomolgus

Day of Mating: Day 0

GLP compliance: yes

Initial age: 4 to 6 years old

Duration of dosing: once every 4 weeks beginning on Day 20 p.c. to delivery

Duration of post partum: 12 weeks

Date of first dose (first dose of first pregnant animal): 07-Mar-2018

Vehicle/formulation: RTH258 Placebo (0.00945% citric acid monohydrate, 0.0429% sodium citrate dihydrate, 6.75% sucrose, 0.020% polysorbate 80, with water for injection)

Method of administration: Intravitreal injection

Litters Culled/Not Culled: Not culled

Special features: None

No Observed Adverse Effect Level: 6 mg/eye[a] for maternal and infant animals

Dose (mg/eye[a])		0 (Control - Group 1)	3 (Group 2)	6 (Group 3)
Toxicokinetics:				
Maternal serum				
C_{max} (ng/mL)	Day 48 p.c.	BLQ	224	389
	Day 132 p.c.	BLQ	253	301
	Day 28 p.p.	BLQ	248	483
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Day 48 p.c.	BLQ	3420	6090
	Day 132 p.c.	BLQ	4310	5120
	Day 28 p.p.	BLQ	4820	8100
Maternal milk (ng/mL)	Day 28 p.p., 24h after dose	BLQ	BLQ	BLQ
Infant serum (ng/mL)	Day 28 p.p., 24h after dose	BLQ	BLQ	BLQ
Serum ADA response		No correlation between the dose injected and the induction of ADA both in maternal and infant animals. No maternal animals showed reduced exposure consistent with an ADA-response, and exposure to RTH258 was not demonstrated in any infant animal.		

Dose (mg/eye[a])	0 (Control - Group 1)	3 (Group 2)	6 (Group 3)
Maternal			
Number of maternal animals	16	16	16
Noteworthy findings			
Euthanized moribund	0	1[b]	0
Total number of pregnant females	15	14	13
Mean Gestation Length (days)	162	165	166
Total number of abortions			
First Trimester	2	0	0
Second Trimester	0	0	2
Third Trimester	0	0	0
Total number of stillbirths	0	0	2
Body weight	-	-	-
Clinical observations	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-
Hematology	-	-	-
Coagulation	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-
Organ weights (%)	-	-	-
Gross pathology	-	-	-
Infant			
Number of infant animals	M:8, F:5	M:4, F:10	M:8, F:3
Noteworthy findings:			
Total number live infants	13	14	9
Total number of infants euthanized or found dead prior to PND 7	2	0	1
Total number of infants euthanized or found dead after PND 7	1	2	1
Total number of infants surviving to term	10	12	7
Clinical observations	-	-	-
Body weight	-	-	-

Dose (mg/eye[a])	0 (Control - Group 1)	3 (Group 2)	6 (Group 3)
Grip Strength	-	-	-
Morphological Data	-	-	-
Neurobehavior	-	-	-
External Observations	-	-	-
Assessment of Skeletal Development	-	-	-
Hematology	-	-	-
Coagulation	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-
Organ weights (%)	-	-	-
Gross pathology	-	-	-

- = no noteworthy findings, BLQ = < 5.00 ng/mL for serum, < 10.0 ng/mL for milk, NA = Not applicable.

[a] Right eye only was dosed once every 4 weeks beginning on Day 20 p.c. to delivery, [b] Not test article-related

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

該当試験なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当試験なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当試験なし