2.6.6 毒性試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
略号一覧 6
1 まとめ 8
2 単回投与毒性試験 11
3 反復投与毒性試験 11
3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験 12
3.1.1 4 週間反復投与用量設定試験 12
3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 13
3.2.1 4 週間反復投与用量設定試験 13
3.2.2 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 16
3.2.3 15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 18
3.2.4 29 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 21
3.3 サルを用いた反復投与毒性試験 24
3.3.1 4 週間反復投与用量設定試験 24
3.3.2 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 26
3.3.3 15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 27
3.3.4 40 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 29
4 遺伝毒性試験 32
4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 32
4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 32
4.3 ラットを用いた小核試験 32
5 がん原性試験 33
5.1 マウスを用いたがん原性試験 33
5.1.1 rasH2 野生型マウスを用いた 58 日間反復皮下投与用量設定試験 33
5.1.2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験 35
5.2 ラットを用いた 2 年間がん原性試験 39
6 生殖発生毒性試験 44
6.1 ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験 45
6.1.1 雄ラットを用いた授胎能及び初期胚発生に関する試験 45
6.1.2 雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験 46
6.2 ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 47
6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 47
6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 48
6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 50
6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 51

6.3 ラットを用いた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 53
6.4 幼若動物を用いた試験 55
7 局所刺激性試験 55
8 その他の毒性試験 56
8.1 マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験 56
8.2 サルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験 56
8.3 免疫原性 61
8.4 免疫毒性 61
8.5 代謝物 62
8.6 不純物及び分解物 62
8.7 曝露量の比較 62
9 考察及び結論 64
10 参考文献 66

表 一 覧

Table 1-1 毒性試験一覧 9
Table 3-1 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄マウス） 13
Table 3-2 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄マウス） 13
Table 3-3 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ（雄ラット） 15
Table 3-4 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄ラット） 15
Table 3-5 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 17
Table 3-6 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日） 18
Table 3-7 ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 20
Table 3-8 ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 85 / 99 日） 20
Table 3-9 ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 23
Table 3-10 ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 197 日） 23
Table 3-11 雄サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 25

Table 3-12 雄サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度（投与 30 日，投与 24 時間後） 25
Table 3-13 サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 27
Table 3-14 サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度（投与 30 日，投与 24 時間後） 27
Table 3-15 サルを用いた 15 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 29
Table 3-16 サルを用いた 15 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度 29
Table 3-17 サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ 31
Table 3-18 サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度 31
Table 4-1 ラットを用いた小核試験における血漿中平均 TK パラメータ 33
Table 5-1 rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験における血漿中平均 TK パラメータ 34
Table 5-2 rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験における組織中平均 TK パラメータ 35
Table 5-3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における肺の腫瘍性病変の発現頻度 37
Table 5-4 rasH2 マウスにおける自然発生性肺腫瘍の背景値 37
Table 5-5 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における主な腫瘍性病変の発現頻度 37
Table 5-6 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における主な非腫瘍性病変の発現頻度 38
Table 5-7 早期試験終了日程一覧 40
Table 5-8 乳腺における腫瘍性病変の発現頻度 41
Table 5-9 Crl:CD(SD)系ラットにおける自然発生性乳腺腫瘍の背景値 41
Table 5-10 Crl:CD(SD)系ラットにおける自然発生性肝細胞腫瘍の背景値 42
Table 5-11 肝臓における主な非腫瘍性増殖性病変の発現頻度 42
Table 5-12 ラットを用いたがん原性試験における血漿中平均 TK パラメータ 44
Table 6-1 雄ラットを用いた授胎能試験における血漿中平均 TK パラメータ 46
Table 6-2 雌ラットを用いた受胎能試験における血漿中平均 TK パラメータ 47
Table 6-3 妊娠ラットにおける血漿中平均 TK パラメータ 48
Table 6-4 妊娠ラットにおける血漿中平均 TK パラメータ 50
Table 6-5 胎児の血漿中及び肝臓中平均インクリシラン濃度（妊娠 17 日） 50
Table 6-6 妊娠ウサギにおける血漿中平均 TK パラメータ 51
Table 6-7 妊娠ウサギにおける血漿中平均 TK パラメータ 53
Table 6-8 母動物における血漿中及び乳汁中平均インクリシラン濃度（授乳 11 日，投与 8 時間後） 55

Table 8-1 併用投与毒性試験の群構成.....57
Table 8-2 サル血漿中 PCSK9 濃度の投与前値からの変化率.....58
Table 8-3 併用投与毒性試験におけるインクリシランの血漿中平均 TK パラメータ.....60
Table 8-4 併用投与毒性試験におけるアトルバスタチンの血漿中平均 TK パラメータ.....61
Table 8-5 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.....62

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
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）
Ago	argonaute	アルゴノート
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
BLQ	below the lower limit of quantitation	定量下限未満
Cmax	maximal drug plasma (tissue) concentration	最高血漿（又は組織）中薬物濃度
GD xx	gestation day xx	妊娠 xx 日
γ-GTP	gamma glutamyl transpeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
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
GalNAc	N-acetylgalactosamine	N-アセチルガラクトサミン
HDL-C	high density lipoprotein cholesterol	高比重リポ蛋白コレステロール
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
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
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
MNU	N-Methyl-N-Nitrosourea	N-メチル-N-ニトロソウレア
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
NA	not applicable	該当なし
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
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
RISC	ribonucleic acid-induced silencing complex	RNA 誘導サイレンシング複合体

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
siRNA	small interfering RNA	低分子干渉 RNA
T1/2	elimination half life	消失半減期
TDAR	T-cell dependent antibody responses	T 細胞依存性抗体産生
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 まとめ

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。

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。毒性試験一覧を Table 1-1 に示す。主要な毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（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，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，受託研究機関の GLP 適合試験施設で実施した。

非臨床安全性試験の主な結果は以下のとおりである。

- 非臨床毒性試験では，インクリシランの良好な忍容性が確認され，重篤な毒性変化は認められなかった。
- 臨床用量（300 mg）におけるヒトでの曝露量と長期反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量を比較すると，最高血漿中薬物濃度（Cmax）比はラットで 85 倍，サルで 90 倍，薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）比はラットで 46 倍，サルで 94 倍であった。
- 遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。
- 生殖発生毒性は認められなかった。
- 免疫毒性及び免疫刺激性は認められなかった。

Table 1-1 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

開発初期段階の非臨床試験報告書では，インクリシラン製剤を ALN-PCSSC 又は ALN-60212 と表記しているが，本概要文では一貫して「インクリシラン」と記載した。すべての毒性試験には，インクリシラン製剤であるインクリシラン注射剤（インクリシランナトリウム 300 mg を注射用水 1.5 mL に溶解させ，2 mL ガラスバイアルに充填したもの）を使用した。インクリシランナトリウム 300 mg には，インクリシラン遊離酸 284 mg 及びナトリウム 16 mg が含まれている。本概要文では，「インクリシラン」の表記はインクリシランナトリウム塩を指す。特に記載のない限り，各試験の投与液は，インクリシラン製剤を米国薬局方（USP）注射用生理食塩液（媒体）で適切な濃度に希釈して調製した。

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。

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，並びにサルを用いた 4，15，及び 40 週間反復投与毒性試験を実施した。これらの試験では，血漿及び組織（標的器官である肝臓，排泄の主要器官である腎臓を含む）を用いトキシコキネティクス

（TK）プロファイルも評価した。独立した局所刺激性試験は実施しなかったが，反復投与毒性試験において，投与部位の肉眼的観察及び病理組織学的検査を行い，評価した。さらに，*in vitro*（細菌を用いた変異原性試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験）及び *in vivo*（ラットを用いた骨髄小核試験）の一連の遺伝毒性試験，トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験，ラットを用いた 2 年間がん原性試験，並びにラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。また，その他の試験として，マウスを用いた免疫刺激性試験及びサルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験を実施した。

ラット及びサルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）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 回投与し，さらに，ラットでは 10 mg/kg，サルでは 30 mg/kg を 1 週間に 1 回投与した。ラット及びサルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）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 回投与し，さらに，ラットでは 25 mg/kg，サルでは 125 mg/kg を 2 週間に 1 回投与した。ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）では，10，50，及び 250 mg/kg の用量で 4 週間に 1 回投与し，サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）では，30，100，及び 300 mg/kg の用量で 4 週間に 1 回投与した。すべての試験で投与期間終了後に回復性試験を設定し，休薬による回復性を評価した。すべての試験で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は，ヒトの臨床用量（300 mg）における曝露量と比較して，Cmax 比で 85 倍（ラット）及び 90 倍（サル），AUC 比で 46 倍（ラット）及び 94 倍（サル）であった。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一貫して認められた。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臓に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動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，ごく軽度の紅斑又はごく軽度から軽度の浮腫が一過性に認められたのみであった。

遺伝毒性試験では，遺伝子突然変異誘発性及び染色体損傷誘発性はみられず，インクリシランに遺伝毒性はないものと考えられた。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。

マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索試験及びサルを用いた 4 週間反復投与用量設定試験では，マウス及びサルで炎症性サイトカイン誘発性，並びにサルで補体活性化を示す反応はみら

れず，インクリシランの免疫刺激作用及び免疫毒性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の抗薬物抗体（ADA）検査では，ごく一部のサルに低抗体価の ADA 産生がみられたが，用量依存性はなく，薬物動態（PK）又は薬力学（PD）パラメータ（PCSK9 及び LDL-C）への影響は認められなかった。また，サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験及びサルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験において，キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）免疫後の一次及び二次 T 細胞依存性抗体産生（TDAR）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との併用投与毒性試験では，併用投与による未知の毒性の発現及び既知の毒性の増強は認められなかった。

非臨床毒性試験に供試した製剤の不純物プロファイルは，臨床試験に使用した製剤及び市販用製剤における規格案と同様であり，不純物の安全性は毒性試験により評価されたものと考えられた。

以上のとおり，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。

2 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施しなかった。インクリシランの急性毒性は，単回投与で実施された試験，並びに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（1 週間に 1 回，2 週間に 1 回，又は 4 週間に 1 回皮下投与）にて評価した。

単回投与による試験は 2 試験実施されており，ラットを用いた骨髄小核試験（4.3 項）ではインクリシランを 500，1000，及び 2000 mg/kg の用量で，マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験（8.1 項）では 30 及び 100 mg/kg の用量で，それぞれ単回皮下投与した。これらの試験では臨床検査及び病理組織学的検査は実施しなかったものの，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，及びサルを用いた反復投与毒性試験では，いずれの用量においても投薬に関連した一般状態の変化は認められなかった。

3 反復投与毒性試験

インクリシランの反復投与毒性は，マウス，ラット，及びサルを用いた反復投与毒性試験で評価した。各試験の主な結果は以下のとおりである。

- インクリシランの忍容性は良好であり，重篤な毒性変化は認められなかった。
- 標的器官（肝臓）の病理組織学的変化として，ラットでは肝細胞空胞化，サルでは肝細胞に好塩基性顆粒が認められた。
- 標的器官以外の病理組織学的変化として，ラット及びサルでは尿細管上皮に好塩基性顆粒，サルではリンパ節に空胞化マクロファージの集簇が認められた。
- 病理組織学的変化に関連した臨床検査値の重篤な変化はみられなかった。
- 投与部位の肉眼的観察では，一過性の紅斑又は浮腫が認められたのみであった。

- 臨床用量（300 mg）におけるヒト曝露量と長期反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量を比較すると，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。

3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

3.1.1 4 週間反復投与用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.6-8297717]は，インクリシランの反復投与毒性試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群雌雄各 10 例の CD-1 系マウスに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），30，100，及び 300 mg/kg の用量で，1 週間に 1 回（QW），4 週間反復皮下投与（計 5 回投与）した。検査項目として，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験（雄マウスの血漿中，並びに肝臓，腎臓，及び心臓の組織中濃度測定）を実施した。

本試験で死亡はみられず，一般状態，体重，及び摂餌量に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，インクリシラ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 の低値，すべての投薬群の雄及び 300 mg/kg 群の雌で高比重リポ蛋白コレステロール（HDL-C）及び総コレステロールの低値，並びにトリグリセリドの高値が認められた。剖検では投与部局所の変化以外に異常は認められなかった。病理組織学的検査では，投与部皮下でマクロファージの空胞化が認められた。

