2.4 非臨床試験の概括評価

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 4
1 緒言 6
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 6
3 薬理試験 7
3.1 まとめ 7
3.2 効力を裏付ける試験 8
3.3 副次的薬理試験 13
3.4 安全性薬理試験 15
3.5 薬力学的薬物相互作用試験 16
4 薬物動態試験 16
4.1 分析法 16
4.2 吸収 16
4.3 分布 17
4.4 代謝 18
4.5 排泄 19
4.6 薬物動態学的薬物相互作用 19
5 毒性試験 20
5.1 単回投与毒性試験 22
5.2 反復投与毒性試験 22
5.2.1 ラットを用いた反復投与毒性試験 24
5.2.2 サルを用いた反復投与毒性試験 25
5.3 遺伝毒性試験 26
5.4 がん原性試験 26
5.5 生殖発生毒性試験 27
5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 27
5.5.2 胚・胎児発生に関する試験 27
5.5.3 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 28
5.5.4 幼若動物を用いた試験 28
5.5.5 生殖発生毒性試験の総合評価 28
5.6 曝露量の比較 29
5.7 局所刺激性試験 30
5.8 その他の毒性試験 31
5.8.1 免疫刺激作用に関する探索的試験 31

5.8.2 アトルバスタチンとの併用投与毒性試験.....31
6 不純物及び分解物.....32
7 総括及び結論.....32
8 参考文献.....37

表一覧

Table 5-1 毒性試験一覧.....21
Table 5-2 反復投与毒性試験一覧.....22
Table 5-3 毒性試験における曝露量と臨床試験におけるヒト曝露量との比較.....29
Table 5-4 群構成.....31

図一覧

Figure 3-1 カニクイザルにインクリシランを単回投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値.....10
Figure 3-2 カニクイザルにインクリシランを QM 投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値.....12
Figure 3-3 カニクイザルにインクリシランを Q3M 投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び LDL-C 値.....13

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
Ago	argonaute	アルゴノート
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT（GPT）	alanine aminotransferase (glutamic pyruvic transaminase)	アラニンアミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ）
AS	antisense	アンチセンス
ASGPR	asialoglycoprotein receptor	アシアロ糖蛋白受容体
AST（GOT）	apartate aminotransferase (glutamic oxaloacetic tansaminase)	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ）
AUC	area under the concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
AUClast	area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration	時間 0 から最終定量可能時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump	-
Cmax	maximal drug plasma (tissue) concentration	最高血漿（又は組織）中薬物濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DRF	dose range finding	用量設定
ECG	electrocardiogram	心電図
ED_{50}	half maximal effective dose	50%有効量
ED_{80}	80% effective dose	80%有効量
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫測定法
EMSA	electrophoretic mobility shift assay	電気泳動移動度シフト法
GalNAc	N-acetylgalactosamine	N-アセチルガラクトサミン
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor	-
GD xx	gestation day xx	妊娠 xx 日
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
HDL-C	high density lipoprotein-cholesterol	高比重リポ蛋白コレステロール
HLM	human liver microsome	ヒト肝ミクロソーム
hPCSK9	human PCSK9	ヒト PCSK9
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	immunoglobulin M	免疫グロブリン M
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LC-TOF-MS	liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
LDL-C	low density lipoprotein-cholesterol	低比重リポ蛋白コレステロール
LDLR	low density lipoprotein receptor	低比重リポ蛋白受容体
MATE	multidrug and toxin extrusion	-
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1	-
MDR	multidrug resistance	多剤耐性蛋白質
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
NOEL	no observed effect level	無作用量
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PCSK9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	プロ蛋白質転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型
PD	pharmacodynamics	薬力学
PK	pharmacokinetics	薬物動態
QD	once daily	1 日 1 回
Q4D	once every four days	4 日間に 1 回
QM	once monthly	月 1 回
Q2M	every other month	2 ヵ月に 1 回
QW	once weekly	1 週間に 1 回
Q2W	once every two weeks	2 週間に 1 回
Q4W	once every four weeks	4 週間に 1 回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RISC	ribonucleic acid-induced silencing complex	RNA 誘導サイレンシング複合体
S	sense	センス
siRNA	small interfering RNA	低分子干渉 RNA
TDAR	T-cell dependent antibody responses	T 細胞依存性抗体産生
Tg	transgenic	遺伝子導入
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach maximum (peak) concentration following drug administration	最高薬物濃度到達時間

1 緒言

インクリシラン（ALN-PCSSC 又は別名 ALN-60212 と表記される）は，プロ蛋白質転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型（PCSK9）の mRNA を標的とした二本鎖の低分子干渉 RNA（siRNA）である。センス鎖（S 鎖）には 3 分岐型の N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）が結合した構造を有している。また，修飾部分である GalNAc は肝細胞表面に高発現するアシアロ糖蛋白受容体（ASGPR）に結合するため，本薬はエンドサイトーシスにより肝臓特異的に取り込まれるよう設計されている。本薬が肝細胞内に取り込まれたのち，本薬の作用機序である RNA 干渉（RNAi）作用を利用して *PCSK9* mRNA の分解が触媒され，PCSK9 蛋白質の発現は持続的に低下する。PCSK9 は低比重リポ蛋白受容体（LDLR）と結合し，リソソームによる LDLR の分解を促進する役割を有することから，本薬の PCSK9 発現低下効果により肝細胞表面上の LDLR 量は増加し，LDLR による低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）の取り込みが促進される。

原発性高脂血症や家族性高コレステロール血症では，スタチン系薬剤等既存の経口剤の効果が不十分な症例もみられる。インクリシランはスタチン治療下で効果不十分な患者及びスタチン不耐の患者を対象として開発された。通常，成人にはインクリシランナトリウムとして 1 回 300 mg を初回及び 3 ヵ月後に皮下投与し，以降 6 ヵ月に 1 回の間隔で皮下投与する。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

インクリシランの有効性及び安全性プロファイルを検討する目的で，薬理試験，薬物動態試験，及び非臨床安全性試験を実施した。

インクリシランの薬理試験として，ヒト *PCSK9*（*hPCSK9*）mRNA に特異的な siRNA を特定するためのバイオインフォマティクス解析，作用機序の検討，及びヒト肝細胞を用いた *in vitro* 活性の評価，並びに *hPCSK9* 遺伝子導入（Tg）マウス及びカニクイザルを用いた *in vivo* 薬理試験を実施した。インクリシランのヌクレオチド配列は，ヒト及びカニクイザルの *PCSK9* 遺伝子に作用する配列部分と完全な相同性を示し，ラット及びマウスの *PCSK9* 遺伝子配列とは部分的に相同性を示す。そのため，インクリシランの *in vivo* 薬理活性の評価は主にサルで実施した。

テレメトリー装着カニクイザルを用いた安全性薬理試験において，インクリシラン投与による心電図（ECG），血圧，呼吸数，及び体温への影響について検討した。本試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）S7A 及び S7B ガイドライン（安全性薬理試験ガイドライン）に従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。また，カニクイザルを用いた 4 週間，15 週間，及び 40 週間反復投与毒性試験の一部として実施した神経学的評価において，インクリシラン投与に関連する中枢神経系への影響について検討した。

ラット及びカニクイザルにインクリシランを単回静脈内投与，並びに単回及び反復皮下投与したときの薬物動態（PK）を評価した。雌雄の動物を用い，性差の可能性についても評価した。GLP 毒性試験の一部としてトキシコキネティクス（TK）を評価した。

マウス，ラット，サル，及びヒトの血漿を用いて，インクリシランの血漿蛋白結合率を測定した。非標識インクリシランをラット及びサルに単回静脈内投与，並びに単回及び反復皮下投与したときの組織分布を評価した。放射性標識 ^{14}C-インクリシランをラット及びサルに単回皮下投与したときのマスバランス及び定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験を実施した。インクリシランの代謝安定性及び代謝プロファイルに関しては，ヒト血清及び肝 S9 画分を用いて *in vitro* で評価し，投与後のラット及びサルの生体試料を用いて *in vivo* で評価した。超高速液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて，ラット及びサルの血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓中（ラットでは胆汁及び投与部位も含む）の代謝物を同定した。チトクローム P450（CYP）及びトランスポーターが関与するインクリシランの薬物相互作用（DDI）の可能性を *in vitro* で評価した。

インクリシランの非臨床安全性試験として，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，及びその他の毒性試験（免疫刺激性，併用投与毒性）を実施し，潜在的毒性を評価した。主要な毒性試験は，ICH M3 (R2) ガイドライン（医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス）及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従い，GLP を遵守して受託研究機関の GLP 適合試験施設で実施した。なお，一部の試験（8299434，8301499，BA14004，BA14008，及び 319N-1401）では遊離酸の表記であり，その他の非臨床試験では特に断わらない限りすべてナトリウム塩での表記とした。

3 薬理試験

3.1 まとめ

インクリシランはサルへの皮下投与で強力かつ用量依存的な薬理活性を示し，血漿中 PCSK9 濃度と血清中 LDL-C 値を低下させた。サルにインクリシランを単回皮下投与したとき，血漿中 PCSK9 濃度は用量依存的に低下し，投与 20～30 日後に最も低下した。インクリシラン投与後，3 及び 6 mg/kg 群では投与 150 日後に血漿中 PCSK9 濃度は投与前値まで回復したが，最高用量の 10 mg/kg 群では投与 180 日後まで血漿中 PCSK9 濃度は低値のまま維持された。インクリシランの血中濃度と作用持続時間との間には時間差があり，サルにインクリシランを最高用量（6 mg/kg）で単回投与したとき，血漿中インクリシラン濃度は投与後約 24 時間以内に検出限界以下まで低下した。また，反復投与では血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値は投与 100 日後まで低値のまま維持された。最高用量（6 mg/kg）を初回投与後，1～6 mg/kg の用量で 2 週間に 1 回（Q2W），月 1 回（QM），又は 2 ヵ月に 1 回（Q2M）のさまざまな用法で維持投与しても，検討したいずれの用法用量でもタキフィラキシーの兆候は認められなかった。

テレメトリー装着カニクイザルを用いた安全性薬理試験を実施し，心血管系及び呼吸系への影響を検討した。また，カニクイザルを用いた 4 週間，15 週間，及び 40 週間反復投与毒性試験の一部として神経学的評価を実施し，中枢神経系への影響を検討した。いずれの試験においてもインクリシラン投与による影響は認められなかった。

バイオインフォマティクス解析及び Hep3B 細胞を用いた *in vitro* 試験によるオフターゲット活性の評価により，インクリシランが標的外遺伝子の転写に影響を及ぼす可能性は低く，インクリシラン投与により副作用が生じる可能性は低いことが示された。

3.2 効力を裏付ける試験

インクリシランの創薬過程では，*hPCSK9* mRNA に特異的な siRNA を特定するためのバイオインフォマティクス解析及び Hep3B 細胞を用いた *in vitro* 試験を実施した[Table 2.6.3.1-BIO14020]。なお，ヒトとサルの *PCSK9* mRNA 配列は完全に一致する。

バイオインフォマティクス解析のツールとして[redacted]種の siRNA からなるライブラリーを作製した。これらは，各々[redacted]箇所，化学修飾の異なる配列モチーフからなるユニークな遺伝子配列を有していた。トランスフェクション試薬（RNAiMax）を用いて Hep3B 細胞に各 siRNA（100 pmol/L, n = 2～4）を導入し，24 時間後に *PCSK9* mRNA レベルを測定した。対照として非特異的 siRNA 導入細胞を用いた。

その結果，100 pmol/L で約 70%の *PCSK9* mRNA の低下を示した[redacted]を選択した。[redacted]，[redacted]，その siRNA を[redacted]と名付けた。[redacted]をリード化合物としてさらなる化学修飾を施し，[redacted]種の siRNA を合成した。これらの siRNA を用いて 3 度の *in vitro* スクリーニングを実施した結果，[redacted]，[redacted]（[redacted]）[redacted]（[redacted]）[redacted]安定性の向上と活性の維持が確認され，インクリシラン（ALN-60212）が選択された。これまで 2 回試験を実施し，これらの試験でインクリシランの *PCSK9* mRNA 低下効果の IC_{50} は 2.5 pmol/L 及び 218 pmol/L であった[Table 2.6.3.1-BIO14020]，[Table 2.6.3.1-BIO14019]。なお，2 試験の IC_{50} の違いは試験の目的（14020 試験は ALN-60212 の選択，14019 試験はオフターゲット作用の分析）が異なることや段階希釈濃度のポイント数と n 数，細胞株の違い等によるものと考えられた。