TK 試験では，血漿中インクリシランは 30 及び 100 mg/kg 群で最終投与 336 時間後まで，300 mg/kg 群で最終投与 672 時間後（最終試料採取時点）まで認められた。血漿中及び組織内曝露量（Cmax 及び AUClast）は，概ね用量に比例して増加し，肝臓，腎臓，心臓の順に高値を示した。肝臓及び腎臓中濃度は，すべての用量で血漿中濃度より高値であり，長い消失半減期が認められた。組織中消失半減期に用量関連性はみられなかった。血漿中 TK パラメータを Table 3-1，組織中 TK パラメータを Table 3-2 に示す。

以上のことから，本試験の無毒性量は 300 mg/kg QW と考えられた。

Table 3-1 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄マウス）

パラメータ	用量 (mg/kg)		
	30 QW	**100 QW**	**300 QW**
Tmax (h)	1.00	1.00	0.50
Cmax (µg/mL)	13.4	30.9	92.8
AUClast (µg.h/mL)	41.3	113	479
T1/2 (h)	113	78.1	165

Source: Table 2.6.7.6-8297717
QW：1 週間に 1 回

Table 3-2 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄マウス）

パラメータ	用量 (mg/kg)		
	30 QW	**100 QW**	**300 QW**
肝臓			
Tmax (h)	8.00	168	8.00
Cmax (µg/g)	482	576	5738
AUClast (µg.h/g)	144268	231190	623747
T1/2 (h)	169	112	145
腎臓			
Tmax (h)	2.00	8.00	8.00
Cmax (µg/g)	27.1	89.6	1241
AUClast (µg.h/g)	2503	7986	64687
T1/2 (h)	203	305	NA
心臓			
Tmax (h)	1.00	1.00	1.00
Cmax (µg/g)	10.6	31.8	83.7
AUClast (µg.h/g)	799	4849	17934
T1/2 (h)	142	220	NA

Source: Table 2.6.7.6-8297717
NA：該当なし，QW：1 週間に 1 回

3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

3.2.1 4 週間反復投与用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.6-PCSSC-NCD14-001]は，インクリシランの反復投与毒性試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群雌雄各 5 例の SD 系ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），30，100，及び 300 mg/kg の用量で，1 週間に 1 回（QW，計 5 回），4 週間反復皮下投与し

た。本試験では，一般状態観察，体重測定，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査（肝臓，脾臓，腎臓，心臓，肺，脳，投与部位，及び剖検異常部位），及び TK 試験（雄ラットの血漿中，並びに肝臓，腎臓，及び心臓の組織中濃度測定）を実施した。

本試験では，300 mg/kg 群の雄 1 例が投与 20 日に死亡した。死亡前日までの一般状態及び体重に変化はみられず，剖検で異常は認められなかった。病理組織学的検査で認められた最も顕著な変化は，脾臓辺縁帯のリンパ壊死であったが，複数の組織で広範な自己融解がみられたことから，脾臓の変化の毒性学的意義は不明であった。また，本死亡とインクリシラン投与との関係も明らかでなかった。生存例の一般状態，体重，血液学的検査，血液凝固系検査，投与部位の肉眼的な観察，剖検，及び器官重量に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，インクリシランの薬理作用に関連した変化として，すべての投薬群で HDL-C 及び総コレステロールの低値，すべての投薬群の雄並びに 100 及び 300 mg/kg 群の雌で LDL-C の低値が認められた。病理組織学的検査では，すべての投薬群で肝臓に肝細胞空胞化が認められた。Oil-red O 染色の結果，すべての投薬群でさまざまな程度の中性脂肪を含む肝細胞がみられたが，脂肪染色の程度に用量依存性は認められず，血液生化学的検査値の変動との関連性も認められなかった。100 mg/kg 以上の群で腎尿細管に好塩基性色素沈着が認められた。すべての投薬群で，最終投与部位に単核細胞浸潤が認められた。高用量（300 mg/kg）群においても，用量制限毒性は認められなかった。

TK 試験では，インクリシランの血漿中曝露量（Cmax，AUClast，及び AUC0-24h）は概ね用量比例的な曝露量の増加を示し，反復投与による蓄積は認められなかった。肝臓，腎臓，及び心臓中曝露量（Cmax 及び AUC0-t）は用量の増加に伴い増加し，投与 672 時間後（最終試料採取時点）まで認められた。肝臓中濃度は腎臓中濃度よりも高値となる傾向がみられ，心臓中濃度が最も低値であった。肝臓及び腎臓中インクリシラン濃度は，すべての用量で血漿中濃度よりも高値であり，長い消失半減期が認められた。血漿中 TK パラメータを Table 3-3 に，組織中 TK パラメータを Table 3-4 に示す。

以上のことから，本試験の無毒性量は 300 mg/kg QW と考えられた。

Table 3-3 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ（雄ラット）

パラメータ		用量 (mg/kg)		
	検査日	30 QW	100 QW	300 QW
Tmax (h)	1	1.0	1.0	2.0
	29	0.5	0.5	0.5
Cmax (µg/mL)	1	8.16	23.2	61.6
	29	12.2	34.6	83.7
AUClast (µg.h/mL)	1	31.6	128	551
	29	61.2	287	838
AUC0-24h (µg.h/mL)	1	31.6	128	551
	29	43.9	195	590
T1/2 (h)	1	NA	3.67	2.69
	29	1.36	3.85	3.36

Source: Table 2.6.7.6-PCSSC-NCD14-001

NA：該当なし，QW：1 週間に 1 回

Table 3-4 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日，雄ラット）

パラメータ	用量 (mg/kg)		
	30 QW	100 QW	300 QW
肝臓			
Tmax (h)	24	24	168
Cmax (µg/g)	847	1195	1871
AUClast (µg.h/g)	92043	156194	551493
T1/2 (h)	227	248	NA
腎臓			
Tmax (h)	24	24	24
Cmax (µg/g)	138	341	1357
AUClast (µg.h/g)	19037	106260	413400
T1/2 (h)	136	275	398
心臓			
Tmax (h)	24	24	672
Cmax (µg/g)	2.93	17.0	83.9
AUClast (µg.h/g)	872	8683	33972
T1/2 (h)	NA	548	NA

Source: Table 2.6.7.6-PCSSC-NCD14-001

NA：該当なし，QW：1 週間に 1 回

3.2.2 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7A-8302576]は，インクリシランの反復投与毒性及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 15 例の SD 系ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で，2 週間に 1 回（Q2W，計 3 回），10 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回（QW，計 5 回），4 週間反復皮下投与した。また，各群の雌雄各 5 例を回復性試験群とし，投与期間終了後，8 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1 及び 29 日），眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験（血漿及び組織）を実施した。1 群雌雄各 36 例の TK 群を設定し，TK 試験用の血液及び組織試料を採取した。血液試料は，投与 1 日の投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，及び 168 時間後（Q2W 及び QW 群），投与 8 日の投与 1 時間後（QW 群），投与 15 日の投与前，並びに投与 1 及び 168 時間後（Q2W 及び QW 群），投与 22 日の投与 1 時間後（QW 群），投与 29 日の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，96，168，336，504，672，840，1008，1176，及び 1368 時間後（Q2W 及び QW 群）に，組織試料（肝臓，腎臓，及び心臓）は，投与 1 日の投与 4 及び 24 時間後，投与 29 日の投与前，並びに投与 1，4，8，24，168，504，840，1176，及び 1368 時間後に採取した。

本試験では本薬投与に関連した死亡又は瀕死例は認められなかった。10 mg/kg Q2W 群の雄 1 例が投与 28 日に死亡した。剖検では肝臓の大型化がみられたが，病理組織学的検査では関連する肝臓の変化は認められなかった。死亡原因は明らかではなかったが，用量関連性のない低用量群の 1 例の死亡であることから，投薬起因ではないと考えられた。また，TK 試験用動物では，250 mg/kg Q2W 群の雌 1 例が投与 29 日に死亡したが，採血手技の過誤が原因と考えられた。10 mg/kg QW 群の雌 1 例を一般状態悪化のため休薬 30 日に安楽死処分した。回復性試験期間における低用量群の 1 例の事象であることから，投薬起因ではなく偶発的変化と考えられた。さらに，250 mg/kg Q2W 群の雌 3 例では飼育過誤による妊娠が認められたため，投与 16 日に安楽死処分した。

生存例の一般状態，皮膚刺激性評価，体重，及び摂餌量に投薬の影響はみられず，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査で異常は認められなかった。血液生化学的検査では，すべての投薬群でインクリシランの薬理作用に関連した変化と考えられる 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（Rashid et al. 2005），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る。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。剖検では，10 mg/kg QW 群の雄 1 例に投与部位の変色がみられ，関連する病理組織学的変化として炎症が認められた。50 mg/kg 群の雌 1 例，250 mg/kg 群の雄 1 例に投与部位の変色がみられたが，

関連する病理組織学的変化は認められなかった。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みられ，関連する病理組織学的変化として肝細胞空胞化が認められた。病理組織学的検査では，50 mg/kg Q2W 以上の群及び 10 mg/kg QW 群で肝細胞空胞化，50 mg/kg Q2W 以上の群で腎尿細管に好塩基性顆粒，すべての投薬群で投与部皮下に炎症及び出血が認められた。いずれの変化においても休薬による回復性が認められた。

TK 試験では，インクリシランの血漿中曝露量（Cmax 並びに AUClast，AUC0-4h，及び AUC0-24h）は用量増加に伴う増加を示し，性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。また，10 mg/kg の用量において，Q2W 及び QW の投与レジメンによる TK パラメータの差は認められなかった。すべての試料採取時点で肝臓，腎臓，及び心臓にインクリシランが検出された。肝臓，腎臓，及び心臓中曝露量（AUClast 及び Cmax）は，概ね用量比例的又は用量比を上回る増加を示し，消失半減期はそれぞれ 85.1～120.7 時間，217～302.6 時間，及び 328～349.4 時間であった。250 mg/kg 群の雌で反復投与後の肝臓内曝露量（AUClast）が雄と比較して 3.1 倍高値であったことを除き，組織内インクリシラン濃度に明らかな性差はみられず，反復投与による蓄積も認められなかった（肝臓では，250 mg/kg 群で反復投与による肝臓中曝露量の低下が示唆された）。反復投与後の肝臓における AUClast は，腎臓の 2～9 倍，心臓の 15～7450 倍であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-5 に，投与 29 日の組織中 TK パラメータを Table 3-6 に示す。

以上のことから，本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q2W と考えられた。

Table 3-5　ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
パラメータ	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5
	29	1.0	0.5	1.0	1.0	0.5	1.0	0.5	0.5
Cmax (µg/mL)	1	1.71	1.22	13.1	13.7	51.6	47.1	1.79	1.22
	29	1.24	1.91	10.6	8.38	43.9	45.4	1.66	1.15
AUClast (µg.h/mL)	1	2.75	2.35	33.8	29.0	204	207	3.38	2.64
	29	4.49	3.85	43.8	30.3	371	298	4.15	3.80
AUC0-4h (µg.h/mL)	1	2.75	2.35	29.2	25.7	139	133	3.38	2.64
	29	3.38	3.05	32.6	22.6	143	148	3.28	3.05
AUC0-24h (µg.h/mL)	1	3.02	2.77	35.4	29.1	294	277	3.66	2.82
	29	4.90	3.89	52.1	33.5	371	298	4.59	3.87
T1/2 (h)	1	1.0	1.3	1.2	0.7	3.7	3.1	NA	0.8
	29	1.4	0.8	1.8	1.5	1.5	1.6	1.5	0.9

Source: Table 2.6.7.7A-8302576

NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回，QW：1 週間に 1 回

Table 3-6 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 29 日）

用量 (mg/kg)	10 Q2W		50 Q2W		250 Q2W		10 QW	
パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓								
Tmax (h)	8.0	24.0	8.0	24.0	24.0	24.0	8.0	8.0
Cmax (µg/g)	318	455	1260	1630	2360	3870	401	447
AUClast (µg.h/g)	34200	62800	121000	197000	285000	891000	51600	51800
T1/2 (h)	96..9	93.8	98.2	143.2	98.3	71.8	92.9	127.7
腎臓								
Tmax (h)	4.0	4.0	8.0	4.0	24.0	8.0	24.0	1.0
Cmax (µg/g)	34.5	30.2	297	308	1090	1250	37.9	40.5
AUClast (µg.h/g)	7620	7210	49800	63700	261000	443000	9970	13000
T1/2 (h)	203.8	346.7	281.9	292.9	167.1	267	228.6	376.6
心臓								
Tmax (h)	24.0	1.0	8.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0
Cmax (µg/g)	1.11	0.605	7.45	5.7	60.9	59.9	1.02	0.759
AUClast (µg.h/g)	22.2	8.43	3010	1390	19300	14400	18.6	4.73
T1/2 (h)	NA	NA	307.2	348.8	280.4	418.4	NA	NA