インクリシランの *in vivo* 薬理作用を検討する目的で，*hPCSK9* 遺伝子導入（Tg）マウスを用いて hPCSK9 低下効果を評価した[Table 2.6.3.1-BIO14048]。本 Tg マウスには *hPCSK9* 遺伝子が導入されているものの依然としてマウスの PCSK9 が発現しているため，インクリシランにより *PCSK9* mRNA レベルが低下しても血清中脂質パラメータの変化を適切に評価できない。そのため，本試験ではインクリシラン投与後に血清中の hPCSK9 濃度を測定し，薬理作用及び効果を評価した。その結果，インクリシランの用量増加に伴う hPCSK9 濃度の低下が認められ，hPCSK9 低下効果の ED_{50} 及び ED_{80} はそれぞれ 2 及び 6 mg/kg と推定された。

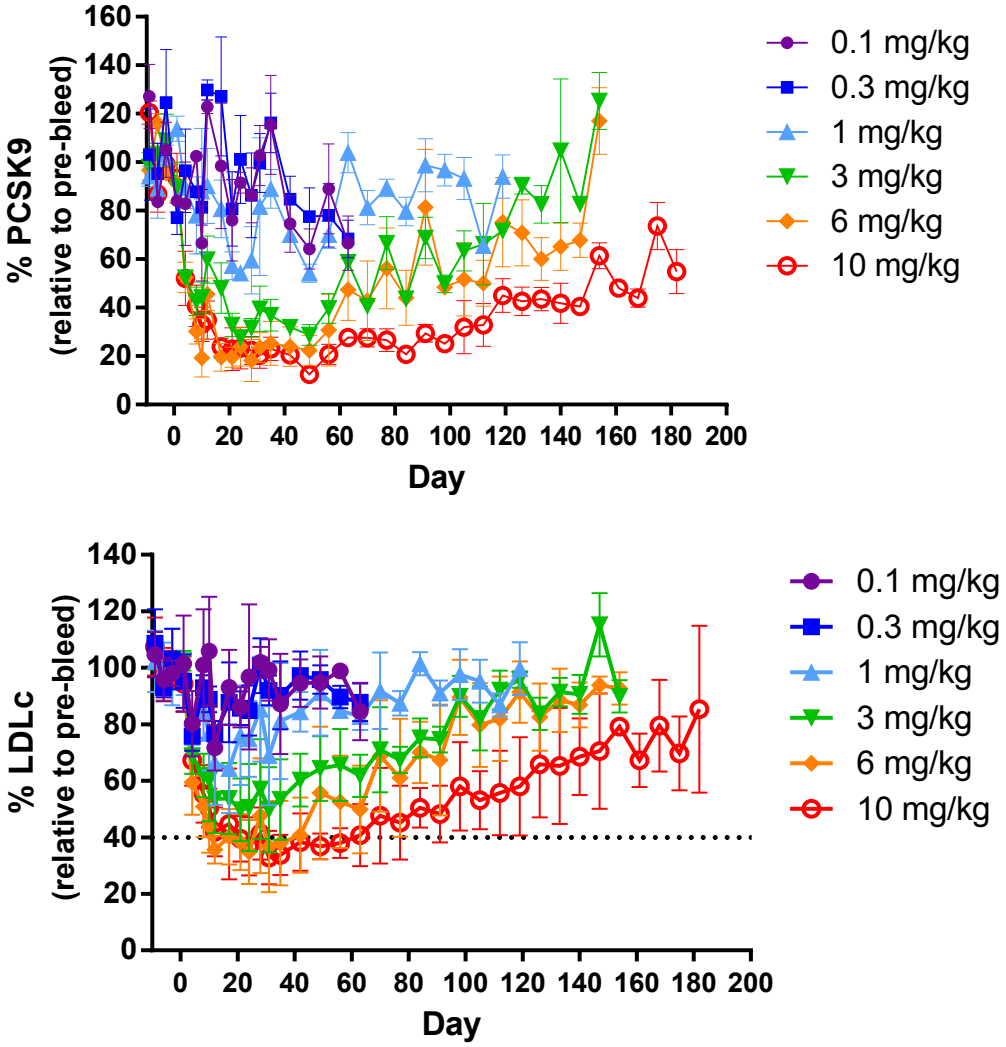
インクリシランの薬理作用及び効果をサルで確認する目的で，カニクイザルにインクリシランを単回投与し，血漿中 PCSK9 低下効果及び脂質低下効果を評価した[Table 2.6.3.1-20049640]。雌性カニクイザルにインクリシランを 0.1，0.3，1，3，6，及び 10 mg/kg の用量で単回皮下投与した後，経時的に採血し，血漿中 PCSK9 濃度，並びに血清中総コレステロール，高比重リポ蛋白コ

レステロール（HDL-C），LDL-C，及びトリグリセリド値を測定した。また，同様に血漿中インクリシラン濃度を測定した。

その結果，インクリシランは 1 mg/kg 以上の用量で血漿中 PCSK9 濃度を用量依存的かつ持続的に低下させ，PCSK9 の低下と並行して血清中 LDL-C 値の低下がみられた（Figure 3-1）。1 mg/kg 投与群では PCSK9 及び LDL-C はそれぞれ 40%及び 30%低下し，投与後 1 ヵ月以内にいずれも投与前値まで回復した。3 mg/kg 以上の用量ではより著明な効果が認められ，1，3，6，及び 10 mg/kg 群で PCSK9 濃度が最も低下するまでの到達日数は，それぞれ Day 15，24，28，及び 49 であり，LDL-C 値が最も低下するまでの到達日数は，それぞれ Day 15，15，35，及び 31 であった。PCSK9 の最大低下率の平均は，1，3，6，及び 10 mg/kg 群で，各々，40，76.2，85，及び 88.3%であった。また，LDL-C の最大低下率の平均は，1，3，6，及び 10 mg/kg 群で，各々，33，52.4，69.6，及び 68.8%であった。6 mg/kg と 10 mg/kg の用量間で効力に違いは認められなかったことから，カニクイザルでのインクリシランの PCSK9 及び LDL-C 低下効果は 6 mg/kg で最大に達することが示された。一方，作用持続時間に関しては用量依存的な効果が認められ，3 及び 6 mg/kg 群では LDL-C 値が Day 100 までに，また，PCSK9 は Day 150 に投与前値まで回復したが，10 mg/kg 群では PCSK9 及び LDL-C 値が投与前値に戻る傾向を示したものの Day 180 まで投与前値よりも低値のまま維持された。

いずれの投与群も，HDL-C 及びトリグリセリド値に対してインクリシラン投与に関連した変化は認められなかった。3 mg/kg 以上の群では，総コレステロール値は LDL-C の低下を反映して最大 30%低下した。

Figure 3-1 **カニクイザルにインクリシランを単回投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値**



Source: Table 2.6.3.1-20049640

雌性カニクイザル（n = 3/群）にインクリシランを 0.1，0.3，1，3，6，及び 10 mg/kg の用量で単回皮下投与（Day 1）した後，静脈血を経時的に採血し，血漿中 PCSK9 濃度を ELISA 法で，血清中 LDL-C を酵素比色法で測定した。投与開始前に 3 回の採血を実施し PCSK9 及び LDL-C の平均値を投与前値とした。

【上図】値は投与前の血漿中 PCSK9 濃度を 100 としたときの割合（%，平均値 ± 標準偏差，n = 3）。0.1 mg/kg 群と 3，6，及び 10 mg/kg 群との間に有意差（$p < 0.001$）が認められた（Tukey の多重比較検定）。

【下図】値は投与前の血清中 LDL-C 値を 100 としたときの割合（%，平均値 ± 標準偏差，n = 3）。0.1 mg/kg 群と 1，3，6，及び 10 mg/kg 群との間に有意差（$p < 0.001$）が認められた（Tukey の多重比較検定）。

インクリシランの反復投与での用法用量の検討を，PCSK9 及び LDL-C 低下効果を指標にカニクイザルを用いて行った[Table 2.6.3.1-20052053]。雌性カニクイザルにインクリシランを初回用量 6 mg/kg で皮下投与した後，Q2W（1 又は 3 mg/kg の用量で 2 週に 1 回，計 6 回皮下投与），QM（1，3，又は 6 mg/kg の用量で月 1 回，計 12 回皮下投与），若しくは Q2M（6 mg/kg の用量で 2 ヵ

月に 1 回，計 6 回皮下投与），又は初回用量 10 mg/kg で皮下投与した後 Q3M（10 mg/kg の用量で 3 ヵ月に 1 回，計 3 回皮下投与）のいずれかの用法用量で投与，経時的に採血し，血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値を求めた。その結果，QM 投与群で PCSK9 濃度及び LDL-C 値の低下効果の用量依存的な持続がみられた。また，Q2W，QM，又は Q2M のいずれの投与群も血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値は投与前値と比較して低下し，Day 20 までに最大の低下率（PCSK9：93%，LDL-C：74%）を示し，約 1 年後の投与終了まで低値を示した。用法用量により PCSK9 濃度及び LDL-C 値の低下率に大きな違いはみられなかった。

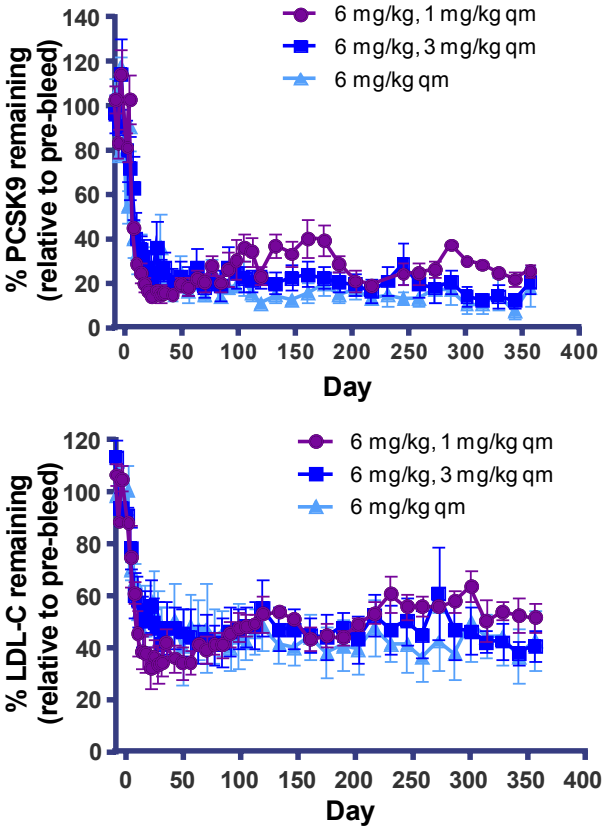
以上，インクリシランの初回用量 6 mg/kg を投与した後，より低用量（1 又は 3 mg/kg）を維持投与しても，血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値が低値のまま持続することが示された。

カニクイザルにインクリシランを初回用量 6 mg/kg で皮下投与した後，Q2W（1 又は 3 mg/kg の用量で 2 週に 1 回，計 6 回皮下投与）の用法用量で投与した群では，投与期間中に血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値は低下したものの，用量間で反応に差は認められなかった。また，Q2W と QM（月 1 回）投与の間で反応に差は認められなかったため，Day 119 に薬理学的作用の評価を終了した。Q2W で 1 mg/kg 及び 3 mg/kg を投与した群では，Day 119 の平均 LDL-C 値はそれぞれ 59%及び 46%であった。

QM 投与後の血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値を Figure 3-2 に示す。6 mg/kg 初回投与後の 1 mg/kg 以上の QM 投与により，単回投与試験と同様[Table 2.6.3.1-20049640]，血漿中 PCSK9 の低下と並行して血清中 LDL-C 値の低下がみられた。単回投与試験では，Day 100 までに LDL-C 値が投与前値付近まで回復したが（Figure 3-1），QM 投与では PCSK9 及び LDL-C 値が 1 年後まで低値で維持された。QM 投与試験での投与を Day 337 に終了したところ，PCSK9 及び LDL-C 値は Day 483 の試験終了時までに投与前値の約 80%まで回復した（データ未掲載）。

カニクイザルにインクリシランを初回用量 6 mg/kg で皮下投与した後，Q2M（6 mg/kg の用量で 2 ヵ月に 1 回，計 6 回皮下投与）の用法用量で投与した群では，血漿中 PCSK9 及び血清中 LDL-C 値の低下は Q2W 及び QM 投与群と同程度であった。Q2M 投与群では，次の投与前までに PCSK9 濃度及び LDL-C 値は部分的に回復した。試験終了時の Day 483 では，LDL-C 値は 88%まで回復した。