Source: Table 2.6.7.7A-8302576

NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回，QW：1 週間に 1 回

3.2.3 15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7B-8297015]は，インクリシランの反復投与毒性及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 15 例の SD 系ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で，4 週間に 1 回（Q4W，計 4 回），25 mg/kg の用量で 2 週間に 1 回（Q2W，計 8 回），15 週間反復皮下投与した。また，各群とも雌雄各 5 例を回復性試験群とし，投与期間終了後，8 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（25 mg/kg Q2W 群のみ，投与部位，Draize 変法，投与 1，85，及び 99 日），眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，TK 試験（血漿及び組織），及び ADA 検査を実施した。1 群雌雄各 27 例の TK 群を設定し，TK 試験用の血液及び組織試料を採取した。血液試料は，すべての投薬群の投与 1 日の投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，及び 168 時間後，並びに投与 85 日（Q4W 群）及び投与 99 日（Q2W 群）の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，96，168，336，672，1344（Q2W 群のみ），1680（Q2W 群のみ），及び 2016 時間後（Q4W 群のみ）に採取し，最終採血後に組織試料（肝臓，腎臓，及び心臓）を採取した。Q4W

群の組織試料は，投与 85 日の投与前，投与 2，8，24，168，336，672，及び 2016 時間後に採取し，Q2W 群は投与 99 日の投与前，投与 2，8，24，168，336，672，及び 1680 時間後に採取した。

本試験では，対照群の雄 1 例，250 mg/kg Q4W 群の雌雄各 1 例が回復性試験期間に死亡した。対照群の 1 例及び 250 mg/kg Q4W 群の雌 1 例の死亡は自然発生性腫瘍が原因と考えられた。250 mg/kg Q4W 群の雄 1 例は，病理検査で死因は明らかにならなかったが，他の動物では同様の変化が認められていないことから，本薬投与に関連した死亡ではないと判断した。25 mg/kg Q2W 群の TK 試験用動物の雌雄各 1 例の死亡が認められた。一般状態及び剖検で異常は認められず，偶発的死亡と考えられた。

その他の動物の一般状態，皮膚刺激性評価，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，すべての投薬群でインクリシランの薬理作用に関連した変化と考えられる LDL-C，HDL-C，及び総コレステロールの低値がみられ，250 mg/kg Q4W 群及び 25 mg/kg Q2W 群の雄で総蛋白及びグロブリンの低値，250 mg/kg Q4W 群の雄でカリウムの低値が認められた。剖検では，投薬による異常は認められなかった。器官重量の変化として，250 mg/kg Q4W 群及び 25 mg/kg Q2W 群の雄で副腎重量の高値が認められた。剖検及び病理組織学的検査で関連する変化がみられず，雄のみでみられた変化であることから，インクリシランの影響ではないと考えられた。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 群で腎尿細管上皮細胞に好塩基性顆粒，250 mg/kg Q4W 群で皮質尿細管上皮細胞の変性，すべての投薬群の雄，並びに 50 及び 250 mg/kg Q4W 群，25 mg/kg Q2W 群の雌で肝細胞空胞化，50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 25 mg/kg Q2W 群の雄，250 mg/kg Q4W 群の雌で肝臓の単核細胞浸潤の重症度の増加が認められた。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。

TK 試験では，血漿中曝露量（Cmax 及び AUC）は用量の増加に伴い増加し，明らかな性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。Cmax 到達後，血漿中インクリシラン濃度は単相性に低下し，消失半減期は投与 1 日で 0.8～2.6 時間，投与 85 日で 1.8～7.0 時間であった。肝臓，腎臓，及び心臓中曝露量（AUClast 及び Cmax）は，概ね用量比例的又は用量比を上回る増加を示し（10 mg/kg 群での心臓の AUClast は，定量可能測定試料数が不十分なため算出できなかった），消失半減期は Q4W 群でそれぞれ 67.3～305.5 時間，444.9～602.5 時間，及び 648.9～786.7 時間であった。10 mg/kg 群での心臓の Cmax（雄で雌の 2.9 倍）を除いては，すべての用量で曝露量の明らかな性差はみられなかった。同等の総用量（200 mg/kg）である 50 mg/kg Q4W 群及び 25 mg/kg Q2W 群の曝露量（Cmax 及び AUClast）を比較すると，50 mg/kg Q4W 群は 25 mg/kg Q2W 群と比較して概ね高値であった（約 1.7～2.2 倍）。血漿中 TK パラメータを Table 3-7 に，組織中 TK パラメータを Table 3-8 に示す。

ADA 検査では，いずれの試料採取時点においても ADA の産生は認められなかった。

以上のことから，本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 3-7 ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W		25 Q2W	
パラメータ	検査日[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	85 / 99	1.0	4.0	4.0	1.0	0.5	1.0	4.0	0.5
Cmax (µg/mL)	1	1.91	1.21	13.7	16.4	43.1	54.8	4.81	4.97
	85 / 99	0.957	1.89	8.10	5.43	46.9	35.3	2.08	2.51
AUClast (µg.h/mL)	1	3.23	2.58	42.5	38.3	405	230	12.7	10.0
	85 / 99	5.00	28.4	80.4	27.0	429	216	13.0	12.4
AUC0-4h (µg.h/mL)	1	3.23	2.58	34.9	35.2	156	152	11.1	8.57
	85 / 99	3.25	4.08	28.3	17.8	136	121	7.22	8.07
T1/2 (h)	1	NA	1.1	1.2	0.8	1.7	2.6	1.1	0.8
	85 / 99	2.9	NA	NA	2.1	1.8	7.0	NA	2.1

Source: Table 2.6.7.7B-8297015

NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

a：投与 85 日（10，50，250 mg/kg Q4W 群），投与 99 日（25 mg/kg Q2W 群）

Table 3-8 ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 85 / 99 日）

用量 (mg/kg)	10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W		25 Q2W	
パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓								
Tmax (h)	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Cmax (µg/g)	382	341	1670	1740	5210	5920	906	1070
AUClast (µg.h/g)	28000	27400	101000	144000	968000	960000	67300	66200
T1/2 (h)	49.6	84.9	156.8	323.6	312.6	298.4	136.5	104.5
腎臓								
Tmax (h)	24.0	24.0	24.0	2.0	24.0	8.0	24.0	24.0
Cmax (µg/g)	42.7	35.5	403	285	2330	1990	170	157
AUClast (µg.h/g)	23300	19100	129000	136000	1050000	1070000	72800	82200
T1/2 (h)	522.1	682.9	578.6	311.2	576.6	530.2	489.8	393.1
心臓								
Tmax (h)	2.0	2.0	168.0	336.0	24.0	2.0	8.0	8.0
Cmax (µg/g)	1.7	0.596	5.17	3.08	40.2	36.3	5.89	3.78
AUClast (µg.h/g)	NA	NA	4290	2610	42300	28100	2230	968
T1/2 (h)	NA	NA	561.8	736	987.1	586.4	520.4	267.6

Source: Table 2.6.7.7B-8297015

NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

3.2.4 29 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7C-5001351]は，インクリシランの反復投与毒性及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 20 例の SD 系ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で，4 週間に 1 回（Q4W，計 8 回），29 週間反復皮下投与した。また，各群とも雌雄各 5 例を回復性試験群とし，投与期間終了後，13 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1，85，及び 197 日），眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，副腎皮質ホルモン（コルチコステロン）検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，TK 試験（血漿及び組織），及び ADA 検査を実施した。対照群には雌雄各 3 例，投薬群には 1 群雌雄各 27 例の TK 群を設定し，TK 試験用の血液及び組織試料を採取した。対照群の血液試料は投与 1 及び 85 日の投与 4 時間後，並びに投与 197 日の投与 24 時間後に採取した。投薬群では，投与 1，85，及び 197 日の投与 0.083，0.5，1，2，4，6，8，24，48，96，及び 168 時間後に採取し，さらに投与 197 日には投与 336，504，672，1008，及び 1368 時間後にも採取した。肝臓，腎臓，及び心臓の組織試料は，投与 1 日の投与 24 時間後，投与 85 日の投与前及び投与 24 時間後，投与 197 日の投与前並びに投与 24，504，672，1008，及び 1368 時間後に採取し，組織中インクリシラン濃度を測定した。

本試験の主試験又は回復性試験用動物では，対照群の雌雄各 1 例，50 mg/kg 群の雄 3 例及び雌 1 例，TK 試験用試験動物では，10 mg/kg 群の雄 1 例，50 mg/kg 群の雄 2 例，及び 250 mg/kg 群の雄 1 例の死亡又は瀕死例が認められた。対照群の主試験用動物雄 1 例の死因は特定されなかった。雌 1 例の瀕死例では剖検で頸部腫瘤がみられ，関連する病理組織学的変化として壊死及び細菌コロニーを伴う骨格筋の肉芽腫性炎症が認められた。10 mg/kg 群の TK 試験用動物雄 1 例の死因は特定されなかった。50 mg/kg 群の主試験動物雄 3 例中 2 例の死因は特定されなかったが，1 例は腎腺腫に関連した合併症による死亡と考えられた。回復性試験用動物雌 1 例では，多組織で悪性リンパ腫，脳で中等度の出血，脾臓で軽度の造血亢進，並びに副腎及び胸腺でストレス性変化が認められた。TK 試験用動物雄 2 例は採血手技に関連した死亡と考えられた。250 mg/kg 群の TK 試験用動物雄 1 例の死因は特定されなかった。剖検及び病理組織学的検査により死亡原因が明らかでない個体もみられたが，死亡発生状況に明確な傾向は認められず，本試験の死亡率は一般的な 29 週間反復投与試験の死亡率と同等であることから，本試験でみられた死亡・瀕死は投薬に関連しないものと判断した。

一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液凝固系検査，コルチコステロン値，尿検査，及び器官重量に投薬の影響は認められなかった。投与部位の変化として，投与 197 日（最終投与日）に，250 mg/kg 群の雄 5 例にごく軽度の紅斑，雄 6 例にごく軽度から軽度の浮腫が認められた。血液学的検査では，250 mg/kg 群の雌で血小板数の低値が認められた。血液生化学的検査では，250 mg/kg 群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌でインクリシランの薬理作用に関連した変化と

考えられる LDL-C の低値が認められ，250 mg/kg 群で ALP の高値，250 mg/kg 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。これらの変化は病理組織学的検査における肝細胞空胞化の発現頻度の高値と一致していたが，いずれも軽微な変化であり，休薬により消失した。剖検では，50 mg/kg 以上の群の雄で肝臓の淡色化，250 mg/kg 群の雄及び 10 mg/kg 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 以上の群の腎臓で腎尿細管上皮細胞に好塩基性顆粒，250 mg/kg 群で皮質尿細管上皮細胞の空胞化，10 mg/kg 以上の群の肝臓で肝細胞空胞化，50 mg/kg 以上の群で投与部位の血管周囲単核細胞浸潤又は出血が認められた。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を伴わないことから，毒性変化ではないと判断した。

TK 試験では，インクリシランの曝露量（Cmax 及び AUClast）は，10～50 mg/kg 間及び 50～250 mg/kg 間で用量増加に伴う増加を示した。曝露量は雌より雄で高値となる傾向がみられ，雌／雄の比率は，Cmax で 0.189～1.18，AUClast で 0.335～0.833 であった。反復投与による明らかな蓄積は認められず，消失半減期は 0.743～3.40 時間であった。肝臓，腎臓，及び心臓中曝露量（Cmax 及び AUC0-1368h）は，概ね用量増加に伴う増加を示した。曝露量に明らかな性差はみられなかったが，腎臓及び心臓では，雌と比較して雄で高い傾向がみられた。投与 1，85，及び 197 日の投与 24 時間後の組織中濃度は，肝臓が最も高く，腎臓，心臓の順であった。投与 85 及び 197 日の投与前，並びに投与 197 日の投与 504 時間後の組織中濃度は，腎臓で最も高く，続いて肝臓，心臓の順であった。同じ試料採取時点では，総じて血漿中濃度よりも組織中濃度が高値を示した。肝臓，腎臓，及び心臓での推定消失半減期（投与 197 日）は，それぞれ 301 時間，314～542 時間，及び 450～454 時間であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-9 に，組織中 TK パラメータを Table 3-10 に示す。