Figure 3-2　カニクイザルにインクリシランを QM 投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値



Source: Table 2.6.3.1-20052053

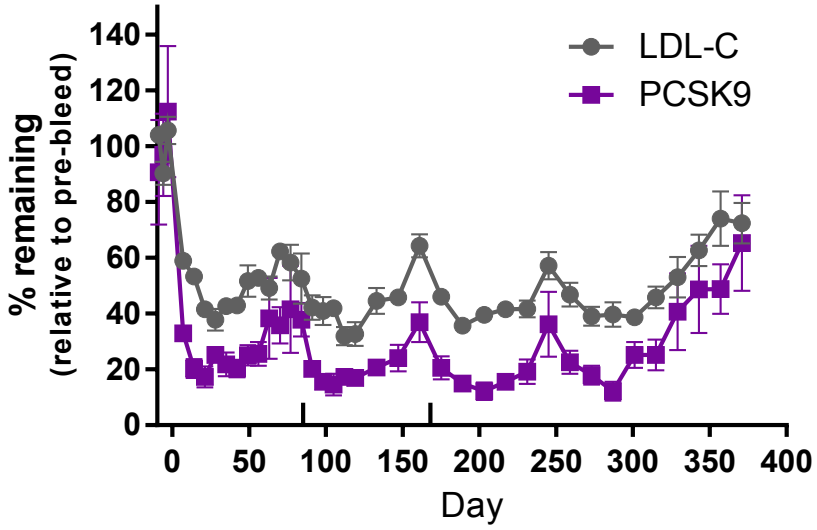
雌性カニクイザル（n = 3/群）にインクリシラン（6 mg/kg）を単回皮下投与（Day 1）した後，QM（1，3，又は 6 mg/kg の用量で月 1 回，計 12 回皮下投与）で投与した。静脈血を経時的に採血し，血漿中 PCSK9 濃度を ELISA 法で，血清中 LDL-C 値を酵素比色法で測定した。投与開始前に 3 回の採血（pre-bleed）を実施し PCSK9 及び LDL-C の平均値を投与前値とした。

【上図】値は投与前（pre-bleed 時）の血漿中 PCSK9 濃度を 100 としたときの割合（%，平均値 ± 標準偏差，n = 3）。

【下図】値は投与前（pre-bleed 時）の血清中 LDL-C 値を 100 としたときの割合（%，平均値 ± 標準偏差，n = 3）。

Q3M（10 mg/kg）投与後の血漿中 PCSK9 濃度及び血清中 LDL-C 値を Figure 3-3 に示す。初回投与後，血漿中 PCSK9 及び血清中 LDL-C は低下したが，2 回目の投与前にはいずれも投与前値の 40%～60%まで回復した（Figure 3-3）。Day 253 で投与を終了し，Day 371 に採血を終了した。最終測定時の Day 371 に LDL-C 及び PCSK9 濃度の部分的回復が認められた（LDL-C 及び PCSK9 は投与前値の平均約 60%～70%まで回復）。

Figure 3-3　カニクイザルにインクリシランを Q3M 投与したときの血漿中 PCSK9 濃度及び LDL-C 値



Source: Table 2.6.3.1-20052053

雌性カニクイザル（n = 3/群）にインクリシラン（10 mg/kg）を単回皮下投与（Day 1）した後，Q3M（10 mg/kg の用量で 3 ヵ月に 1 回，計 3 回皮下投与）投与した。静脈血を経時的に採血し，血漿中 PCSK9 濃度を ELISA 法で，血清中 LDL-C 値を酵素比色法で測定した。投与開始前に 3 回の採血（pre-bleed）を実施し PCSK9 及び LDL-C の平均値を投与前値とした。

値は投与前の血漿中 PCSK9 濃度又は血清中 LDL-C 値を 100 としたときの割合（%，平均値 ± 標準偏差，n = 3）。

以上，カニクイザルを用いた薬理試験では，さまざまな用法用量で 1 年間投与してもタキフィラキシーの兆候は認められず，投与終了後も効果が持続したことから，臨床では低頻度の投与で持続的な効果が得られるものと考えられる。

3.3　副次的薬理試験

インクリシランにより阻害される可能性のある RNA を特定する目的で，「BruteForce」検索アルゴリズムを用いた *in silico* 解析を実施した（2022 年 10 月実施）[Table 2.6.3.1-BIO14019]。ヒトゲノム参照配列と全探索アルゴリズム「BruteForce」を用いてヒトトランスクリプトームのコンピュータ解析を実施した。「BruteForce」は Alnylam 社が開発した配列ベースの独自の検索アルゴリズムであり，siRNA の配列部分（アンチセンス鎖の 5’末端[redacted]～[redacted]位）が標的とする参照トランスクリプトームの可能性のある全配列のミスマッチ数及び位置に基づいて算出されるオフターゲットスコアを用いて，潜在的なオフターゲットを特定するためのアルゴリズムである。「BruteForce」検索アルゴリズムは，RNA 誘導サイレンシング複合体（RISC）内の siRNA と mRNA の間でのミスマッチが多いほど，転写物の切断又はダウンレギュレーションといった相互作用の可能性が低いという前提に基づく。「BruteForce」検索では，参照トランスクリプトームとして NCBI RefSeq データセットは NM 及び XM_登録データを用いた。RefSeq トランスクリプ

トームには，成熟mRNA，スプライシング，コーディング（NM_，XM_），及びノンコーディング（NR_）のデータが登録されている。XM_登録データはコード遺伝子としての存在やアノテーションが不明であることから，オフターゲット候補遺伝子に含めなかった。また，「BruteForce」検索アルゴリズムでは，[redacted]。インクリシランのアンチセンス鎖（AS鎖）の骨格となる[redacted]個のヌクレオチドと相補性を有するヒトゲノムの塩基配列を検索した。バイオインフォマティクス解析の結果，20の標的がオフターゲットと予測され，Hep3B細胞を用いて確認試験を実施した。

オフターゲットと予測された20の標的のうちSULF1及びFAM196BはHep3B細胞での発現が認められず，UniGeneデータベースを用いた追加解析ではこの2つの標的が通常肝臓には発現していないことが確認された。なお，SULF1は細胞外でヘパラン硫酸の6-*O*-硫酸を分解する脱硫酸酵素である（Morimoto-Tomita et al. 2002）。また，FAM196B（遺伝子記号INSYN2B）は中枢神経系に存在するがその機能については不明な蛋白質である（Uezu et al. 2016）。インクリシランは肝臓に指向性を示すため，この2つの標的はインクリシランによるオフターゲット作用を受けない遺伝子と考えられる。その他の18のオフターゲットと予測された標的に対しても，Hep3B細胞を用いた検討結果から，オンターゲット作用である*PCSK9*に対する発現低下効果のIC_{50}と，オフターゲットと予測される標的に対する低下作用のIC_{50}の間には，いずれも45倍以上の差があり，インクリシランは*PCSK9*に特異的であることが裏付けられた。インクリシランは，検討した最高濃度の10 nmol/Lで*PCSK9*を約80%低下させたが，オフターゲットと予測された標的の発現にほとんど影響を及ぼさなかったことから，インクリシランがPCSK9以外の蛋白質の発現に影響を及ぼす可能性は非常に低いと考えられた。なお，オフターゲットと予測されたがHep3B細胞での発現がみられなかったSULF1及びFAM196Bについて，肝臓以外の組織を用いたASGPRとの共発現解析の結果から，インクリシランがヒトの肝臓以外の組織でSULF1及びFAM196Bにオフターゲット作用を示す可能性は低いと考えられた。

また，本薬のセンス鎖のハイブリダイゼーション依存的オフターゲット作用について，完全長のセンス鎖について[redacted]のミスマッチを許容し，ヒトspliced RNAデータベース（human spliced RNA, RefSeq curated on GRCh38/hg38.p13, D3G 22.02）を用いてGGGenome解析を実施したところ，6つのオフターゲット候補遺伝子（SYTL2，RPS6KB1，ABCC4，AP3B2，RBM18，及びLOC100287072）がが特定された。これら6つの遺伝子は，インクリシランのセンス鎖に対して[redacted]のミスマッチ（[redacted]）を有しており，これらの遺伝子発現が阻害される可能性は極めて低いと考えられた。

ラット及びサルを用いた薬物動態試験では，標的外組織で認められたインクリシランの量は標的器官である肝臓と比較して著しく少なかったが，インクリシランは広範な組織内分布を示し，毒性試験では心臓組織でも分布が認められた。インクリシランがこれらの標的外組織でRNA誘導サイレンシング複合体（RISC）と結合する可能性も考えられるため，サルを用いた4週間反復

投与用量設定試験[2.6.6-3.3.1 項]で得られた心臓組織検体を用いて RISC 結合アッセイを実施した。その結果，インクリシランは Ago2 結合 RISC 中に検出されなかったことから，心臓組織で検出されたインクリシランは RISC に結合しないことが示された。したがって，PCSK9 を発現していない標的外組織ではインクリシランは RISC に結合しない可能性が高いと考えられる。

3.4 安全性薬理試験

インクリシランの心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討するため，テレメトリー装着サルを用いた皮下投与による安全性薬理試験を実施した[Table 2.6.3.1-8297017]。

1 群 4 匹の雄性カニクイザルに，インクリシランを 0（溶媒：注射用生理食塩液），10，50，及び 250 mg/kg の用量で Day 1，Day 15，及び Day 29 に皮下投与した。検査項目として，心拍数，収縮期，拡張期，及び平均動脈圧，並びに脈圧，ECG パラメータ（PR，QT，及び QTc 間隔並びに QRS 時間），呼吸数，及び体温を測定した。ECG データ，血圧，呼吸数，及び体温は投与の 90 分以上前から，少なくとも投与 25 時間後まで継続的に測定した。Day 1，Day 15，及び Day 29 の投与後約 6 及び 25 時間（テレメトリー測定終了後）に TK 測定用の血液試料を採取し，血漿中インクリシラン濃度を測定した。

全例が試験終了まで生存し，インクリシランの投与に起因する一般状態の変化は認められなかった。ECG では，いずれの用量及び投与日においても，PR，QT，及び QTc 間隔並びに QRS 時間に統計学的に有意な変化は認められず，ECG 波形の異常及び不整脈も認められなかった。また，血圧（心拍数，収縮期，拡張期，及び平均動脈圧並びに脈圧），呼吸数，及び体温にインクリシラン投与による影響は認められなかった。投与後約 6 時間での血漿中インクリシラン濃度は概ね用量に比例して増加し，概して投与後 25 時間でも検出可能であった。Day 1，Day 15，及び Day 29 の平均血漿中インクリシラン濃度は，10 mg/kg の用量で 958～1240 ng/mL，50 mg/kg で 7697～10337 ng/mL，250 mg/kg で 33808～37154 ng/mL であった。

以上より，インクリシランの心血管系及び呼吸系に対する無作用量（NOEL）は，検討した最高用量の 250 mg/kg 以上と考えられた。

中枢神経系（CNS）に対するインクリシランの影響を評価するための独立した安全性薬理試験は実施しなかったが，サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験[2.6.6-3.3.2 項]，15 週間反復投与毒性試験[2.6.6-3.3.3 項]，及び 40 週間反復投与毒性試験[2.6.6-3.3.4 項]で神経学的評価を実施した。検査項目として，姿勢反応（固有位置感覚，踏み直り反応），脊髄神経機能（筋緊張度，屈曲反射，及び会陰反射），及び脳神経への影響（頭部運動，頭部対称性，頭部筋緊張度，顎緊張度，眼の反応，眼の対称性，眼位，眼瞼反射，及び対光反射）を評価した。

いずれのパラメータでも検討した最高用量までインクリシラン投与に関連する影響は認められなかった。

以上より，インクリシランの中枢神経系への影響に対する NOEL は，4 週間及び 15 週間投与試験では検討した最高用量である 250 mg/kg 以上，40 週間投与試験では検討した最高用量である 300 mg/kg 以上と考えられた。

3.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。しかし，臨床においてインクリシランはスタチンと併用投与される可能性があるため，インクリシランとアトルバスタチンとの併用投与による毒性試験を実施した[Table 2.6.7.1-20110258]。本試験では，インクリシランとアトルバスタチンとの併用投与による薬物動態（PK）及び薬力学（PD，血漿中 PCSK9 濃度及び血清脂質プロファイル）への影響についても検討した。その結果，インクリシランとアトルバスタチン併用投与時の PK/PD パラメータに単独投与時と比較して明らかな差は認められなかった。