ADA 検査では，対照群を含むすべての投薬群で ADA は検出されなかった。

以上のことから，本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 3-9 ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
パラメータ	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	1	1	0.5	1	1	0.5
	85	1	0.5	0.5	1	0.5	0.5
	197	0.5	1	0.5	0.5	1	2
Cmax (ng/mL)	1	7260	1380	17400	11100	63500	56800
	85	2370	2530	19000	16400	60100	70800
	197	1720	1230	19900	14800	56000	46700
AUClast (ng.h/mL)	1	7360	2460	38200	25800	284000	236000
	85	6040	3970	52200	37900	356000	262000
	197	5350	3180	58000	39300	487000	389000
T1/2 (h)	1	0.76	NA	0.79	0.98	2.57	1.99
	85	1.71	1.22	1.81	0.74	NA	NA
	197	1.72	1.07	2.27	1.23	3.40	2.02

Source: Table 2.6.7.7C-5001351

NA：該当なし，Q4W：4 週間に 1 回

Table 3-10 ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験における組織中平均 TK パラメータ（投与 197 日）

用量 (mg/kg)	10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓						
Tmax (h)	24	24	24	24	24	24
Cmax (µg/g)	87.2	79.7	341	305	901	1100
AUC0-1368h (µg.h/g)	22400	20300	94100	78400	272000	299000
T1/2 (h)	NA	NA	NA	NA	301	NA
腎臓						
Tmax (h)	24	24	24	24	24	24
Cmax (µg/g)	15.7	9.78	128	98.6	705	494
AUC0-1368h (µg.h/g)	7780	4020	45400	35900	307000	241000
T1/2 (h)	408	542	NA	279	474	314
心臓						
Tmax (h)	NA	NA	24	24	24	24
Cmax (µg/g)	NA	NA	3.64	1.71	15.9	6.70
AUC0-1368h (µg.h/g)	NA	NA	2380	829	13000	4490
T1/2 (h)	NA	NA	NA	NA	450	454

Source: Table 2.6.7.7C-5001351

NA：該当なし，Q4W：4 週間に 1 回

3.3 サルを用いた反復投与毒性試験

3.3.1 4 週間反復投与用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.6-8297013]は，インクリシランの反復投与毒性試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群雄 3 例のカニクイザルに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），30，100，及び 300 mg/kg の用量で，1 週間に 1 回（計 5 回），4 週間反復皮下投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1 及び 29 日），血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，補体（C3a，Bb）測定，炎症性サイトカイン［CD40 リガンド，granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)，granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)，interferon gamma (IFN-γ)，IL-10，IL-12 / 23 (p40)，IL-13，IL-15，IL-17，IL-18，IL-1RA，IL-1β，IL-2，IL-5，IL-6，IL-8，monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)，macrophage inflammatory protein (MIP)-1α，MIP-1β，transforming growth factor alpha (TGF-α)，及び vascular endothelial growth factor (VEGF)］測定，C 反応性蛋白（CRP）測定，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査（肝臓，脾臓，腎臓，心臓，肺，脳，投与部位，及び剖検異常部位），及び TK 試験（血漿及び組織）を実施した。TK 試験用の血液試料は，投与 1 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，6，8，24，48，96，120，及び 144 時間後，投与 8，15，及び 22 日の投与前及び投与 1 時間後，投与 29 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，6，8，及び 24 時間後に採取した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態，皮膚刺激性評価，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，30 mg/kg 以上の群で総コレステロール，トリグリセリド，及び LDL-C の低値，並びに ALP の高値が認められた。脂質系の変動はインクリシランの薬理作用と考えられ，関連する病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性変化ではないと判断した。CRP 及び補体濃度に投薬の影響は認められなかった。300 mg/kg 群の 1 例に C3a の高値がみられたが，高用量群における事象であり，対照群及び投与前値に異常は認められていないことから，インクリシラン投与との関連性は否定できなかった。炎症性サイトカイン濃度には個体間及び個体内の大きな変動がみられたが，毒性学的又は臨床的意義のある変化はみられず，投薬の影響は認められなかった。剖検及び器官重量に投薬の影響は認められなかった。病理組織学的検査では，300 mg/kg 群の腎臓で尿細管上皮細胞に好塩基性顆粒が認められた。重症度の低い変化であり，関連する臨床検査値の変化が認められないことから，毒性変化ではないと判断した。

TK 試験では，投与 29 日の血漿中曝露量（Cmax 及び AUClast）は用量の増加に伴い増加した。各投与日（投与 8，15，22，及び 29 日）で投与前の血漿中濃度は同等であり，反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。肝臓，腎臓，及び心臓の組織中濃度は，いずれも用量増加に伴

い増加し，肝臓，腎臓，心臓の順に高値であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-11 に，組織中濃度を Table 3-12 に示す。

RNA 誘導サイレンシング複合体（RISC）ローディングアッセイ

心臓試料中にインクリシランが検出されたことから，インクリシランと心臓における RISC との関連性について，RISC ローディングアッセイにより検討した。Triton X-100 含有溶解緩衝液を用いて心臓組織ホモジネート（166.7 mg/mL）を調製し，超音波処理した後，抗 Argonaute（Ago）2 モノクローナル抗体で Ago2 蛋白質を免疫沈降させ，RT-qPCR により共免疫沈降したインクリシラン miRNA を定量した。インクリシランの定量下限（LLOQ）は 0.08 ng/g であった。測定の結果，Ago2 関連 RISC 中にインクリシランは検出されなかったことから，心臓組織中のインクリシランは遺伝子発現に影響を及ぼさないことが示唆された。

以上のことから，本試験の無毒性量は 300 mg/kg QW と考えられた。

Table 3-11 雄サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ		用量 (mg/kg)		
	検査日	30 QW	100 QW	300 QW
Tmax (h)	1	2.33	1	4.33
	29	2.67	2.67	4.83
Cmax (µg/mL)	1	35.2	58.1	759
	29	21.4	99.7	154
AUClast (µg.h/mL)	1	297	696	11610
	29	293	1179	2584
T1/2 (h)	1	2.16	4.97	3.26
	29	2.70	5.02	NA

Source: Table 2.6.7.6-8297013
NA：該当なし，QW：1 週間に 1 回

Table 3-12 雄サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度（投与 30 日，投与 24 時間後）

組織	用量 (mg/kg)		
	30 QW	100 QW	300 QW
肝臓 (ng/g)	11836840	17672689	30273943
腎臓 (ng/g)	207874	475080	1215428
心臓 (ng/g)	37705	76543	116807

Source: Table 2.6.7.6-8297013
QW：1 週間に 1 回

3.3.2 4 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7D-8302575]は，インクリシランの反復投与毒性試験及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 5 例のカニクイザルに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で 2 週間に 1 回（Q2W，計 3 回），30 mg/kg の用量で 1 週間に 1 回（QW，計 5 回），4 週間反復皮下投与した。また，各群とも雌雄各 2 例を回復性試験群とし，投与期間終了後，8 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察（摂食状態を含む），体重測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1 及び 29 日），眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験（血漿及び組織）を実施した。TK 試験用血液試料は，投与 1 日の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，12，24，48，及び 168 時間後（すべての群），投与 8 日の投与 1 時間後（QW 群のみ），投与 15 日の投与前，並びに投与 1 及び 168 時間後（すべての群），投与 22 日の投与 1 時間後（QW 群のみ），投与 29 日の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，96，168，336，504，1008，1176，及び 1368 時間後（すべての群）に採取した。また，投与期間終了時（投与 30 日）及び回復性試験終了時（投与 86 日）に，肝臓，腎臓，及び心臓試料を採取し，組織中インクリシラン濃度を測定した。

本試験で死亡は認められなかった。一般状態，皮膚刺激性評価，体重，眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，すべての投薬群でインクリシランの薬理作用に関連した LDL-C 及び総コレステロールの低値が認められ，250 mg/kg 群で ALP の高値が認められた。ALP の変化は軽度であり，休薬期間終了時には回復した。剖検及び器官重量に投薬の影響は認められなかった。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がみられたが，発現頻度及び重症度に用量依存性は認められなかった。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。これらの病理組織学的変化に関連する臨床検査値の変動はみられず，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。

TK 試験では，インクリシランの血漿中曝露量（Cmax 及び AUClast）は用量増加に伴う増加を示し，性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。投与期間終了時の組織中濃度には個体間差がみられたが，明らかな性差は認められなかった。肝臓及び腎臓中インクリシラン濃度は用量増加に伴う増加を示したが，心臓組織中濃度は 250 mg/kg Q2W 群のみで定量可能であり，肝臓中濃度の 1/310 であった。投与レジメンの違いから曝露量を比較すると，30 mg/kg QW 群の肝臓及び腎臓中濃度は，同等の総用量（150 mg/kg）である 50 mg/kg Q2W 群の約 1/2 であった。回復

性試験終了時（投与 86 日）には，いずれの組織中濃度も LLOQ 未満であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-13 に，組織中濃度を Table 3-14 に示す。

以上のことから，本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q2W と考えられた。

Table 3-13　サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		10 Q2W		50 Q2W		250 Q2W		30 QW	
パラメータ	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	2.0	2.2	2.2	2.0	5.2	4.0	2.4	2.0
	29	2.8	3.2	2.4	3.0	3.6	3.6	2.8	2.4
Cmax (µg/mL)	1	1.92	1.65	14.4	13.4	54.8	39.6	9.02	7.52
	29	1.70	1.59	14.0	11.8	53.7	46.2	9.94	6.79
AUClast (µg.h/mL)	1	10.5	10.1	108	88.7	808	655	53.9	44.7
	29	10.2	9.03	112	93.6	1360	691	65.6	49.0
AUC0-24h (µg.h/mL)	1	11.0	10.6	113	95.9	770	617	57.3	47.2
	29	14.1	12.7	135	124	808	803	71.2	61.1
T1/2 (h)	1	2.0	1.8	2.4	2.8	3.6	3.7	2.2	2.2
	29	NA	NA	3.9	3.9	6.6	5.9	2.2	2.5

Source: Table 2.6.7.7D-8302575

NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回，QW：1 週間に 1 回

Table 3-14　サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度（投与 30 日，投与 24 時間後）

用量 (mg/kg)	10 Q2W		50 Q2W		250 Q2W		30 QW	
組織	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓 (ng/g)	791	954	83587	148700	339808	278120	70997	46414
腎臓 (ng/g)	565	1278	24698	26481	189586	207646	14928	11579
心臓 (ng/g)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	1212	563	BLQ	BLQ

Source: Table 2.6.7.7D-8302575

BLQ：定量下限（LLOQ）未満［LLOQ：200 ng/g (心臓)］，Q2W：2 週間に 1 回，QW：1 週間に 1 回

3.3.3　15 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7E-8297016]は，インクリシランの反復投与毒性試験及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 5 例のカニクイザルに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で 4 週間に 1 回（Q4W，計 4 回），125 mg/kg の用量で 2 週間に 1 回（Q2W，計 8 回），15 週間反復皮下投与した。また，各群とも雌雄各 2 例を回復性試験群とし，投与期間終了後，8 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1 及び 85 / 99 日），眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，

PCSK9 測定，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，TK 試験（血漿及び組織），及び ADA 検査を実施した。TK 試験用の血液試料は，投与 1 日（すべての群）の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，12，24，48，及び 168 時間後，投与 29 及び 57 日（Q4W 群）の投与前及び投与 2 時間後，投与 15，29，43，57，71，及び 85 日（Q2W 群）の投与前及び投与 2 時間後，投与 85 日（Q4W 群）及び投与 99 日（Q2W 群）の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，96，168，336，504，1008，1176，及び 1368 時間後に採取した。また，投与期間終了時及び回復性試験終了時に，肝臓，腎臓，及び心臓試料を採取し，組織中インクリシラン濃度を測定した。

本試験で死亡は認められなかった。一般状態，皮膚刺激性評価，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査に投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，すべての投薬群でインクリシランの薬理作用に関連した LDL-C 及び総コレステロールの低値が認められた。PCSK9 測定では，すべての投薬群で投与前値からの血漿中 PCSK9 濃度の低下が認められた。LDL-C，総コレステロール，及び PCSK9 の低値は回復性試験終了時にも認められた。剖検及び器官重量測定では，投薬に関連した異常は認められなかった。病理組織学的検査では，投薬に関連した変化として，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がみられたが，発現頻度及び重症度に用量依存性は認められなかった。50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 125 mg/kg Q2W 群の肝臓の細胞質に好塩基性顆粒が認められた。これらの変化では，休薬による回復又は回復傾向が認められた。リンパ節の空胞化マクロファージ集簇及び肝細胞の好塩基性化は，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。

TK 試験では，血漿中曝露量（Cmax，AUC0-8h，及び AUClast）は用量増加に伴う増加を示し，性差及び反復投与による蓄積は認められなかった。いずれの組織においても，すべての用量で投与 672 及び 1344 時間後にインクリシランが検出された。組織中濃度に明らかな性差は認められなかった。投与 672 時間後の 10～50 mg/kg Q4W 間の腎臓中濃度及び 50～250 mg/kg Q4W 間の心臓中濃度は用量比を下回る増加を示したが，50～250 mg/kg Q4W 間の腎臓中濃度及び 10～50 mg/kg Q4W 間の心臓中濃度は概ね用量比例的増加を示した。肝臓，腎臓，及び心臓では，Q4W よりも頻回投与である 125 mg/kg Q2W 群で最高濃度が認められた。投与 672 時間後に比較して投与 1344 時間後の肝臓及び心臓中濃度，並びに 10，50，及び 250 mg/kg Q4W 群の腎臓中濃度は低下したが，125 mg/kg Q2W 群の腎臓中濃度は同等であった。投与 672 時間後の肝臓中インクリシラン濃度は，すべての Q4W 群で腎臓中濃度の 39～152 倍，心臓中濃度の 102～247 倍であった。投与 1344 時間後でも肝臓中濃度は高値を示し，腎臓中濃度の 48～118 倍，心臓中濃度の 136～263 倍であった。125 mg/kg Q2W 群の肝臓中濃度を腎臓中濃度及び心臓中濃度と比較すると，投与 672 時間後でそれぞれ 93 倍及び 125 倍，投与 1344 時間後でそれぞれ 31 倍及び 134 倍であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-15 に，組織中 TK パラメータを Table 3-16 に示す。

ADA 検査では，10 mg/kg 群の雄 1 例，125 mg/kg 群の雌 1 例，並びに 250 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例で，投与期間後半に ADA が確認されたが，曝露量及び PD パラメータに対する ADA の影響は認められなかった。

以上のことから，本試験の無毒性量は 250 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 3-15　サルを用いた 15 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W		125 Q2W	
パラメータ	検査日[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	1.7	2.0	1.7	2.8	3.8	4.9	2.4	3.8
	85 / 99	2.2	3.0	4.2	5.4	2.1	0.7	6.0	5.8
Cmax (µg/mL)	1	1.94	1.73	11.2	9.38	46.8	37.3	28.7	24.8
	85 / 99	1.69	0.857	7.19	6.91	41.9	39.3	19.1	14.9
AUClast (µg.h/mL)	1	10.1	9.69	97.6	95.3	665	683	304	280
	85 / 99	8.55	5.95	94.7	80.0	585	571	306	249
AUC0-8h (µg.h/mL)	1	9.16	8.70	68.2	58.7	323	264	183	158
	85 / 99	6.80	5.18	45.3	43.2	243	232	126	91.7
T1/2 (h)	1	2.3	2.2	2.5	2.7	4.8	6.5	2.5	5.1
	85 / 99	4.1	7.1	5.1	5.1	13.9	18.6	3.9	10.6

Source: Table 2.6.7.7E-8297016

Q2W：2 週間に 1 回，Q4W：4 週間に 1 回

a：投与 85 日（10，50，250 mg/kg Q4W 群），投与 99 日（125 mg/kg Q2W 群）

Table 3-16　サルを用いた 15 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度

用量 (mg/kg)		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W		125 Q2W	
組織	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓 (ng/g)	DP 113[a]	173	124	1047	1279	1208	1438	2501	3289
	RP 57[b]	108	41.3	155	161	748	946	1149	1226
腎臓 (ng/g)	DP 113[a]	2.56	3.00	6.68	8.61	31.8	36.8	29.0	33.0
	RP 57[b]	1.35	1.76	2.79	2.83	5.52	8.84	34.0	42.6
心臓 (ng/g)	DP 113[a]	1.21	0.856	4.65	4.78	8.96	17.0	23.1	23.4
	RP 57[b]	BLQ	0.283	0.872	0.617	4.88	7.62	7.45	10.3

Source: Table 2.6.7.7E-8297016

BLQ：定量下限未満［LLOQ：200 ng/g (心臓)］，DP：投与期間，RP：回復性試験期間

a：投与 672 時間後

b：投与 1344 時間後

3.3.4　40 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7F-5001352]は，インクリシランの反復投与毒性試験及び休薬による回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 4 例のカニクイザルに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），30，100，及び 300 mg/kg の用量で 4 週間に 1 回（計 11 回），40 週間反復皮下投与した。また，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例の回復性試験群を設定し，投与期間終了後，13 週間の休薬により回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，皮膚刺激性評価（投与部位，Draize 変法，投与 1，141，及び 281 日），眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，バイオマーカー検査［cortisol，troponin I，dehydroepiandrosterone (DHEA)，dihydrotestosterone (DHT)］，PCSK9 測定，TDAR 試験，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，TK 試験（血漿及び組織），及び ADA 検査を実施した。TK 試験用の血液試料は，投与 1 日の投与 0.083，0.5，1，2，4，6，8，24，48，96，168，336，504，及び 672 時間後，投与 141 及び 281 日の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，6，8，24，48，96，168，336，504，及び 672 時間後に採取した。ただし，30 及び 100 mg/kg 群は投与 281 日の最終試料採取時点は投与 48 時間後とした。さらに，投与 373 日に回復性試験用動物から血液試料を採取した。肝臓，腎臓，及び心臓試料は，投与期間終了時（投与 283 日，最終投与 2 日後）及び 13 週間回復性試験終了時（投与 374 日，対照群及び高用量群のみ）に採取し，組織中インクリシラン濃度を測定した。

本試験で死亡は認められなかった。一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，身体検査，神経学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，尿検査，及びバイオマーカー検査に投薬の影響は認められなかった。皮膚刺激性評価では，300 mg/kg 群の雌で投与 1 及び 141 日にごく軽度の紅斑（6 例中 4 例），投与 1 日にごく軽度の浮腫（6 例中 6 例）がいずれも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。血液生化学的検査では，すべての投薬群で薬理作用と考えられる LDL-C 及び総コレステロールの低値が認められた。PCSK9 測定では，すべての投薬群で投与前値からの血漿中 PCSK9 濃度の低下が認められた。LDL-C，総コレステロール，及び PCSK9 の低値は回復性試験終了時にも認められた。100 mg/kg 以上の群の雄で ALP の高値，100 mg/kg 以上の群の雌で 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。剖検及び器官重量測定では，投薬に関連した異常は認められなかった。病理組織学的検査では，投薬に関連した変化として，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。リンパ節の変化の発現頻度及び重症度は用量依存的増加を示した。いずれの変化も休薬による回復傾向が認められた。これらの変化は概して重症度が低く，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判断した。TDAR 試験では，30 mg/kg 以上の群で免疫グロブリン M（IgM）応答の低下，300 mg/kg 群で免疫グロブリン G（IgG）応答の低下が認められた。回復性試験終了時の検査では，対照群と同等の反応が認められた。

TK 試験では，血漿中インクリシランは 30 mg/kg 群で投与 8 時間後まで，100 及び 300 mg/kg 群で投与 24 時間後まで検出された。回復性試験（投与 373 日）で採取した血液試料はすべて

LLOQ 未満であった。血漿中曝露量（Cmax 及び AUC0-48h）は用量増加に伴う増加を示した。曝露量（AUC0-48h）に明らかな性差はみられず，反復投与による蓄積は認められなかった。組織中濃度測定では，投与 283 日にはいずれの組織においてもインクリシランが検出され，すべての用量で肝臓中濃度が最高値であった。組織中濃度に性差はみられず，いずれの組織においても用量増加に伴う増加が認められた。回復性試験（投与 374 日）の組織中濃度は投与 283 日と比較して低下したが，肝臓中濃度が最も高く，腎臓と心臓はほぼ同等であった。血漿中 TK パラメータを Table 3-17 に，組織中濃度を Table 3-18 に示す。

ADA 検査では，100 mg/kg 群の雌 1 例，300 mg/kg 群の雌 2 例に，投与期間後半に ADA が検出されたが，曝露量及び PD パラメータに対する ADA の影響は認められなかった。

以上のことから，本試験の無毒性量は 300 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 3-17　サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
パラメータ	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	1.75	1.00	2.00	1.63	2.58	2.42
	141	2.00	1.50	2.25	2.25	2.25	4.33
	281	2.00	2.00	4.00	5.50	2.83	5.67
Cmax (ng/mL)	1	7580	10200	18600	33500	57100	82400
	141	6470	8020	15900	21300	34100	68200
	281	7530	8490	17300	22800	45300	63800
AUC0-48h (ng.h/mL)	1	48100	56700	254000	305000	852000	1010000
	141	47900	54300	226000	241000	598000	972000
	281	73700	91300	275000	291000	792000	990000
T1/2 (h)	1	2.45	2.04	3.61	1.78	3.84	4.39
	141	2.57	2.16	4.46	2.63	6.04	5.07
	281	2.26	2.40	4.55	4.80	5.72	5.46

Source: Table 2.6.7.7F-5001352

Q4W：4 週間に 1 回

Table 3-18　サルを用いた 40 週間反復投与毒性試験における組織中平均濃度

用量 (mg/kg)		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
組織	検査日	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓 (ng/g)	283 (DP)	661000	490000	1640000	1560000	2570000	2070000
	374 (RP)	NA	NA	NA	NA	1230000	691000
腎臓 (ng/g)	283 (DP)	17300	17100	50500	75400	121000	134000
	374 (RP)	NA	NA	NA	NA	2720	3170
心臓 (ng/g)	283 (DP)	4110	7530	13200	17100	19700	21500
	374 (RP)	NA	NA	NA	NA	5360	8810

Source: Table 2.6.7.7F-5001352

DP：投与期間，NA：該当なし，Q4W：4 週間に 1 回，RP：回復性試験期間

4 遺伝毒性試験

インクリシランの遺伝子毒性について，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，及びラットを用いた骨髄小核試験により評価した。各試験の要約を以下に示す。

4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

本試験[Table 2.6.7.8A-8297011]は，ネズミチフス菌株（TA98，TA100，TA1535，及びTA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いた復帰突然変異試験によりインクリシランの遺伝子突然変異誘発性を評価することを目的としてGLP適用で実施した。

本試験の適用濃度は，予備試験の結果から代謝活性化系非存在下及び存在下ともに1.60～5000 µg/plateとし，プレート法により約52時間培養後，復帰突然変異コロニー数を計数した。被験物質の媒体には注射用生理食塩液を使用した。

試験の結果，代謝活性化系非存在下及び存在下ともに，5000 µg/plateまでの濃度で細胞毒性は認められなかった。本試験では，いずれの菌株においても，インクリシラン適用による復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のことから，本試験条件下においてインクリシランに遺伝子突然変異誘発性はないものと考えられた。

4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

本試験[Table 2.6.7.8B-8297023]は，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験によりインクリシランの染色体異常誘発性を評価することを目的としてGLP適用で実施した。

本試験の適用濃度は，連続処理法及び短時間処理法ともに，0（媒体），245，350，及び500 µg/mLとし，連続処理法では代謝活性化系非存在下で24時間適用，短時間処理法では代謝活性化系存在下及び非存在下で3時間適用及び21時間回復とした。被験物質の媒体には注射用生理食塩液を使用し，陽性対照物質にはmitomycin C及びcyclophosphamideを使用した。

本試験では，連続処理法及び短時間処理法ともに染色体異常を有する細胞の出現頻度の増加は認められず，本薬に染色体異常誘発性はないものと考えられた。一方，陽性対照物質では染色体異常誘発性が認められ，実験系の妥当性が確認された。

4.3 ラットを用いた小核試験

本試験[Table 2.6.7.9A-8297010]は，ラットの骨髄を用いた*in vivo*小核試験によりインクリシランの小核誘発性を評価することを目的としてGLP適用で実施した。

注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），500，1000，及び2000 mg/kgの用量で，SD系ラットに単回皮下投与した。陽性対照群には，脱イオン水に溶解したcyclophosphamideを60 mg/kgの用量で，単回経口投与した。各群の動物数は，媒体対照群及び2000 mg/kg群は1群雌雄各10例，500及び1000 mg/kg群は1群雄10例，陽性対照群は雄5例を

供試した。投与 24 時間後又は 48 時間後に，各群半数の骨髄を採取した。陽性対照群では，投与 24 時間後に全例の骨髄を採取した。骨髄標本は acridine orange 染色後，蛍光顕微鏡で観察した。

本試験では，いずれの用量においてもインクリシランの細胞毒性はみられず，小核を有する網状赤血球の発現頻度の有意な増加は認められなかった。また，陽性対照群では明らかな小核形成誘発性が認められ，本試験の妥当性が確認された。

本試験における TK パラメータを Table 4-1 に示す。Cmax は用量比を下回る増加を示したが，AUC0-24h は概ね用量比例的な増加を示した。2000 mg/kg 群の曝露量に明らかな性差は認められなかった。消失半減期は 1.8～6.7 時間であった。