4 薬物動態試験

4.1 分析法

非臨床試験において PK，PD，及び免疫原性［抗薬物抗体（ADA）］を評価するために，複数の生体試料分析法を使用した。

血漿，排泄物（尿及び糞），並びに組織（肝臓，腎臓，及び心臓）試料中のインクリシラン濃度は，液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析（LC-TOF-MS）法及び atto-probe 法を使用して定量した。LC-TOF-MS 法は，AS 鎖及び S 鎖部分を検出することによってインクリシランを定量する方法であり，その濃度は AS／S 比が 1 を超える場合は，S 鎖の濃度を二本鎖の濃度として示し，比が 1 以下の場合には，AS 鎖の濃度を二本鎖の濃度として示した[2.6.4-2.1 項]，[2.6.4-2.2 項]。サル血漿中の PCSK9 濃度，並びにラット，ウサギ，及びサル血清中の ADA［免疫グロブリン M（IgM）／免疫グロブリン G（IgG）］の存在は，酵素結合免疫測定法（ELISA）により測定した[2.6.4-2.3 項]，[2.6.4-2.4 項]。

4.2 吸収

ラット及びサルにインクリシランを 1～25 mg/kg の用量範囲で単回静脈内及び皮下投与したとき，並びに 2.5～6 mg/kg の用量範囲で反復皮下投与したときのインクリシランの PK を評価した。PK パラメータに明らかな性差は認められなかった。単回皮下投与したとき，インクリシランはラット及びサルの循環血中に吸収され，皮下投与のバイオアベイラビリティは，それぞれ 48.9% 及び 29.3%であった。この比較的低い絶対バイオアベイラビリティは，ラットに ^{14}C-インクリシランを投与した試験（4.3 項参照）において観察されたように，インクリシランが皮下投与部位に長く（放射能の半減期：約 526 時間）留まっているためと考えられた。1～25 mg/kg で皮下投与したとき，インクリシランの血漿中曝露量［最高血漿（又は組織）中薬物濃度（Cmax）及び薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）］は，両動物種で用量にほぼ比例して増加した。ラット及びサ

ルの最高薬物濃度到達時間（Tmax）はそれぞれ約 1 及び 2 時間であり，消失半減期はラットで 0.9～1.7 時間，サルで 2.2～4.3 時間であった[2.6.4-3.1 項]。反復皮下投与後の PK パラメータは単回皮下投与後と類似しており，ラット及びサルの最終投与後の Tmaxは，それぞれ約1及び2時間であり，血漿中での蓄積を示す結果は得られなかった[2.6.4-3.2 項]。

4.3 分布

電気泳動移動度シフト法（EMSA）を用いて，マウス，ラット，サル，及びヒト血漿中インクリシラン（0.5～50 µg/mL の濃度範囲）の血漿蛋白結合を *in vitro* で評価した。血漿蛋白結合率はインクリシラン濃度の低下とともに上昇し，いずれの動物種においても検討した最低濃度（0.5 µg/mL）において最高の結合率を示した。0.5 µg/mL における血漿蛋白結合率は動物種間で類似しており，87.4%（ヒト血漿）～93.1%（ラット血漿）の範囲内であった。なお，臨床用量 300 mg 投与時におけるヒト血漿中 Cmax（0.607 µg/mL）は，血漿蛋白結合を評価した最低濃度に近い範囲にある[2.6.4-4.1 項]。

^{14}C-インクリシランを用いて，ラット及びサルの組織分布を評価した。ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したとき，すべての測定時点において最も高い放射能が投与部位に確認され，続いて有効性の標的臓器である肝臓，並びに血漿からの主要排泄臓器である腎臓（皮質）に高い放射能が認められた。大部分の測定時点において，眼の水晶体，白色脂肪，骨，骨格筋，及び神経組織（脊髄及び脳）では，放射能は非常に低いか，ほとんど検出されなかった。最終の測定時点である投与後 2352 時間では，45 組織中 15 組織で放射能が定量可能であった。ほとんどの組織（45 組織中 28 組織）における放射能の Tmax は，投与後 24 時間から 72 時間の範囲で観測された。皮下投与部位，肝臓，及び腎臓中の Cmax 値は他の組織より著しく高く，AUC 値は通常，他の組織よりも少なくとも 10 倍大きかった。すべての組織からの放射能の消失は比較的遅く，半減期の値はすべての組織で 100 時間を超えていた。500 時間以上の組織中半減期は，血液（心臓，1304.7 時間），脳（延髄，1105.9 時間），眼（ブドウ膜，1070.8 時間），副腎（725.2 時間），副腎髄質（618.6 時間），脾臓（606.7 時間），脊髄（553.1 時間），胃（胃粘膜，531.6 時間），及び皮下投与部位（526.1 時間）で確認された。有効性の標的臓器である肝臓の半減期は 270.6 時間であった[2.6.4-4.3 項]。

サルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したとき，すべての測定時点において高い放射能が肝臓に確認され，続いて初期（投与後 4 時間）の時点において腎臓に高い放射能が認められた。なお，サルの試験では投与部位は測定されなかった。ラットと同様に，放射能が非常に低いか，ほとんど検出されなかった組織は眼全体及び関連する組織（水晶体及びブドウ膜）であり，神経組織（脊髄及び脳）中の放射能も非常に低く，定量限界値をわずかに上回る程度であった。Cmax を比較すると，肝臓及び腎錐体がすべての組織中で最も高い放射能を示し，どちらも同程度の値であった。次に高い放射能を示した組織は胆嚢であり，肝臓及び腎臓の約 1/4 であった。Tmax はすべての組織で 1 時間から 672 時間の範囲内であり，肝臓及び腎臓ではそれぞれ 72 及び

4時間であった。時間0から最終定量可能時間までの薬物濃度-時間曲線下面積（AUClast）を比較すると，肝臓はすべての組織中で最も高い曝露量を示し，2番目に高い値を示したリンパ節よりも約8倍大きかった。腎臓の皮質，全体，錐体，及び髄質でも高い曝露量が認められた。放射能の滞留時間が長いため，大部分の組織で正確な半減期を算出することはできなかったが，肝臓及び腎臓の半減期はそれぞれ約1980及び657時間と見積もられた。最終の測定時点（投与後1008時間）においても，すべての組織で放射能が確認された[2.6.4-4.5項]。

4.4 代謝

マウス，ラット，サル，及びヒトのプール血清及び肝S9画分を用いて，インクリシランの *in vitro* 代謝安定性を評価した。マウス，ラット，サル，及びヒトのプール血清中でインクリシランを24時間インキュベーションしたときのAS鎖の残存率はそれぞれ約85%，82%，72%，及び80%，S鎖の残存率はそれぞれ約95%，91%，91%，及び87%であった。マウス，ラット，サル，及びヒトの肝S9画分中でインクリシランを24時間インキュベーションしたときのAS鎖の残存率はそれぞれ約85%，43%，63%，及び41%，S鎖の残存率はそれぞれ約94%，64%，87%，及び71%であった[2.6.4-5.1項]。

マウス，ラット，サル，及びヒトの血清及び肝S9画分中でインキュベーションしたときの非標識インクリシランの *in vitro* 代謝プロファイル，並びにラット及びサルの血漿及び肝臓の分析によりインクリシランの *in vivo* 代謝プロファイルを評価した[2.6.4-5.1項]，[2.6.4-5.2.1項]。インクリシランは非常に安定であり，二本鎖未変化体から派生した完全長のAS鎖及びS鎖がすべての試験系において主要成分として観察され，各生体試料中で認められた代謝は限定的であった。主要な代謝物は，AS鎖の3’及び5’末端から1つのヌクレオチドが切断されて生成したAS(n-1)3’及びAS(n-1)5’であった。肝S9画分中でより長時間インキュベーションしたとき，AS鎖のより広範な代謝が認められ，4～5のヌクレオチドが5’末端から切断したAS(n-4)5’及びAS(n-5)5’が生成し，さらに広範囲の代謝は肝臓中（*in vivo*）で確認された［AS(n-6)5’及びAS(n-7)5’］。初期の測定時点では，S鎖の代謝物は観察されなかった。これは，3’末端のGalNAc残基がエキソヌクレアーゼによるS鎖の代謝から保護しているためと考えられる。後期の測定時点では，S鎖からGalNAc残基及び関連するリンカー部分の切断が観測され，エキソヌクレアーゼによる3’末端への連続的な作用により断片的な代謝物が生成した（肝臓中，*in vivo*）。

^{14}C-インクリシランをラット及びサルに投与したときの *in vivo* 代謝プロファイルについても検討した[2.6.4-5.2.2項]，[2.6.4-5.2.3項]。

ラットでは7種類の生体試料（血漿，尿，胆汁，糞，肝臓，腎臓，及び投与部位）で合計18種類のAS鎖代謝物が同定され，それらは主に5’及び3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。代謝物のサイズは，AS(n-1)からAS(n-10)の範囲であった。AS(n-1)は，AS鎖未変化体と比較して極めて低濃度ではあるが，すべての生体試料中で一貫して検出可能な唯一の代謝物であった。各生体試料中のAS(n-1)のCmax値は，AS鎖未変化体比として，血漿で

1/27.5，尿で 1/17.6，胆汁で 1/7.9，肝臓で 1/35.1，及び腎臓で 1/62.4 であった。AS(n-2)5’及び AS(n-2)3’は，どの測定時点においても，血漿，糞，胆汁，肝臓，及び腎臓中に定量可能な濃度で検出されなかった。AS(n-2)代謝物は一部の測定時点で尿中に検出されたが，定量限界（15 ng/mL）をわずかに超える程度の濃度であった。他の AS 鎖代謝物は微量に検出されたのみであり，代謝物プロファイル全体での存在比率は小さかった。

サルでは 5 種類の生体試料（血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓）で合計 35 種類の AS 鎖代謝物が同定され，それらは主に 5’及び 3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。AS(n-1)から AS(n-19)に至る範囲の代謝物が観察された。糞では定量可能な未変化体又は代謝物が確認されなかったが，それ以外のすべての生体試料中で一貫して検出及び定量可能な唯一の代謝物は AS(n-1)であった。代謝物 AS(n-1)は，常に AS 鎖未変化体よりも低い濃度であった。各生体試料中の AS(n-1)濃度の Cmax 値は，AS 鎖未変化体比として，血漿で 1/24，尿で 1/2.5，肝臓で 1/9.5，及び腎臓で 1/13.7 であった。代謝物 AS(n-2)5’は非常に低濃度で尿及び肝臓中にのみ検出され，AS(n-2)3’は定量限界（15 ng/mL）をわずかに上回る濃度で肝臓中にのみ認められた。他の AS 鎖代謝物は微量に検出されたのみであり，代謝プロファイル全体での存在比率は小さかった。

ラットでは検討した 7 種類の生体試料全体で合計 12 種類の S 鎖代謝物が同定され，サルでは検討した 5 種類の生体試料全体で 20 種類の S 鎖代謝物が同定された。両動物種ともに，S 鎖代謝物の大部分は，3’末端の 3 つの GalNAc 残基の切断及び関連する 3 つのリンカー部分の切断によって生成した代謝物であった。さらに，ラットでは S(n-6)3’，サルでは S(n-14)3’に至る 3’末端からの末端ヌクレオチド切断により生成した微量の代謝物が検出された。サルでは，S 鎖の微量代謝物は主に尿及び肝臓に検出されたが，血漿，糞，及び腎臓では確認されなかった。

4.5 排泄

放射性標識 ^{14}C-インクリシランを用いたマスバランス試験の結果，ラット及びサル血漿からの主要な消失経路は腎排泄であることが示され，ラットでは糞中にもインクリシランが排泄されることが示された。投与後 7 日間で，投与放射能量の約 29%（ラット）及び 32%（サル）が尿中に回収され，23%（ラット）及び 1.6%（サル）が糞中に回収された。投与後 96 時間のラット屍体中の残存放射能量は約 39%であった。このことは，インクリシランの長い組織滞留時間と関連していると考えられた[2.6.4-6.1 項]，[2.6.4-6.2 項]。

4.6 薬物動態学的薬物相互作用

インクリシランの薬物相互作用の可能性を，規制ガイダンスに従って，各種の *in vitro* 評価法［たとえば，ヒト肝ミクロソーム（HLM），ヒト肝細胞，トランスフェクト細胞株，及び膜小胞］を用いて検討した[2.6.4-7.1 項]，[2.6.4-7.2 項]。インクリシランは，プールした HLM を用いた試験において 7 種類のヒト CYP アイソフォーム（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5）に対して直接的，又は時間依存的阻害作用を示さなかった。インク

リシランは，培養ヒト肝細胞において CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 に対する誘導作用を示さなかった。インクリシランは，トランスポーターである多剤耐性蛋白質 1（MDR1），乳癌耐性蛋白質（BCRP），有機アニオントランスポーター1（OAT1），OAT3，有機カチオントランスポーター1（OCT1），OCT2，OCT3，有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B1（OATP1B1），OATP1B3，multidrug and toxin extrusion 1（MATE1），MATE2-K，及び bile salt export pump（BSEP）の基質ではなく，これらに対する阻害作用も示さなかった。

CYP 及びトランスポーターに関する試験結果から，インクリシランが薬物相互作用に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。したがって，*in vivo* 薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

5 毒性試験

インクリシランの非臨床安全性試験として，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，及びその他の毒性試験（免疫刺激性，併用投与毒性）を実施し，潜在的毒性を評価した。

反復投与毒性試験として，ラットを用いた 4，15，及び 29 週間反復投与毒性試験（GLP 適用），並びにサルを用いた 4，15，及び 40 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）を実施した。すべての試験で TK 試験を実施し，ラットを用いた 15 及び 29 週間投与試験，サルを用いた 15 及び 40 週間投与試験では ADA 検査を実施した。

遺伝毒性試験として，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験，及びラット用いた骨髄小核試験を実施し，がん原性試験として，rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験及びラットを用いた 2 年間がん原性試験を実施した。

生殖発生毒性試験として，ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験を実施した。

独立した局所刺激性試験は実施しなかったが，反復投与毒性試験で投与部位の肉眼的観察及び病理組織学的検査を実施し，局所刺激性を評価した。インクリシランは臨床においてスタチンとの併用が予想されるため，サルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験（GLP 適用）を実施し，併用投与により発現する毒性について検討した。また，インクリシランの免疫刺激性及び免疫毒性を評価するため，マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験，サルを用いた 4 週間投与用量設定試験にて補体活性化及び血清／血漿中サイトカイン濃度の測定，サルを用いた併用投与毒性試験にて T 細胞依存性抗体産生（TDAR）試験を実施した。毒性試験一覧を Table 5-1 に示す。

インクリシランは，げっ歯類，ウサギ，及びサルで薬理活性を示すことから，毒性試験の供試動物としてマウス，ラット，ウサギ，及びカニクイザルを選択した。投与経路には臨床投与経路

である皮下投与を選択し，投与スケジュールは想定される臨床投与方法（2～3 回／年）よりも高頻度となる 4 週間に 1 回以上とした。

Table 5-1　　毒性試験一覧

試験の種類		投与方法	試験系
反復投与毒性	4 週間	皮下，QW / Q2W	マウス，ラット，サル
	15 週間	皮下，Q2W / Q4W	ラット，サル
	29 週間	皮下，Q4W	ラット
	40 週間	皮下，Q4W	サル
遺伝毒性	復帰突然変異	*in vitro*	ネズミチフス菌，大腸菌
	染色体異常	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球
	小核	皮下，単回	ラット
がん原性	58 日間	皮下，Q4W	rasH2 野生型マウス
	26 週間	皮下，Q4W	トランスジェニックマウス
	2 年間	皮下，Q4W	ラット
生殖発生毒性	FEED	皮下，Q2W / Q4D / QD	ラット
	EFD	皮下，QD	ラット，ウサギ
	PPND	皮下，QD	ラット
その他の毒性	免疫刺激性	皮下，単回	マウス
	併用投与毒性	インクリシラン：皮下，Q4W アトルバスタチン：経口，QD	サル

EFD：胚・胎児発生に関する試験，FEED：受胎能及び初期胚発生に関する試験，PPND：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，QD：1 日 1 回，Q4D：4 日間に 1 回，QW：1 週間に 1 回，Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

すべての試験においてインクリシランの良好な忍容性がみられ，用量制限毒性は認められなかった。ラット及びサルを用いた長期反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量を，ヒト臨床用量（300 mg）における曝露量と比較すると，Cmax 比はラットで 85 倍，サルで 90 倍，AUC 比はラットで 46 倍，サルで 94 倍であった。血液生化学的検査では，主な変化としてインクリシランの薬理作用に関連した脂質プロファイルの変化がみられ，LDL-C 及び総コレステロールの低値が認められた。病理組織学的検査では，ラットの肝臓で肝細胞空胞化，サルのリンパ節で空胞化マクロファージの集簇，並びにサルの肝細胞及びラットの腎尿細管で好塩基性顆粒が認められた。臨床検査でこれらの変化に関連した肝酵素及び尿検査パラメータ等の変化はみられなかったこと，休薬による回復傾向が認められたこと，並びにオリゴヌクレオチドのクラスエフェクト（Henry et al. 2008）と一致していることから，これらの病理組織学的変化は毒性変化ではないと考えられた。投与部位におけるインクリシランの忍容性は良好であり，ごく軽度の紅斑及びごく軽度から軽度の浮腫が一過性にみられたのみであった。

インクリシランに遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。生殖発生毒性試験では，いずれの試験においても生殖発生毒性を示唆する結果は認められなかった。インクリシランに免疫刺激性及び免疫毒性はみられず，マウス又はサルにおいて炎症性サイトカイン誘発性及び補体活性化作用は認められなかった。また，キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）免疫後の TDAR に対するインクリシランの影響は認められなかった。反復投与によりごく一部のサルに低抗体価の ADA 産生が認められたが，用量依存性はみられず，TK 又は PD（PCSK9 及び LDL-C）パラメータへの影響は認められなかった。サルを用いたインクリシランとアトルバスタチンの併用投与毒性試験では，各単剤群と比較して，併用投与による未知の毒性の発現又は既知の毒性の増悪は認められなかった。

非臨床毒性試験で使用した製剤に含まれる不純物は，臨床試験で使用した製剤及び市販用製剤の規格案と同様の不純物プロファイルであることから，不純物の安全性については毒性試験において評価されたものと考えられた。

以上のことから，非臨床毒性試験の成績は，添付文書で規定される用法・用量の範囲内におけるインクリシランの患者への使用を支持するものと考える。

5.1 単回投与毒性試験

インクリシランの急性毒性を評価するための独立した単回投与毒性試験は実施しなかった。単回投与による試験は 2 試験実施され，ラットを用いた骨髄小核試験では，インクリシランを 500, 1000，及び 2000 mg/kg の用量で単回皮下投与し，雄マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験では，30 及び 100 mg/kg の用量で単回皮下投与した。いずれの試験においても死亡及び一般状態の変化は認められなかった。また，マウス，ラット，及びサルを用いた間欠皮下投与による反復投与毒性試験では，マウスでは 1500 mg/kg，ラット及びサルでは 300 mg/kg までの用量で投薬に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。

5.2 反復投与毒性試験

インクリシランの反復投与毒性試験として，マウスを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験，ラットを用いた 29 週間までの反復皮下投与毒性試験，カニクイザルを用いた 40 週間までの反復皮下投与毒性試験を実施した。反復投与毒性試験一覧を Table 5-2 に示す。

Table 5-2 反復投与毒性試験一覧

動物種 / 系統	投与期間 (回復性試験)	投与経路	動物数 / 群	用量	試験番号
マウス / CD-1	4 週間 DRF	皮下	雄 10, 雌 10	0, 30, 100, 300 mg/kg QW	8297717
ラット / SD	4 週間 DRF	皮下	雄 5, 雌 5	0, 30, 100, 300 mg/kg QW	PCSSC-NCD14-001
	4 週間 (8 週間)	皮下	雄 15, 雌 15	0, 10, 50, 250 mg/kg Q2W; 10 mg/kg QW	8302576

動物種 / 系統	投与期間 (回復性試験)	投与経路	動物数 / 群	用量	試験番号
	15 週間 (8 週間)	皮下	雄 15, 雌 15	0, 10, 50, 250 mg/kg Q4W; 25 mg/kg Q2W	8297015
	29 週間 (13 週間)	皮下	雄 20, 雌 20	0, 10, 50, 250 mg/kg Q4W	5001351

動物種 / 系統	投与期間 (回復性試験)	投与経路	動物数 / 群	用量	試験番号
カニクイザル	4 週間 DRF	皮下	雄 3	0, 30, 100, 300 mg/kg QW	8297013
	4 週間 (8 週間)	皮下	雄 5, 雌 5	0, 10, 50, 250 mg/kg Q2W; 30 mg/kg QW	8302575
	15 週間 (8 週間)	皮下	雄 5, 雌 5	0, 10, 50, 250 mg/kg Q4W; 125 mg/kg Q2W	8297016
	40 週間 (13 週間)	皮下	雄 4, 雌 4	0, 30, 100, 300 mg/kg Q4W	5001352

DRF：用量設定試験，QW：1 週間に 1 回，Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

5.2.1 ラットを用いた反復投与毒性試験

4週間反復投与毒性試験及び8週間回復性試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg の用量で 2 週間に 1 回（Q2W），並びに 10 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回（QW），反復皮下投与した。血液生化学的検査では，すべての投薬群で LDL-C，HDL-C，及び総コレステロールの低値，250 mg/kg Q2W 群の雌でアルカリホスファターゼ（ALP）の高値がみられ，器官重量の変化として 250 mg/kg Q2W 群の雌で肝臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，50 及び 250 mg/kg Q2W 群，並びに 10 mg/kg QW 群で肝細胞空胞化，50 及び 250 mg/kg Q2W 群で腎尿細管に好塩基性顆粒が認められた。いずれの変化も，休薬による回復又は回復傾向が認められた。また，これらの病理組織学的変化には，関連する臨床検査値の変動はみられず，休薬による回復傾向が認められたことから，毒性変化ではないと判断した。無毒性量は 250 mg/kg Q2W と考えられた。

15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg の用量で 4 週間に 1 回（Q4W），並びに 25 mg/kg Q2W の用量で反復皮下投与した。血液生化学的検査では，すべての投薬群で LDL-C，HDL-C，及び総コレステロールの低値，250 mg/kg Q4W 群及び 25 mg/kg Q2W 群の雄で総蛋白の低値，250 mg/kg Q4W 群の雄でカリウムの低値が認められた。病理組織学的検査では，50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 25 mg/kg Q2W 群の腎尿細管に好塩基性顆粒，250 mg/kg Q4W 群の腎尿細管上皮細胞の変性，すべての投薬群の雄，50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 25 mg/kg Q2W 群の雌の肝臓で肝細胞空胞化，50 及び 250 mg/kg Q4W 群，25 mg/kg Q2W 群の雄，並びに 250 mg/kg Q4W 群の雌の肝臓で単核細胞浸潤の重症度の増加が認められた。腎臓及び肝臓の病理組織学的変化には，休薬による回復又は回復傾向が認められ，関連する臨床検査値の変動がみられないことから，毒性変化ではないと判断した。本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

29 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg Q4W の用量で反復皮下投与した。臨床検査では，250 mg/kg Q4W 群の雌で血小板数の低値，250 mg/kg Q4W 群の雄及び 50 mg/kg Q4W 以上の群の雌で LDL-C の低値，250 mg/kg Q4W 群

で ALP の高値，250 mg/kg Q4W 群の雄でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の高値が認められた。13 週間回復性試験終了時の検査では，いずれの検査値も対照群と同等であった。剖検では，50 mg/kg Q4W 以上の群の雄で肝臓の淡色化，250 mg/kg Q4W 群の雄及び 10 mg/kg Q4W 以上の群の雌で投与部位の暗色巣又は暗色化が認められた。病理組織学的検査では，50 mg/kg Q4W 以上の群の腎尿細管に好塩基性顆粒，250 mg/kg Q4W 群で腎尿細管上皮細胞の空胞化，10 mg/kg Q4W 以上の群の肝臓で肝細胞空胞化，50 mg/kg Q4W 以上の群の投与部位で血管周囲単核球浸潤が認められた。いずれの変化においても休薬による回復又は回復傾向が認められた。本試験で認められた肝臓及び腎臓の病理組織学的変化は，肝酵素又は尿検査パラメータに重篤な変化はみられなかったことから，毒性変化ではないと判断した。本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