以上のことから，本試験条件下においてインクリシランに小核誘発性はないものと考えられた。

Table 4-1　　ラットを用いた小核試験における血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)			
	500	**100**	**2000**	
	雄	雄	雄	雌
Tmax (h)	1.0	1.0	2.0	2.0
Cmax (µg/mL)	95.1	132	235	251
AUC0-24h (µg.h/mL)	810	1630	3050	2900
T1/2 (h)	1.8	1.9	2.7	6.7

Source: Table 2.6.7.9A-8297010

5　がん原性試験

5.1　マウスを用いたがん原性試験

5.1.1　rasH2 野生型マウスを用いた 58 日間反復皮下投与用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.10A-8002111]は，インクリシランのがん原性試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 12 例の rasH2 野生型マウスに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），375，750，及び 1500 mg/kg の用量で，4 週間に 1 回（計 3 回），58 日間反復皮下投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験（血漿及び組織）を実施した。1 群雌雄各 51 例（対照群は雌雄各 12 例）の TK 群を設定し，TK 試験用の血液及び組織試料を採取した。血液試料は，投薬群では投与 1 日及び 57 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後，投与 29 日の投与前，並びに投与 1 及び 24 時間後に採取した。投与 29 日は試料採取時点が 2 時点であるため，TK パラメータは算出しなかった。対照群では投与 1 日の投与前及び投与 1 時間後，投与 29 日及び 57 日の投与 1 時間後に採取した。組織試料（肝臓及び腎臓）は，対照群では投与 1 日の投与前及び投与 1 時間後，投与 29 及び 57 日の投与 1 時間後に採

取した。投薬群では，投与 1 及び 57 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後，投与 29 日の投与前，並びに投与 1 及び 24 時間後に採取したが，分析は投与 1，57，及び 29 日の投与前，並びに投与 1 及び 24 時間後の組織のみで実施した。

本試験では，投薬に関連した死亡はみられず，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，剖検，及び器官重量測定で投薬の影響は認められなかった。血液学的検査では，375 mg/kg 以上の群の雄で好中球数及び単球数の高値，雌で単球数の高値が認められた。血液生化学的検査では，750 mg/kg 以上の群の雄及び 1500 mg/kg 群の雌で ALP の高値，750 mg/kg 以上の群の雌で ALT の高値，375 mg/kg 以上の群の雌雄で総コレステロール，HDL-C，及び LDL-C の低値，並びにトリグリセリドの高値が認められた。病理組織学的検査では，750 mg/kg 以上の群の雄及び 375 mg/kg 以上の群の雌で投与部皮下に泡沫状組織球の集簇が認められた。

TK 試験では，曝露量（Cmax 及び AUClast）の用量増加に伴う増加が認められた。AUClast 及び投与 1 日の Cmax に明らかな性差はみられなかったが， 投与 57 日の Cmax は，すべての用量で雌がわずかに高値（雌／雄比：1.85～2.29）を示した。雄では反復投与による蓄積はみられなかったが，雌では投与 57 日の曝露量（AUClast）に軽度の増加［累積係数（R_{AUC}）：1.56～2.17］が認められた。肝臓中曝露量（Cmax 及び AUC0-24h）は，用量比を下回る増加又は用量比例的な増加を示した。曝露量（Cmax 及び AUC0-24h）に，投与 1 及び 57 日の 1500 mg/kg 群を除いて，性差は認められなかった。投与 1 及び 57 日の 1500 mg/kg 群の曝露量は，雄に比較して雌で低値であった。反復投与による肝臓への曝露量の蓄積は認められなかった。腎臓中曝露量（Cmax 及び AUC0-24h）は，用量比を上回る増加又は用量比例的な増加を示した。投与 1 日ではすべての投薬群及び投与 29 日の 375 mg/kg 群の曝露量（Cmax 及び AUC0-24h）に性差はみられなかったが，投与 29 日の 750 及び 1500 mg/kg 群の雌の曝露量（Cmax 及び AUC0-24h）はわずかな高値を示し，投与 57 日にはすべての投薬群の雌で高値が認められた。投与 29 及び 57 日ではすべての群の雄及び 375 mg/kg 群の雌の曝露量（AUC0-24h）に反復投与による蓄積はみられなかったが，投与 29 日の 750 及び 1500 mg/kg 群の雌，並びに投与 57 日のすべての群の雌で軽度の蓄積が認められた。血漿中 TK パラメータを Table 5-1 に，組織中 TK パラメータを Table 5-2 に示す。

以上のことから，本試験の無毒性量は 1500 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 5-1　rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験における血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	試験日	用量 (mg/kg)					
		375 Q4W		750 Q4W		1500 Q4W	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	0.5	1	1	1	1	1
	57	1	1	2	0.5	4	1
Cmax (ng/mL)	1	90800	74900	133000	138000	222000	174000
	57	116000	214000	174000	399000	377000	847000

パラメータ	試験日	用量 (mg/kg)					
		375 Q4W		750 Q4W		1500 Q4W	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
AUClast (ng.h/mL)	1	333000	249000	743000	488000	1300000	866000
	57	350000	388000	960000	810000	2210000	1880000
T1/2 (h)	1	1.32	0.945	1.55	1.80	3.02	2.86
	57	2.31	0.492	NA	0.896	NA	2.64

Source: Table 2.6.7.10A-8002111
NA：該当なし，Q4W：4 週間に 1 回

Table 5-2 rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験における組織中平均 TK パラメータ

パラメータ	試験日	用量 (mg/kg)					
		375 Q4W		750 Q4W		1500 Q4W	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓							
Cmax (ng/g)	1	409000	278000	446000	549000	1010000	500000
	29	339000	264000	471000	378000	606000	484000
	57	462000	310000	551000	431000	809000	379000
AUC0-24h (ng.h/g)	1	5590000	4280000	6110000	7520000	12600000	6730000
	29	4920000	3920000	6640000	5220000	8480000	6590000
	57	6800000	4830000	7740000	5720000	10300000	5380000
Tmax (h)	1	24	24	24	24	24	24
	29	24	24	24	24	24	24
	57	24	24	24	24	24	24
腎臓							
Cmax (ng/g)	1	309000	340000	534000	533000	950000	852000
	29	341000	292000	714000	1080000	1360000	2450000
	57	227000	805000	396000	1050000	860000	2310000
AUC0-24h (ng.h/g)	1	4470000	5740000	8090000	8960000	14400000	11500000
	29	5070000	4950000	10000000	15900000	19300000	34300000
	57	3610000	11100000	6300000	15100000	13400000	31700000
Tmax (h)	1	1	1	1	1	1	1
	29	1	1	1	1	1	1
	57	1	1	1	1	1	1

Source: Table 2.6.7.10A-8002111
Q4W：4 週間に 1 回

5.1.2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験

本試験[Table 2.6.7.10B-8002112]は，インクリシランのがん原性を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 25 例の rasH2 マウス［CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic］に，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），300，600，及び 1500 mg/kg の用量で，4 週間に 1 回（計 7 回），26 週間反復皮下投与した。本試験の用量は，rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験（5.1.1 項）の結果に基づき設定した。すなわち，当該試験において忍容性は良好であり，無毒性量である最高用量の 1500 mg/kg まで明らかな毒性は認められなかったため，ICH ガイドライン S1C(R2)「がん原性試験ガイドライン」に従い，がん原性試験の高用量として推奨される 1500 mg/kg/回を最高用量に設定した。1 群雌雄各 25 例を陽性対照群として設定し，クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 4.5）に溶解した N-Methyl-N-Nitrosourea（MNU）を 75 mg/kg の用量で投与 1 日に単回腹腔内投与した。検査項目として，一般状態及び触知腫瘤の観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，剖検，及び病理組織学的検査を実施した。

本試験では，インクリシラン投与に関連した死亡は認められなかった。媒体対照群及び投薬群では高い生存率を示し，生存率は 92%～100%であった。いずれの群においても投薬に関連した一般状態の変化は認められなかった。すべての群の雄で，体重及び体重増加量の低値が認められた。雌では，体重及び体重増加量への投薬の影響は認められなかった。いずれの群においても摂餌量への影響は認められず，血液学的検査及び剖検で投薬に関連した異常はみられなかった。触知腫瘤の観察では，300 mg/kg 群の雌 2 例に腫瘤が観察されたが，低頻度であり用量関連性がみられないことから投薬に関連した変化ではないと判断した。これらの腫瘤は膿瘍及び血管肉腫と関連していた。病理組織学的検査では，インクリシラン投与に起因する腫瘍性及び非腫瘍性病変は認められなかった。

腫瘍性病変

本試験で認められた肺の腫瘍性病変の発現頻度を Table 5-3 に示す。いずれにおいても，インクリシラン投与に関連した統計学的有意な発現頻度の増加は認められなかった。対照群及び投薬群で，肺の細気管支・肺胞腺腫，並びに癌を含む良性及び悪性腫瘍が認められたが，本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みられていることから，自然発生性腫瘍と考えられた。また，投薬群の雌に関しても，用量反応性がみられないこと，前腫瘍性病変である細気管支・肺胞の過形成が認められないこと，多発性の変化ではないこと，本系統のマウスで一般的にみられる腫瘍であることから，インクリシラン投与の影響ではないと考えられた。肺腫瘍は，rasH2 マウスで最も高頻度に発現する腫瘍である。本試験における雌の細気管支・肺胞腺腫及び癌の発現頻度（それぞれ 1/25 例～2/25 例，4%～8%）は，試験実施施設及び公表文献の背景値の範囲内であった（Table 5-4）。

その他の腫瘍性病変の発現頻度を Table 5-5 に示す。投薬群の雄でみられた脾臓の血管肉腫は，発現頻度に用量関連性がみられず，発現頻度（1/25 例～3/25 例，4%～12%）は公表文献（0%～16%，Paranijpe et al. 2013）及び試験施設の背景値（0%～16%）の範囲内であったことから自然発生性変化と判断した。

Table 5-3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における肺の腫瘍性病変の発現頻度

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0[a]		300		600		1500		75[b]	
動物数	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25
肺										
細気管支・肺胞腺腫	3	0	1	1	1	2	2	1	2	0
細気管支・肺胞癌	0	0	1	2	0	1	0	0	0	1
腺腫＋癌	3	0	2	3	1	3	2	1	2	1

Source: Table 2.6.7.10B-8002112

a：媒体

b：陽性対照，投与 1 日に N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) を単回経口投与

Table 5-4 rasH2 マウスにおける自然発生性肺腫瘍の背景値

腫瘍性病変	CR-MTL Data		Paranjpe et al. (2013)		Nambiar et al. (2012)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肺						
細気管支・肺胞腺腫	(0%～16%)	(0%～8%)	11.7% (0%～24%)	6.5% (0%～24%)	5.3% (0%～20%)	5.4% (0%～6.7%)
細気管支・肺胞癌	(0%～4%)	(0%～4%)	0.6% (0%～8%)	1.1% (0%～4%)	0.6% (0%～6.7%)	1.0% (0%～6.7%)
腺腫＋癌	NA	NA	12.3%	7.7%	NA	NA

Source: Table 2.6.7.10B-8002112，Nambiar et al. 2012，Paranjpe et al. 2013

CR-MTL Data：試験実施施設の背景値，NA：該当なし，括弧内に範囲値（%）を示す。

Table 5-5 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における主な腫瘍性病変の発現頻度

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0[a]		300		600		1500		75[b]	
動物数	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25
血液リンパ細網系組織	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
悪性リンパ腫	0	1	0	0	0	0	0	0	19	24
皮膚	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
扁平上皮乳頭腫	1	0	0	0	0	0	0	0	11	7
胃	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	19	20
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
脾臓	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
血管肉腫	0	3	3	0	1	3	2	2	1	0

Source: Table 2.6.7.10B-8002112

a：媒体

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0[a]		300		600		1500		75[b]	
動物数	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25

b：陽性対照，投与 1 日に N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) を単回経口投与

非腫瘍性病変

主要な非腫瘍性病変を Table 5-6 に示す。インクリシランに関連した病理組織学的変化は認められなかった。媒体対照群及び投薬群でみられた病理組織学的変化は，偶発的変化，rasH2 マウスで一般的な変化，又は媒体対照群と投薬群の発現頻度及び程度に差がみられない変化であることから，インクリシラン投与に関連した変化ではないと考えられた。