5.2.2 サルを用いた反復投与毒性試験

4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg Q2W，並びに 30 mg/kg QW の用量で反復皮下投与した。血液生化学的検査では，すべての投薬群で LDL-C 及び総コレステロールの低値が認められ，250 mg/kg Q2W 群では ALP の高値が認められた。病理組織学的検査では，すべての投薬群のリンパ節（下顎，腸間膜，腋窩，及び鼠径）の類洞で空胞化マクロファージの集簇が認められた。発現頻度及び重症度には用量依存性はみられなかった。いずれの変化も休薬による回復又は回復傾向が認められた。これらの病理組織学的変化は関連する臨床検査値の変動を伴わず，休薬による回復傾向が認められたことから，毒性変化ではないと考えられた。本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q2W と考えられた。

15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg Q4W，並びに 125 mg/kg Q2W の用量で反復皮下投与した。血液生化学的検査では，すべての投薬群で LDL-C 及び総コレステロールの低値が回復性試験終了時まで認められた。PCSK9 測定では，すべての投薬群で血漿中 PCSK9 濃度の投与前値からの低下が認められ，回復性試験終了時まで持続した。病理組織学的検査では，すべての投薬群でリンパ節（下顎，腸間膜，腋窩，及び鼠径）の類洞に空胞化マクロファージの集簇，50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 125 mg/kg Q2W 群の肝臓で肝細胞細胞質に好塩基性顆粒が認められた。リンパ節の変化の発現頻度及び重症度に用量依存性は認められなかった。これらの病理組織学的変化は休薬によりいずれも回復又は回復傾向を示した。空胞化マクロファージ集簇及び肝細胞好塩基性化には関連する臨床検査値の変動がみられなかったことから，毒性変化ではないと判断した。ADA 検査では，投与期間後半にインクリシラン投薬群の 5 例（10 mg/kg Q4W 群の雄 1 例，125 mg/kg Q2W 群の雌 1 例，250 mg/kg Q4W 群の雄 2 例及び雌 1 例）に ADA 産生が認められた。ADA 陽性例においても TK 及び PD パラメータへの影響は認められなかった。本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

40 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験では，インクリシランを 30，100，及び 300 mg/kg Q4W の用量で反復皮下投与した。血液生化学的検査では，すべての投薬群で LDL-C 及び総コレステロールの低値がみられ，回復性試験終了時まで認められた。100 mg/kg Q4W 以上の群の雄で ALP の高値，雌で ALT の高値が認められたが，いずれも軽度の変化であることから，毒性変化ではないと考えられた。血漿中 PCSK9 濃度は，すべての投薬群で投与前値からの顕著な低下を示し，回復性試験終了時まで持続した。病理組織学的検査では，すべての投薬群でリンパ節［下顎，深頸，腋窩，腸間膜，及び気管気管支（剖検異常例のみ）］の類洞に空胞化マクロファージの集簇，肝細胞の細胞質に好塩基性顆粒が認められた。これらの変化は，回復性試験終了時に回復傾向を示した。いずれの変化も重症度が低く，関連する変性性変化が認められないことから，毒性変化ではないと考えられた。TDAR 試験では，30 mg/kg Q4W 以上の群で IgM 応答の低下，300 mg/kg Q4W 群で IgG 応答の低下が認められたが，回復性試験終了時の検査ではいずれも対照群と同等の反応が認められた。ADA 検査では，投与期間後半に 100 mg/kg Q4W 群の雌 1 例及び 300 mg/kg Q4W 群の雌 2 例で ADA 陽性が認められた。これらの動物の全身曝露量及び PCSK9 濃度に ADA 産生の影響は認められなかった。本試験の無毒性量は 300 mg/kg Q4W と考えられた。

上記 3 試験のサルを用いた反復投与毒性試験では，すべての試験で神経学的検査を覚醒下で実施した。いずれの検査においても，インクリシランに関連した変化は認められなかった。

5.3 遺伝毒性試験

インクリシランの遺伝毒性を，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験，及びラットを用いた骨髄小核試験により評価した。遺伝子突然変異誘発性，染色体異常誘発性，及び小核誘発性は認められず，インクリシランに遺伝毒性はないと考えられた。

5.4 がん原性試験

インクリシランのがん原性を，rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験及び SD 系ラットを用いた 2 年間がん原性試験を実施し評価した。

rasH2 マウスを用いたがん原性試験では，インクリシランを 300，600，及び 1500 mg/kg Q4W の用量で 26 週間反復皮下投与（計 7 回）した。生存率及び触知可能腫瘤の発現率にインクリシラン投与の影響はみられず，剖検及び病理組織学的検査で投薬による異常は認められなかった。対照群を含むすべての投与群で，肺における腫瘍性病変（細気管支・肺胞腺腫及び癌）の発現頻度の高値がみられたが，この系統及び週齢のマウスで高頻度にみられる腫瘍であり，対照群でも同頻度に発現していることから，自然発生性腫瘍と考えられた。以上のとおり，rasH2 マウスを用いたがん原性試験ではインクリシランのがん原性を示唆する腫瘍性病変は認められなかった。

ラットを用いたがん原性試験では，インクリシランを 40，95，及び 250 mg/kg Q4W の用量で 2 年間反復皮下投与した。本試験ではすべての投与群で投与 100 週以前に生存動物数が 15 例以下と

なったため，予定していた 104 週間の投与期間以前に投与を中止し，早期試験終了とした。生存動物数には性差がみられ，雌ではすべての群で，雄の最初の群よりも早期に試験終了した。雌雄ともに生存期間に用量関連性はみられず，正常な生物学的変動を反映したものと考えられた。病理組織学的検査では，腫瘍性増殖性変化として，雌で良性乳腺線維腺腫の発現頻度の増加が認められたが，公表背景値の範囲内であった。なお，ヒトでは良性乳腺線維腺腫は前腫瘍性病変とは考えられていないため，ヒトへの外挿性は低いと考えられた。また，非増殖性病変が肝臓，腎臓，及び投与部位に認められた。肝臓の変化として肝細胞空胞化，肝細胞肥大，単細胞壊死，嚢胞性変性（巣状性／多巣性），クッパー細胞の褐色色素顆粒蓄積，及び肝細胞の細胞質内硝子体封入がみられた。腎臓の変化として尿細管に好塩基性顆粒がみられ，投与部位の変化として灰色色素顆粒を含むマクロファージの集簇が認められた。以上のとおり，ラットを用いたがん原性試験では，インクリシランのがん原性を示唆する腫瘍性病変は認められなかった。

5.5 生殖発生毒性試験

インクリシランの生殖発生毒性を，ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験により評価した。

5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雄授胎能試験では，インクリシランを 10，50，及び 250 mg/kg Q2W の用量で，交配前 29 日から交配期間中及び交配後 14 日間（投与日：試験 1，15，29，43，及び 57 日）反復皮下投与した。本試験では雄親動物に毒性変化はみられず，精子形成，授胎能，及び初期胚発生への影響は認められなかった。雄の一般毒性，授胎能，及び生殖機能，並びに初期胚発生に対する無毒性量は 250 mg/kg Q2W と考えられた。

雌受胎能試験では，インクリシランを交配前及び交配期間中は 10，50，及び 250 mg/kg の用量で 4 日間に 1 回（Q4D），交配前 14 日から交配期間中（試験 1，5，9，17，21，及び 25 日），及び妊娠期間中は 10，50，及び 150 mg/kg の用量で，1 日 1 回（QD），妊娠 0 日から妊娠 7 日まで反復皮下投与した。妊娠 13 日に帝王切開し，子宮内検査を実施した。本試験では母動物毒性はみられず，性周期，交尾所要日数，交配率，受胎率，及び妊娠率，並びに卵巣及び子宮内パラメータ（黄体数及び分布，着床数，生存及び死亡胚数，吸収，着床前及び着床後胚死亡率）に影響は認められなかった。雌の一般毒性，受胎能，及び生殖機能，並びに初期胚発生に対する無毒性量は 250 mg/kg Q4D / 150 mg/kg QD と考えられた。

5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，インクリシランを 50，100，及び 150 mg/kg QD の用量で，妊娠 6 日から 17 日に反復皮下投与した。妊娠 21 日に主試験動物を帝王切開し，剖検，子宮内検査，及び胎児検査を実施した。本試験では，胚致死性（胚・胎児死亡），胎児毒性

（発生），及び催奇形性は認められなかった。胎児血漿中にインクリシランが検出され，血漿中濃度は概ね用量増加に伴う増加を示したが，母動物の血漿中濃度と比較して低値（1/65～1/154）であった。いずれの群でも胎児の肝臓中にインクリシランは検出されなかった。本試験の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 150 mg/kg QD と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，インクリシランを 50，100，及び 150 mg/kg QD の用量で，妊娠 7 日から 19 日に反復皮下投与した。妊娠 29 日に主試験動物を帝王切開し，剖検，子宮内検査，及び胎児検査を実施した。本試験では，胚致死性（胚・胎児死亡），胎児毒性（発生），及び催奇形性は認められず，胎児の血漿及び肝臓中にインクリシランはほとんど検出されなかった。本試験の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 150 mg/kg QD と考えられた。

5.5.3 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

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では，インクリシランを 50，100，及び 150 mg/kg QD の用量で，妊娠 6 日から授乳 20 日までの期間，反復皮下投与した。TK 用動物では，同用量を妊娠 6 日から授乳 11 日までの期間，反復皮下投与した。本試験では，F0 雌動物における忍容性は高く，母動物毒性及び母動物の機能への影響は認められなかった。また，F1 児の生存，成長，身体的及び反射的発達，行動，並びに生殖能力に影響は認められなかった。すべての投薬群で授乳 11 日の母動物血漿中及び乳汁中にインクリシランが検出されたが，F1 児の血漿中には認められなかった。本試験における母動物及び F1 出生児に対する無毒性量は 150 mg/kg QD と考えられた。

5.5.4 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

5.5.5 生殖発生毒性試験の総合評価

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験において，インクリシランの生殖発生毒性を示唆する変化は認められなかった。受胎能，精子形成，性周期，並びに卵巣及び子宮パラメータに対するインクリシラン投与の影響はみられず，インクリシランに胚致死性，胎児毒性，及び催奇形性は認められなかった。F1 児の発達（生存，成長，身体的発達，反射，行動，及び生殖能力）に対するインクリシランの影響は認められなかった。ラットでは胎児の血漿中に低濃度のインクリシランがみられたが，肝臓中には認められなかった。ウサギでは，胎児の血漿及び肝臓中にインクリシランはほとんど検出されなかった。ラットでは F0 母動物の乳汁中にインクリシランが確認されたが，F1 出生児の血漿及び肝臓中には検出されなかった。

5.6 曝露量の比較

毒性試験の各用量における曝露量と臨床用量（300 mg）を単回投与したときのヒト曝露量との比較を Table 5-3に示す。ヒト曝露量は，日本人患者を対象とした ORION-15試験の単回投与後の PK パラメータの平均値を使用した。臨床では，初回及び 3 ヵ月後にインクリシランを投与し，その後 6 ヵ月ごとに投与した。反復投与毒性試験での投与頻度は 4 週間に 1 回以上であり，すべての試験でヒト曝露量を上回る曝露が認められた。長期反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量とヒト曝露量とを比較すると，Cmax 比はラットで 85 倍，サルで 90 倍，AUC 比はラットで 46 倍，サルで 94 倍であった。受胎能及び初期胚発生に関する試験における無毒性量の曝露量（AUC）との比較では，雄で 18 倍，雌で 8 倍であり，胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における曝露量（AUC）との比較では，ラットで 6 倍，ウサギで 16 倍であった。

Table 5-3 毒性試験における曝露量と臨床試験におけるヒト曝露量との比較

試験系	試験の種類 投与期間 (投与頻度)	検査日	用量 (mg/kg)[a]	Cmax (µg/mL)	AUClast (µg.h/mL)	曝露量比		試験番号
						Cmax 比	AUC 比	
ヒト[b]	(QD)	投与 1 日	5[c]	0.607	9.48[d]	-	-	
rasH2 WT マウス	DRF 58 日間 (Q4W)	投与 57 日	375 750 1500	165 287 612	369 885 2045	272 473 1008	38.9 93.4 216	8002111
ラット	反復投与 4 週間 (Q2W)	投与 29 日	10 50 250	1.58 9.49 44.7	4.16 37.1 335	2.60 15.6 73.6	0.44 3.91 35.3	8302576
ラット	反復投与 15 週間 (Q4W)	投与 85 日	10 50 250	1.28 6.27 40.4	28.6 62.1 393	2.11 10.3 66.6	3.02 6.55 41.5	8297015
ラット	反復投与 29 週間 (Q4W)	投与 197 日	10 50 250	1.48 17.4 51.4	4.27 48.7 438	2.44 28.7 84.7	0.450 5.14 46.2	5001351
ラット	がん原性 104 週間 (Q4W)	投与 197 日	40 95 250	6.49 19.5 45.1	44.6 150 484	10.7 32.1 74.3	4.70 15.8 51.1	1016-1021
雄ラット	FEED 29 日間 (Q2W)	投与 29 日	10 50 250	1.28 11.7 66.8	5.11 47.3 352	2.11 19.3 110	0.539 4.99 37.1	9001068
雌ラット	FEED[c]	妊娠 7 日	10 / 10 50 / 50 250 / 150	1.41 18.7 36.7	4.18 49.4 163	2.32 30.8 60.5	0.441 5.21 17.2	9001069
ラット	EFD GD 6～17 (QD)	妊娠 17 日	50 100 150	7.81 31.6 30.8	29.7 94.3 128	12.9 52.1 50.7	3.13 9.95 13.5	9001072