Table 5-6 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における主な非腫瘍性病変の発現頻度

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0[a]		300		600		1500		75[b]	
動物数	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25	雄 25	雌 25
眼 (検査動物数)	25	25	25	25	25	25	25	24	25	24
網膜変性／萎縮	(0)[c]	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(18)	(15)
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
重度	0	0	0	0	0	0	0	0	18	12
胃 (検査動物数)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
扁平上皮過形成	(10)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(3)	(0)	(16)	(18)
軽微	10	1	1	2	1	2	2	0	4	6
軽度	0	1	0	0	0	0	1	0	7	7
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Source: Table 2.6.7.10B-8002112

a：媒体

b：陽性対照，投与 1 日に N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) を単回経口投与

c：括弧内は総発現数

陽性対照群

陽性対照群の生存率は低く，生存率は雄で 24%，雌で 4%であった。主な死因はリンパ腫であった。触知腫瘤の観察では，皮膚腫瘤の発現頻度の増加が認められた。雌雄で体重及び体重増加量の低値，雄で摂餌量の低値が認められた。生存例（雄 6 例，雌 1 例）の血液学的検査では，リンパ球数，好中球数，及び網状赤血球数の高値，血小板数の低値がみられ，リンパ腫又は他の腫瘍の発現に関連した変化と考えられた。剖検では，腎臓，肝臓，リンパ節，及び脾臓の腫大又は淡色化，皮膚の腫瘤及び結節，胃の腫瘤，結節，及び隆起，並びに胸腺の腫瘤が認められた。これらは MNU 投与により rasH2 マウスで頻発する病変であり，皮膚の扁平上皮乳頭腫に関連し

た結節及び腫瘤，並びに胃の扁平上皮過形成を除き，悪性リンパ腫に関連した変化と考えられた。病理組織学的検査では，非腫瘍性病変として眼の網膜の変性・萎縮，胃の扁平上皮過形成が認められた（Table 5-6）。腫瘍性病変として，リンパ腫，胃腫瘍，及び皮膚腫瘍が高頻度にみられ，公表文献における MNU 投与による発現頻度と同等であった（Nambiar et al. 2012）。陽性対照群のリンパ腫，胃乳頭腫，及び皮膚乳頭腫には統計学的に有意な発現頻度の増加が認められた。公表文献と同様に，MNU 投与により自然発生腫瘍の比例的増加は認められなかった（Nambiar et al. 2012）。

以上のとおり，rasH2 マウスにインクリシランを 1500 mg/kg までの用量で 4 週間に 1 回，26 週間（計 7 回）皮下投与した結果，がん原性を示唆する変化は認められなかった。陽性対照群では，MNU を 75 mg/kg の用量で投与 1 日に単回腹腔内投与した結果，予測されたとおり，生存率の低下，リンパ腫，並びに皮膚及び胃の扁平上皮乳頭腫及び癌の発現頻度の増加が認められ，実験系の妥当性が確認された。

5.2 ラットを用いた 2 年間がん原性試験

本試験[Table 2.6.7.10C-1016-1021]は，インクリシランのがん原性を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 55 例の SD 系ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体，計 2 群），40，95，及び 250 mg/kg の用量で，4 週間に 1 回，104 週間反復皮下投与した。本試験の用量は先に実施したラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項）の結果に基づき設定した。すなわち，高用量（250 mg/kg）は雌ラットで体重増加量の減少がみられたこと及び雄ラットの AUC がヒト AUC の 25 倍を超えていることに基づいて設定した。検査項目として，一般状態及び触知腫瘤の観察，体重及び摂餌量測定，剖検，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。1 群雌雄各 12 例（対照群は雌雄各 4 例）の TK 群を設定し，TK 試験用の血液試料を採取した。TK 試験用の血液試料は，投与 1，85，及び 197 日（それぞれ投与 1，13，及び 29 週）の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，8，24，及び 48 時間後に TK 試験用動物から採取した。

本試験では，投与 100 週以前にすべての投与群で生存動物数が 15 例以下となったため，予定した 104 週間の投与期間を完了せずに早期に試験を終了した（Table 5-7）。生存動物数には性差がみられ，すべての群で雌が早期に試験を終了した。雌では，95 mg/kg 群が最初に試験終了となり，その後，250 mg/kg 群，40 mg/kg 群の順に約 2 週間間隔で早期に試験を終了させた。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。

Table 5-7 早期試験終了日程一覧

群	用量 (mg/kg)	生存状況 [a]					
		雄			雌		
		動物数	生存率 (%)	試験終了週	動物数	生存率 (%)	試験終了週
1	媒体	13	24	99	19	35	90
2	媒体	14	25	99	19	35	90
3	40	15	27	95	15	27	90
4	95	14	25	99	15	27	86
5	250	15	27	94	15	27	88

Source: Table 2.6.7.10C-1016-1021

a：剖検日の待機中に死亡した個体を除く。

一般状態，体重，及び摂餌量に投薬に関連した変化は認められなかった。触知腫瘤の観察では，対照群とインクリシラン投与群の発現時期及び分布に差は認められなかった。

剖検では，インクリシラン投与に関連した変化として，40 mg/kg 以上の群の雌雄で肝臓のびまん性の淡色化，40 mg/kg 以上の群の雌及び 250 mg/kg 群の雄の肝臓の淡色領域，95 mg/kg 以上の群の雌及び 250 mg/kg 群の雄で肝臓に巣状の淡色化の発現頻度の増加が認められた。関連する病理組織学的変化として，肝細胞空胞化が認められた。

病理組織学的検査では，乳腺に腫瘍性病変がみられ，非増殖性病変が肝臓，腎臓，及び投与部位に認められた。認められた病変と試験終了時期の間に関連性は認められなかった。各器官で認められた変化を以下に要約する。

腫瘍性増殖性病変

乳腺：乳腺における腫瘍性病変の発現頻度を Table 5-8 に示す。250 mg/kg 群の雌雄で良性線維腺腫の発現頻度の増加が認められた。雌では，乳腺の良性線維腺腫の発現頻度に傾向検定で有意差が認められ，95 及び 250 mg/kg 群の発現頻度に対照群と比較して統計学的有意差が認められた。さらに，雌における線維腺腫を含む乳腺腫瘍の総発現頻度については，傾向検定で有意差が認められ，250 mg/kg 群の雌の発現頻度に対照群と比較して有意差が認められた。雌における乳腺腫瘍の総発現頻度の有意な増加は，良性線維腺腫の発現頻度の増加が関与しているものと考えられたが，本試験でみられた良性線維腺腫の発現頻度は Crl:CD(SD)系ラットの公表背景値（7.69%～68.00%，Giknis and Clifford 2013）の範囲内であった。250 mg/kg 群の雄の乳腺線維腺腫の発現頻度（9.4%）は，対照群（1.9%～3.7%）及び公表背景値（Table 5-9）を上回る頻度であったが，傾向検定及びペアワイズ比較において有意差は認められなかった。40 及び 95 mg/kg 群の雌の乳腺腺癌の発現頻度はいずれも 29.1%であり，対照群（23.64%～25.45%）を上回ったが，背景値の範囲内であった（Table 5-9）。雌の乳腺腺癌の発現頻度に統計学的有意差は認められなかった。

Table 5-8 乳腺における腫瘍性病変の発現頻度

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0		0		40		95		250	
動物数	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55
検査動物数	54	55	54	55	54	55	52	55	53	55
担癌動物数	1	42	2	48	2	56	0	50	5	56
悪性腺癌	0	14 (25.5)	0	13 (23.6)	0	16 (29.1)	0	16 (29.1)	0	15 (27.3)
良性腺腫	0	2 (3.6)	0	2 (3.6)	0	3 (5.5)	0	3 (5.5)	0	3 (5.5)
悪性癌肉腫	0	0	0	0	0	1 (1.8)	0	0	0	0
良性線維腺腫	1 (1.9)	22 (40.0)	2 (3.7)	27 (49.1)	2 (3.7)	29 (52.7)	0	29 (52.7)	5 (9.4)	35 (63.6)
線維腺腫内に発生した腺癌	0	4 (7.3)	0	6 (10.9)	0	6 (10.9)	0	2 (3.6)	0	3 (5.5)
腺扁平上皮癌	0	0	0	0	0	1 (1.8)	0	0	0	0

Source: Table 2.6.7.10C-1016-1021
括弧内は発現率 (%) を示す。

Table 5-9 Crl:CD(SD)系ラットにおける自然発生性乳腺腫瘍の背景値

腫瘍性病変	Giknis and Clifford (2004)		Giknis and Clifford (2013)	
	雄	雌	雄	雌
悪性腺癌	0.56%～4.29%	8.57%～58.33%	1.54%～2.00%	1.67%～27.69%
良性腺腫	0.87%～2.00%	1.14%～32.00%	1.54%～1.54%	0.83%～13.33%
悪性癌肉腫	NA	1.67%～5.00%	2.00%	NA
良性線維腺腫／線維腫	1.11%～5.77%	13.33%～62.31%	1.67%～4.00%	7.69%～68.00%

Source: Giknis and Clifford 2004, Giknis and Clifford 2013

肝臓：本試験では，良性肝細胞腺腫が 2 例，悪性肝細胞癌が 1 例に認められた。肝細胞腺腫は，試験終了時に 250 mg/kg 群の雄 1 例，投与 338 日の早期試験終了時に 95 mg/kg 群の雌 1 例で認められた。肝細胞癌は，投与 376 日に死亡した 95 mg/kg 群の雄 1 例で認められた。いずれも腫瘍サイズは 1 cm 以下であり，これらの腫瘍性病変は死亡又は早期試験終了の原因に関与しないと考えられた。本試験における肝細胞腺腫及び癌の発現頻度（1.8%）は，Crl:CD(SD)系ラットの自然発生性腫瘍の公表背景値（Table 5-10）の範囲内であり，傾向検定及びペアワイズ比較で統計学的有意差は認められなかった。

Table 5-10 Crl:CD(SD)系ラットにおける自然発生性肝細胞腫瘍の背景値

腫瘍性病変	Giknis and Clifford (2004)		Giknis and Clifford (2013)	
	雄	雌	雄	雌
肝細胞腺癌	0.77%～6.67%	0.77%～1.67%	1.67%～2.50%	NA
肝細胞腺腫	0.56%～8.00%	0.56%～13.33%	1.00%～6.15%	1.00%～10.00%

Source: Giknis and Clifford 2004, Giknis and Clifford 2013
NA：該当なし

その他の組織：甲状腺の良性 C 細胞腺腫，皮下組織の良性線維腫，皮下組織腫瘍の組合せ（線維肉腫＋線維腫），及び血液リンパ細網系組織の悪性リンパ腫の発現頻度に統計学的有意差（傾向検定及びペアワイズ比較）が認められた。しかしながら，これらはいずれも統計解析において「発現頻度の高い腫瘍（背景値の発現頻度が 1%を上回る）」とみなされ，発現頻度を考慮した有意水準が使用される（Lin and Rahman 1998）ことから，傾向検定及びペアワイズ比較で算出された p 値は統計学的に有意ではないと判定された。

非腫瘍性増殖性病変

インクリシラン投与に関連した肝臓の非腫瘍性増殖性病変が 40 mg/kg 以上の群で認められた（Table 5-11）。40 mg/kg 以上の群の雌及び 95 mg/kg 以上の群の雄で，卵円形細胞過形成の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，250 mg/kg 群の雌で再生性肝細胞過形成が認められ，40 mg/kg 以上の群の雌及び 95 mg/kg 以上の群の雄で好酸性変異細胞巣の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，95 mg/kg 以上の群の雌で好塩基性変異細胞巣の発現頻度及び重症度の増加が認められた。

Table 5-11 肝臓における主な非腫瘍性増殖性病変の発現頻度

群	1		2		3		4		5	
用量 (mg/kg)	0 Q4W		0 Q4W		40 Q4W		95 Q4W		250 Q4W	
動物数	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55
検査動物数	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
卵円形細胞過形成	1	0	0	0	0	3	3	11	4	21
軽微	1	0	0	0	0	3	3	11	4	15
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
再生性肝細胞過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
好酸性変異細胞巣	2	0	1	1	1	4	5	4	11	10
軽微	2	0	1	1	1	2	1	3	6	4
軽度	0	0	0	0	0	2	1	0	2	5

群	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
用量 (mg/kg)	**0 Q4W**		**0 Q4W**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
動物数	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55	雄 55	雌 55
中等度	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1
重度	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
好塩基性変異細胞巣	7	28	11	28	1	29	8	38	9	41
軽微	7	23	11	20	1	21	7	29	7	20
軽度	0	3	0	7	0	6	1	6	2	19
中等度	0	1	0	1	0	1	0	3	0	2
重度	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0