試験系	試験の種類 投与期間 (投与頻度)	検査日	用量 (mg/kg)[a]	Cmax (µg/mL)	AUClast (µg.h/mL)	曝露量比		試験番号
						Cmax 比	AUC 比	
ウサギ	EFD GD 7～19 (QD)	妊娠 19 日	50 100 150	12.3 21.7 25.2	53.4 193 314	20.3 35.7 41.5	5.63 20.4 33.1	9001073
サル	反復投与 4 週間 (Q2W)	投与 29 日	10 50 250	1.65 12.9 50.0	9.61 103 1030	2.72 21.3 82.4	1.01 10.9 109	8302575
サル	反復投与 15 週間 (Q4W)	投与 85 日	10 50 250	1.27 7.05 40.6	7.25 87.4 578	2.09 11.6 66.9	0.76 9.22 61.0	8297016
サル	反復投与 40 週間 (Q4W)	投与 281 日	30 100 300	8.01 20.1 54.6	82.5[f] 283[f] 891[f]	13.2 33.1 90.0	8.70 29.9 94.0	5001352

Source: Table 2.6.7.10A-8002111, Table 2.6.7.7A-8302576, Table 2.6.7.7B-8297015, Table 2.6.7.7C-5001351, Table 2.6.7.10C-1016-1021, Table 2.6.7.12A-9001068, Table 2.6.7.12B-9001069, Table 2.6.7.13A-9001072, Table 2.6.7.13B-9001073, Table 2.6.7.7D-8302575, Table 2.6.7.7E-8297016, Table 2.6.7.7F-5001352

DRF：用量設定試験，EFD：胚・胎児発生に関する試験，FEED：受胎能及び初期胚発生に関する試験，GD xx：妊娠 xx 日，QD：1 日 1 回，Q4D：4 日間に 1 回，Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

a：下線は無毒性量を示す

b：日本人患者を対象とした第 II 相臨床試験（ORION-15，n = 8）の平均値

c：用量は 300 mg（体重を 60 kg として換算）

d：AUC0-24h

e：交配前 14 日～交配期間中は 250 mg/kg Q4D，GD 0～7 は 150 mg/kg QD 投与

f：AUC0-48h

5.7 局所刺激性試験

インクリシランの独立した局所刺激性試験は実施しなかった。ラット及びカニクイザルを用いた毒性試験（GLP 適用）では，Draize 変法による投与部位の肉眼的観察，剖検，及び病理組織学的検査を実施した。

ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では，インクリシランに関連した投与部位の変化は非常に限定的であった。ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験では，投与部位にごく軽度の紅斑又はごく軽度から軽度の浮腫が認められた。いずれも一過性で重症度の低い変化であり，毒性変化ではないと考えられた。剖検では投与部位の変色がみられ，病理組織学的検査では出血又は血管周囲単核細胞浸潤の発現頻度及び重症度の増加が認められた。いずれの変化も休薬により回復した。4 及び 15 週間投与試験では，投薬による毒性学的意義のある投与部位の変化は認められなかった。

サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験では，高用量群の雌の投与部位にごく軽度の紅斑又はごく軽度の浮腫が一過性にみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。4 及び 15 週間投与試験では投与部位の変化は認められなかった。

以上のとおり，ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において，インクリシランの投与部位における忍容性が確認された。

5.8 その他の毒性試験

5.8.1 免疫刺激作用に関する探索的試験

インクリシランを含む 5 種類の siRNA を 30 及び 100 mg/kg の用量で CD1 系マウスに単回皮下投与し，潜在的な免疫刺激作用を評価した。投与 4 時間後に採血し，血清中サイトカイン［granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)，IL-6，interferon gamma-induced protein 10 (IP-10)，keratinocyte chemoattractant (KC)，monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)，及び tumor necrosis factor alpha (TNF-α)］濃度を測定した。試験の結果，いずれの用量においてもサイトカイン濃度に投薬の影響は認められず，インクリシランに免疫刺激作用（炎症誘発作用）はないと考えられた。

5.8.2 アトルバスタチンとの併用投与毒性試験

インクリシランは臨床でスタチンとの併用投与が予想されるため，サルを用いたアトルバスタチンとの 85 日間併用投与毒性試験を実施し，併用投与による潜在的毒性を評価した。本試験では，インクリシラン製剤を 4 週間に 1 回（計 4 回）皮下投与，アトルバスタチンを 1 日 1 回経口投与により，カニクイザルに 85 日間反復投与した。投与期間終了後，13 週間回復性試験により回復性を検討した。群構成を Table 5-4 に示す。なお，アトルバスタチンの用量は，40 mg/kg QD で毒性変化がみられたため，投与 15 又は 16 日から 25 mg/kg QD に減量した。

Table 5-4 群構成

群	被験物質	用量 (mg/kg)	動物数	
			主試験	回復性試験
1	媒体	0 + 0	雄 5，雌 5	雄 3，雌 3
2	アトルバスタチン	0 + 40 / 25	雄 5，雌 5	雄 3，雌 3
3	インクリシラン + アトルバスタチン	30 + 40 / 25	雄 5，雌 5	雄 0，雌 0
4	インクリシラン + アトルバスタチン	100 + 40 / 25	雄 5，雌 5	雄 0，雌 0
5	インクリシラン	300 + 0	雄 5，雌 5	雄 3，雌 3
6	インクリシラン + アトルバスタチン	300 + 40 / 25	雄 5，雌 5	雄 3，雌 3

血液生化学的検査では，インクリシラン及びアトルバスタチンの薬理作用に関連した変化として，すべての投薬群で LDL-C，HDL-C，総コレステロール，及びトリグリセリドの低値が概ね用量依存的に認められた。インクリシラン 300 mg/kg Q4W 群（5 群）では，HDL-C の変化がみられ

なかったことを除き，併用投与群と同様の変化が認められた。アトルバスタチン単剤群（2 群）では，HDL-C及び総コレステロールの低値が認められた。13週間回復性試験終了後には，すべてのインクリシラン投与群で LDL-C を除く脂質パラメータの回復又は回復傾向が認められた。100 mg/kg Q4W 以上のインクリシラン群（4，5，及び 6 群）で ALP の高値がみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。アトルバスタチン単剤群（2 群）では，PCSK9 濃度の投与前値からの顕著な増加が認められた。本変化はインクリシラン投与により完全に阻害され，すべてのインクリシラン投与群（3，4，5，及び 6 群）で，PCSK9 濃度の投与前値からの低下が認められた。リンパ球イムノフェノタイピング及び TDAR 試験では，インクリシラン又はアトルバスタチン投与の影響は認められず，免疫毒性がないことが示唆された。病理組織学的検査では，30 mg/kg Q4W以上のインクリシラン群でリンパ節，肝臓（クッパー細胞），及び投与部位等の組織に好塩基性顆粒がみられ，100 mg/kg Q4W 以上の群の一部の個体では，副腎，前立腺，腎臓（尿細管内腔），及び心臓でも好塩基性顆粒が認められた。好塩基性顆粒は，重症度が低く，変性性変化はみられず，関連する臨床検査値の変化が認められていないことから，毒性変化ではないと考えられた。13 週間回復性試験終了時には，発現頻度及び重量度の低下がみられ，回復傾向が示唆された。TK 試験では，アトルバスタチン及びインクリシランの TK パラメータに対する併用投与の影響は認められなかった。

以上のとおり，インクリシラン及びアトルバスタチン投与により薬理作用による脂質パラメータの低下がみられ，それぞれの単剤投与に比較して併用投与による増強が確認された。アトルバスタチン単剤群では PCSK9 濃度の増加がみられたが，インクリシラン投与では単剤投与群，併用投与群のいずれも PCSK9 濃度が低下した。これらの結果は，高用量のスタチン存在下においてもインクリシランが PCSK9 濃度を低下させることを示しており，単剤投与に比較して，インクリシランとアトルバスタチンの併用投与によるさらなる LDL-C の低下効果が示唆された。病理組織学的検査では，投薬に関連した毒性変化は認められなかった。したがって，本試験の無毒性量はインクリシラン単剤及びアトルバスタチン 25 mg/kg QD との併用投与ともに 300 mg/kg Q4W と考えられた。

6 不純物及び分解物

非臨床毒性試験に供試した製剤に含まれる不純物は，臨床製剤と同様のプロファイルを示し，開発後期に新たな不純物は確認されていない。したがって不純物の安全性は，GLP 適用のラット及びサルを用いた反復投与毒性試験，並びに *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験により評価されているものと考える。

7 総括及び結論

インクリシランは，3分岐型の GalNAcが結合した二本鎖 siRNAであり，肝臓に特異的に送達され，PCSK9の発現を抑制することにより血清中LDL-Cを低下させるようデザインされている。イ

ンクリシランは Hep3B 細胞での PCSK9 の発現を抑制し（IC_{50}：2.5 pmol/L），*hPCSK9* Tg マウスへの単回投与で血清中 hPCSK9 濃度を低下させた（ED_{50}：約 2 mg/kg，ED_{80}：約 6 mg/kg）。

サルを用いた単回及び反復投与による用法用量の検討試験では，インクリシランは血漿中 PCSK9 濃度を用量依存的かつ持続的に低下させ，それと並行して血清中 LDL-C 値を低下させた。単回投与後，PCSK9 及び LDL-C が最も低下するまでの時間は約 20 日であり，最大低下するまでの時間に用量間で差は認められなかった。6 又は 10 mg/kg の単回投与で比較すると，PCSK9 及び LDL-C は 6 mg/kg の用量で最大の低下率を示したが，PCSK9 及び LDL-C 低下効果の持続時間は，最高用量の 10 mg/kg の方が長かった。反復投与試験での PCSK9 及び LDL-C の最大低下率はそれぞれ 93%及び 74%であり，単回投与試験で認められた低下率（96%及び 77%）と同程度であった。サルを用いた PK/PD 試験では，インクリシラン（1，3，又は 6 mg/kg）を皮下投与した際に用量の増加に伴う血漿中インクリシラン濃度の上昇と PCSK9 及び LDL-C の低下が認められた。サルにインクリシランを最高用量（6 mg/kg）で単回投与したとき，インクリシランの血漿中濃度は投与後約 24 時間以内に検出限界以下に達した。また，反復投与では PCSK9 及び LDL-C は投与 100 日後まで低値のまま維持され，インクリシランの血中濃度と作用持続時間との間には時間差が認められており，投与後の本薬の肝臓での積極的な取り込みが示唆された。

バイオインフォマティクス解析及び Hep3B 細胞を用いた *in vitro* 試験によるオフターゲット活性の評価，並びに Hep3B 細胞での発現がみられなかった 2 つのオフターゲット遺伝子と ASGPR との共発現解析の結果から，インクリシランがオフターゲット遺伝子の転写に影響を及ぼす可能性は低く，インクリシラン投与によりオフターゲット作用に関連した副作用が生じる可能性は低いことが示唆された。

テレメトリー装着カニクイザルを用いた安全性薬理試験では，インクリシラン投与による一般状態，ECG パラメータ，血圧，呼吸数，及び体温への影響は認められなかった。また，サルを用いた反復投与毒性試験にて神経学的評価を実施し，中枢神経系へ及ぼす影響を検討したところ，インクリシラン投与による影響は認められなかった。

ラット及びサルにインクリシランを単回静脈内，並びに単回及び反復皮下投与したときのインクリシランの PK を評価した。単回皮下投与したとき，インクリシランはラット及びサルの循環血中に吸収され，皮下投与のバイオアベイラビリティはそれぞれ 48.9%及び 29.3%であった。この比較的低い絶対バイオアベイラビリティは，放射性標識体を用いた試験において，放射能の皮下投与部位での長い半減期（ラットでは約 526 時間）によって説明可能である。皮下投与後の血漿中曝露量（Cmax 及び AUC）は，両動物種で用量にほぼ比例して増加した。ラット及びサルの Tmax はそれぞれ約 1 及び 2 時間であり，消失半減期はラットで 0.9～1.7 時間，サルで 2.2～4.3 時間であった。反復投与後の PK パラメータは単回投与後と類似しており，ラット及びサルの最終投与後の Tmax は，それぞれ約 1 及び 2 時間であった。PK パラメータに明らかな性差は認められなかった。

マウス，ラット，サル，及びヒトの血漿蛋白結合率は，インクリシラン濃度の低下とともに上昇し，検討した最低濃度（0.5 µg/mL）において最高の結合率を示した。血漿蛋白結合率は動物種間で類似しており，0.5 µg/mL では 87.4%（ヒト血漿）～93.1%（ラット血漿）の範囲内であった。なお，臨床曝露量（Cmax：0.607 µg/mL）は，血漿蛋白結合を評価した最低濃度に近い範囲にある。

ラット及びサルに放射性標識 ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの QWBA による組織分布試験を実施した。

ラットでは，すべての測定時点において最も高い放射能が投与部位に確認され，続いて肝臓及び腎皮質に高い放射能が認められた。大部分の測定時点において，眼の水晶体，白色脂肪，骨，骨格筋，並びに神経組織（脊髄及び脳）では，放射能が非常に低いか，ほとんど検出されなかった。最終の測定時点である投与後 2352 時間では，45 組織中 15 組織で放射能が定量可能であった。ほとんどの組織（45 組織中 28 組織）における放射能の Tmax は，投与後 24 時間から 72 時間の範囲で観測された。皮下投与部位，肝臓，及び腎臓中の Cmax 値は他の組織より著しく高く，AUC 値は通常，他の組織よりも少なくとも 10 倍大きかった。すべての組織からの放射能の消失は比較的遅く，半減期の値はすべての組織で 100 時間を超えていた。標的臓器である肝臓の半減期は 270.6 時間であった。

サルでは，すべての測定時点において高い放射能が肝臓に確認され，続いて初期（投与後 4 時間）の時点において腎臓に高い放射能が認められた。なお，サルの試験では投与部位は測定されなかった。ラットと同様に，放射能が非常に低いか，ほとんど検出されなかった組織は眼全体及び関連する組織（水晶体及びブドウ膜）であり，神経組織（脊髄及び脳）中の放射能も非常に低く，定量限界値をわずかに上回る程度であった。Cmax を比較すると，肝臓及び腎錐体がすべての組織中で最も高い放射能を示し，どちらも同程度の値であった。Tmax はすべての組織で 1 時間から 672 時間の範囲内であり，肝臓及び腎臓ではそれぞれ 72 及び 4 時間であった。放射能の滞留時間が長いため，大部分の組織で正確な半減期を算出することはできなかったが，肝臓及び腎臓の半減期はそれぞれ約 1980 及び 657 時間と見積もられた。最終の測定時点（投与後 1008 時間）においても，すべての組織で放射能が確認された。

In vivo 代謝プロファイルは，*in vitro* プロファイルと相関していた。ラットでは 7 種類の生体試料（血漿，尿，胆汁，糞，肝臓，腎臓，及び投与部位）で合計 18 種類の AS 鎖代謝物が同定され，それらは主に 5’及び 3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。代謝物のサイズは，AS(n-1)から AS(n-10)の範囲であった。AS(n-1)は，AS 鎖未変化体と比較して極めて低濃度ではあるが，すべての生体試料中で一貫して検出可能な唯一の代謝物であった。AS(n-2)5’及び AS(n-2)3’は，どの測定時点においても，血漿，糞，胆汁，肝臓，及び腎臓中に定量可能な濃度で検出されなかった。AS(n-2)代謝物は一部の測定時点で尿中に検出されたが，定量限界（15 ng/mL）をわずかに超える程度の濃度であった。

サルでは 5 種類の生体試料（血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓）で合計 35 種類の AS 鎖代謝物が同定され，それらは主に 5’及び 3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。代謝物のサイズは，AS(n-1)から AS(n-19)の範囲であった。糞では定量可能な未変化体又は代謝物が確認されなかったが，それ以外のすべての生体試料中で一貫して検出及び定量可能な唯一の代謝物は AS(n-1)であった。代謝物 AS(n-1)は常に AS 鎖未変化体よりも低い濃度であった。代謝物 AS(n-2)5’は非常に低濃度で尿及び肝臓中にのみ検出され，AS(n-2)3’は定量限界（15 ng/mL）をわずかに上回る濃度で肝臓中にのみ認められた。

ラットでは検討した 7 種類の生体試料全体で合計 12 種類の S 鎖代謝物が同定され，サルでは検討した 5 種類の生体試料全体で 20 種類の S 鎖代謝物が同定された。両動物種ともに，S 鎖代謝物の大部分は，3’末端の 3 つの GalNAc 残基の切断及び関連する 3 つのリンカー部分の切断によって生成した代謝物であった。

ラット及びサルでは，主要代謝物である AS(n-1)，AS(n-2)，及び S-GalNAc 以外の AS 鎖及び S 鎖代謝物は微量に存在するのみであった。

放射性標識 ^{14}C-インクリシランを用いたマスバランス試験の結果，ラット及びサル血漿からの主要な消失経路は腎排泄であることが示され，ラットでは糞中にもインクリシランが排泄されることが示された。投与後 7 日間で，投与放射能量の約 29%（ラット）及び 32%（サル）が尿中に回収された。投与後 96 時間のラット屍体中の残存放射能量は約 39%であった。このことは，インクリシランの長い組織滞留時間と関連していると考えられた。

インクリシランは，プールした HLM を用いた試験において 7 種類のヒト CYP アイソフォーム（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5）に対して直接的，又は時間依存的阻害作用を示さなかった。さらに，インクリシランは，培養ヒト肝細胞において CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 に対する誘導作用を示さなかった。インクリシランは，トランスポーターである MDR1，BCRP，OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，OCT3，OATP1B1，OATP1B3，MATE1，MATE2-K，及び BSEP の基質ではなく，これらに対する阻害作用も示さなかった。

ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験の結果，インクリシランの良好な忍容性が確認され，主な変化は，標的作用器官である肝臓，排泄の主要器官である腎臓，及びリンパ節で認められた。薬理作用に関連した脂質プロファイルの変化がみられ，すべての試験で LDL-C の低値が認められた。また，ラット（4 及び 15 週間投与試験）では HDL-C の低値も認められた。げっ歯類の HDL-C は LDLR を介して循環中から排泄されることから，HDL-C の低下はインクリシランによる LDLR の発現上昇に関連した変化である可能性が考えられた（Rashid et al. 2005）。ラット（4 及び 29 週間投与試験）及びサル（4 及び 40 週間投与試験）の高用量群では ALP の軽微な高値が認められたが，胆汁うっ滞を伴っておらず，インクリシランが ALP 排泄に関与する ASGPR に結合し，消失速度の遅延が生じた可能性が考えられた（Blom et al. 1998）。いずれの変化も休薬による回復性が確認された。病理組織学的検査では，ラットで肝細胞空胞化，サルでリンパ節の空胞

化マクロファージ集簇，並びにサルの肝細胞及びラットの腎尿細管に好塩基性顆粒が認められた。肝細胞空胞化及び腎尿細管の好塩基性顆粒に伴う変性性変化がみられないこと，関連する肝酵素及び尿検査パラメータに重篤な変化は認められないこと，いずれも可逆的変化であることから，これらの所見は毒性変化ではないと考えられた。サルを用いた反復投与毒性試験で実施した神経学的検査では，高用量群においてもインクリシランの中枢神経系への作用を示唆する変化は認められなかった。一部のサルで ADA 産生がみられたが，曝露量及び PD への影響は認められず，中和活性はないと考えられた。

インクリシランの遺伝毒性を，細菌を用いた変異原性試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験，及びラットを用いた骨髄小核試験により評価したところ，遺伝毒性を示唆する変化は認められなかった。

インクリシランのがん原性は，rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験及びラットを用いた 2 年間がん原性試験で評価した。いずれの試験においても，投薬に関連した腫瘍発現頻度の増加は認められず，インクリシランにがん原性は認められなかった。

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験において，インクリシランの生殖発生毒性を示唆する変化は認められなかった。インクリシランはラット胎児の血漿中で低濃度に認められたが肝臓中では検出されず，ウサギ胎児の血漿及び肝臓中にはほとんど検出されなかった。ラット F0 母動物の乳汁中にはインクリシランが確認されたが，F1 児の血漿及び肝臓中には検出されなかった。

局所刺激性はラット及びサルを用いた反復投与毒性試験で評価し，投与部位におけるインクリシランの十分な忍容性が確認された。

インクリシランに免疫刺激作用及び免疫毒性は認められなかった。サルを用いた 4 週間反復投与用量設定試験では，C 反応性蛋白，補体（C3a 及び Bb），及び炎症性サイトカイン濃度に投薬の影響は認められなかった。また，マウスを用いた探索的試験では，単回投与後のサイトカイン濃度への影響は認められなかった。サルを用いたアトルバスタチン併用投与毒性試験において，リンパ球フェノタイピング及び TDAR 試験を実施し，インクリシランの免疫毒性について評価した結果，リンパ球フェノタイピング及び抗 KLH 抗体産生状況に投薬の影響はみられなかった。

以上の非臨床試験成績から，インクリシランが hPCSK9 発現低下効果により LDL-C を強力かつ持続的に低下させ，高コレステロール血症の治療薬となり得ることが裏付けられた。サルを用いた薬効試験では，さまざまな用法用量で 1 年間投与してもタキフィラキシーの兆候は認められず，投与終了後も効果が持続したことから，臨床においても低頻度の投与で持続的な効果が得られるものと考えられる。インクリシランの血漿中での見かけの終末相半減期は比較的短く（1～4 時間の範囲），作用の標的臓器である肝臓に優先的に分布し，投与後 1～2 時間に Tmax に達する。投与部位を除いて，インクリシランの腎臓及び肝臓中濃度は評価した他の組織よりも数倍高いことから，標的外の毒性の可能性が低減すると考えられる。QWBA の結果から，インクリシランの肝

臓からの消失半減期は長く（放射能の半減期はラットで 270 時間，サルで 1980 時間），広範な代謝も受けない。肝臓中での半減期が長く，代謝的にも安定であることから，持続的な PD 作用が裏付けられている。インクリシランは，主要な CYP アイソフォーム及びトランスポーターのいずれとも相互作用せず，DDI の可能性は低いことが示されている。長期反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量を，臨床用量（300 mg）を投与したヒト曝露量と比較すると，Cmax 比はラットで 85 倍，サルで 90 倍，AUC 比はラットで 46 倍，サルで 94 倍であった。臨床におけるインクリシランの投与レジメンは，初回及び 3 ヵ月後に投与し，その後 6 ヵ月ごと投与である。重要な反復投与毒性試験の投与スケジュールには臨床の投与レジメンを上回る 4 週間に 1 回以上の投与頻度を設定したことから，いずれの試験においてもヒト曝露量を上回る曝露量が認められた。したがって，本概要に示す非臨床試験成績は，添付文書で規定される用法・用量の範囲内におけるインクリシランの患者への使用を支持するものと考える。

8 参考文献

[Blom E, Ali MM, Mortensen B, et al. (1998)] Elimination of alkaline phosphatases from circulation by the galactose receptor. Different isoforms are cleared at various rates. Clin Chim Acta; 270(2):125-37.

[Henry SP, Kim TW, Kramer-Stickland, et al. (2008)] Toxicologic properties of 2’-O-methoxyethyl chimeric antisense inhibitors in animals and man. Antisense Drug Technology. Principles, Strategies, and Applications. 2nd ed; Boca Raton:CRC Press, p. 327-63.

[Morimoto-Tomita M, Uchimura K, Werb Z, et al. (2002)] Cloning and characterization of two extracellular heparin-degrading endosulfatases in mice and humans. J Biol Chem; 277(51):49175-85.

[Rashid S, Curtis DE, Garuti R, et al. (2005)] Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. Proc Natl Acad Sci U S A; 102(15):5374-9.

[Uezu A, Kanak DJ, Bradshaw TWA, et al. (2016)] Identification of an elaborate complex mediating postsynaptic inhibition. Science; 353(6304):1123-9.