Source: Table 2.6.7.10C-1016-1021

非増殖性病変

インクリシラン投与に関連した非増殖性病変が，40 mg/kg 以上の群の肝臓，腎臓，及び投与部位に認められた。

肝臓：40 mg/kg 以上の群の雌雄で，脂肪蓄積を示唆する小胞性又は大胞性の肝細胞空胞化の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，95 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg 以上の群の雌で肝細胞肥大の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，95 mg/kg 以上の群の雌雄で単細胞壊死の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，40 mg/kg 以上の群の雄及び 95 mg/kg 以上の群の雌で嚢胞性変性（巣状／多巣性）の発現頻度の用量依存的な増加，40 mg/kg 以上の群の雌雄でクッパー細胞に褐色色素顆粒蓄積の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加，40 mg/kg 以上の群の雄及び 95 mg/kg 以上の群の雌で肝細胞の細胞質内硝子体封入の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加が認められた。

腎臓：40 mg/kg 以上の群の雌雄で近位尿細管上皮細胞の細胞質内好塩基性顆粒の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加が認められた。

投与部位：40 mg/kg 以上の群の雌雄で灰色色素顆粒を含むマクロファージ集簇の発現頻度及び重症度の用量依存的な増加が認められた。

TK 試験では，曝露量に顕著な性差はみられず，Cmax は用量比例的増加を示し，AUClast は用量比を上回る増加を示した。投与 1 日から投与 197 日の Cmax に蓄積はみられなかったが，AUClast では軽度の蓄積が認められた。血漿中 TK パラメータを Table 5-12 に示す。

Table 5-12　　ラットを用いたがん原性試験における血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)		40 Q4W		95 Q4W		250 Q4W	
パラメータ	試験日	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)	1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	2.000
	85	1.000	1.000	2.000	1.000	0.500	1.000
	197	0.500	2.000	2.000	2.000	0.500	2.000
Cmax (ng/mL)	1	9039	6447	24833	22082	59439	51414
	85	7689	7073	24277	21287	43960	50489
	197	8079	4897	17352	21648	47894	42379
AUClast (ng.h/mL)	1	24288	17616	81906	65191	368825	225120
	85	35768	26291	111781	80361	476493	373945
	197	64217	25056	182327	118554	546880	421177
T1/2 (h)	1	1.095	1.072	1.413	1.219	NA	NA
	85	2.305	NA	NA	1.713	4.098	1.681
	197	2.692	NA	3.040	2.103	9.684	2.006

Source: Table 2.6.7.10C-1016-1021
NA：該当なし，Q4W：4 週間に 1 回

以上のとおり，本試験では，すべての投与群の生存数が 15 例以下となったため予定した投与 104 週以前に早期試験終了した。雌雄ともに生存率に差は認められなかった。病理組織学的検査では非増殖性病変が肝臓，腎臓，及び投与部位に認められた。肝臓の変化として大胞性／小胞性の空胞化，肝細胞肥大，単細胞壊死，嚢胞性変性（巣状／多巣性），クッパー細胞に褐色色素顆粒蓄積，及び肝細胞の細胞質内硝子体封入がみられ，腎臓の変化として，近位尿細管上皮細胞の好塩基性顆粒が，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集簇が認められた。腫瘍性増殖性変化として，雌で乳腺の良性線維腺腫の発現頻度の増加が認められたが，ヒトでは前癌病変とは考えられていないため，ヒトへの外挿性は低いものと考えられた。さらに，乳腺の良性線維腺腫の発現頻度は，公表背景値の範囲内であった。したがって，本試験では投薬に関連した腫瘍性病変はみられず，インクリシランにがん原性は認められなかった。

6　　生殖発生毒性試験

インクリシランの生殖発生毒性について，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評価した。生殖発生毒性試験における主な結果は以下のとおりである。

- インクリシランの生殖発生毒性を示唆する変化はみられず，F1 児からの間接的曝露による F2 児への影響は認められなかった。
- インクリシランは胎児血漿中に低濃度に認められたが，一部のウサギ胎児を除き胎児肝臓中では検出されなかった。

- インクリシランが母乳中に確認されたが，F1 児の血漿中には認められなかった。

6.1 ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験

6.1.1 雄ラットを用いた授胎能及び初期胚発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.12A-9001068]は，雄ラットの授胎能及び初期胚発生に対するインクリシランの影響を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。

1 群 22 例の SD 系雄ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），10，50，及び 250 mg/kg の用量で，2 週間に 1 回，交配前 29 日から交配期間中及び交配後 14 日間（投与日：投与 1，15，29，43，及び 57 日）に反復皮下投与した。対照群：雄 3 例，投薬群：1 群雄 6 例を TK 試験用動物として設定し，投与 1，15，及び 29 日に同様に投与した。雄動物については，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，交尾及び生殖機能検査（精子運動性，精子数，精子形態），剖検，器官重量測定，精巣の病理組織学的検査（精子形成周期検査），及び TK 試験を実施した。無処置雌動物については，体重，性周期，卵巣及び子宮内パラメータ（黄体数及び分布，着床数，生存及び死亡胎児数，並びに早期胚吸収）を評価した。TK 試験用血液試料は，投与 1 及び 29 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後に採取した。

本試験では死亡はみられず，投薬に関連した一般状態，体重，及び摂餌量への影響は認められなかった。剖検及び器官重量で異常は認められなかった。雄生殖機能に関しては，生殖細胞の運動性，精子数，及び異常精子数に対照群との差は認められなかった。対照群及び 250 mg/kg 群の精子形成周期検査では精子形成過程の異常はみられず，精巣の病理組織学的検査で異常は認められなかった。雌動物の卵巣及び子宮内検査では，黄体数，着床数，及び着床前胚死亡率にインクリシラン投与の影響は認められなかった。50 mg/kg 以上の群で早期吸収胚数及び死亡胎児数の高値がみられたが，生存胎児数に変化はみられなかった。50 mg/kg 群における高値は 1 例の結果による変化であり，この 1 例を除外すると背景値（早期吸収胚数及び死亡児数合計：0.5～1.7）の範囲内であること，250 mg/kg 群の早期吸収胚数及び着床後胚死亡率は背景値（早期吸収胚数：0.5～1.6，着床後胚死亡率：2.8～10.9）の範囲内であることから，毒性変化ではないと考えられた。

TK 試験では，曝露量（Cmax 及び AUClast）の用量増加に伴う増加がみられ，用量比を上回る増加又は用慮比例的増加が認められた。反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。血漿中 TK パラメータを Table 6-1 に示す。

以上のとおり，本試験ではインクリシラン投与に関連した雄親動物における毒性変化はみられず，精子形成，雄授胎能，及び初期胚発生への影響は認められなかった。したがって，本試験における雄親動物の一般毒性及び生殖機能，並びに初期胚発生に対する無毒性量は，いずれも 250 mg/kg Q2W と考えられた。

Table 6-1 雄ラットを用いた授胎能試験における血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)		
		10 Q2W	50 Q2W	250 Q2W
Tmax (h)	投与 1 日	1	1	2
	投与 29 日	2	1	1
Cmax (ng/mL)	投与 1 日	1110	13200	57200
	投与 29 日	1280	11700	66800
AUClast (ng.h/mL)	投与 1 日	4070	46000	305000
	投与 29 日	5110	47300	352000
T1/2 (h)	投与 1 日	1.38	1.23	NA
	投与 29 日	NA	1.68	NA

Source: Table 2.6.7.12A-9001068
NA：該当なし，Q2W：2 週間に 1 回

6.1.2 雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.12B-9001069]は，雌ラットの受胎能及び初期胚発生に対するインクリシランの影響を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。

1 群 22 例の SD 系雌ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，交配前及び交配期間中は 0（媒体），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（投与 1，5，9，13，17，21，及び 25 日）に反復皮下投与し，妊娠期間中は 0（媒体），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。対照群：雌 3 例，投薬群：1 群雌 6 例を TK 試験用動物として設定し，主試験動物と同様に投与した。雌動物については，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，生殖機能検査（性周期，交尾率），剖検，器官重量測定，卵巣及び子宮内パラメータ評価（黄体数及び分布，着床数，生存及び死亡胎児数，早期吸収胚，着床前及び着床後胚死亡率），並びに TK 試験を実施した。TK 試験用血液試料は，投与 1 日の投与前，並びに投与 0.5，4，及び 8 時間後，妊娠 7 日の投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後に採取した。

本試験では死亡はみられず，投薬に関連した一般状態，体重，及び摂餌量への影響は認められなかった。器官重量に投薬の影響は認められなかった。性周期，交尾所要日数，交配率，受胎率，及び妊娠率に投薬の影響は認められなかった。10 mg/kg 以上の群で黄体数の高値がみられたが軽微な変化であり，50 mg/kg 以上の群で認められた着床数の高値は，着床前胚死亡率及び生存胎児数への影響が認められないことから，いずれも毒性学的意義の低い変化と考えられた。妊娠 13 日の剖検では，10 mg/kg 以上の群で肝臓の淡色化が認められた。

TK 試験では，曝露量の用量増加に伴う増加がみられ，用量比を上回る増加又は用慮比例的増加が認められた。血漿中 TK パラメータを Table 6-2 に示す。

以上のとおり，本試験ではインクリシラン投与に関連した雌親動物における毒性変化はみられず，雌親動物の生殖及び子宮内パラメータ，並びに初期胚発生への影響は認められなかった。したがって，本試験における雌親動物の一般毒性及び生殖機能，並びに初期胚発生に対する無毒性量は，いずれも 250 mg/kg Q4D / 150 mg/kg QD と考えられた。

Table 6-2　　雌ラットを用いた受胎能試験における血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)[a]		
		10 Q4D / 10 QD	50 Q4D / 50 QD	250 Q4D / 150 QD
Tmax (h)	投与 1 日	0.5	0.5	0.5
	妊娠 7 日	1	1	1
Cmax (ng/mL)	投与 1 日	2350	18700	75000
	妊娠 7 日	1410	18700	36700
AUClast (ng.h/mL)	投与 1 日	NA	49100	283000
	妊娠 7 日	4180	49400	163000
T1/2 (h)	投与 1 日	NA	NA	NA
	妊娠 7 日	0.935	1.00	2.54
Tlast (h)	投与 1 日	4.00	8.00	8.00
	妊娠 7 日	8.00	9.27	8.28

Source: Table 2.6.7.12B-9001069

NA：該当なし，Q4D：4 日間に 1 回，QD：1 日 1 回

a：用量は［交配前 14 日～交配期間中 (Q4D) / GD 0～7 (QD)］を示す。

6.2　　ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

6.2.1　　ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.11-9001070]は，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群 6 例の SD 系妊娠ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），15，50，100，及び 150 mg/kg の用量で，1 日 1 回，妊娠 6 日から 17 日に皮下投与した。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。対照群雌 3 例，投薬群 1 群雌 9 例を TK 試験用動物として設定し，同様に皮下投与した。TK 試験用母動物から妊娠 6 及び 17 日に TK 試験用血液試料（投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，及び 8 時間後），妊娠 17 日に臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）用血液試料を採取し，胎児からは妊娠 17 日に血液試料（母動物投与 1 及び 2 時間後）及び肝臓組織試料（胎児の採血直後）を採取した。本試験では，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），剖検，子宮重量，卵巣及び子宮内検査，胎児体重，性比，胎児外表検査，病理組織学的検査（対照群及び 150 mg/kg 群の肝臓及び腎臓），及び TK 試験を実施した。

本試験で死亡はみられず，一般状態，体重，及び摂餌量に投薬の影響は認められなかった。血液学的検査では，150 mg/kg 群で白血球数，リンパ球数，及び非染色大型細胞数の高値，すべての投薬群で赤血球数，網状赤血球数，ヘモグロビン，及びヘマトクリットの低値が認められた。対照群の動物数が 3 例と少ないこと，用量関連性が認められないこと，及びいずれも軽微な変化であることから，これらの変化とインクリシラン投与との関連性は不明であった。血液生化学的検査では，15 mg/kg 以上の群でインクリシランの薬理作用に関連した 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認められ，その他，ALP の高値が認められた。剖検では異常は認められなかった。病理組織学的検査では，150 mg/kg 群で肝臓のクッパー細胞空胞化，肝細胞空胞化，及び肝細胞肥大，腎臓の近位尿細管で尿細管空胞化を伴う好塩基性顆粒の蓄積が認められた。

すべての動物で妊娠が認められ，生存胎児が確認された。卵巣及び子宮内パラメータ（黄体数，着床数，生存胎児数，及び吸収胚数）に投薬の影響は認められなかった。

TK 試験では，妊娠 6 及び 17 日の曝露量（Cmax 及び AUClast）は用量比を上回る増加又は用量比例的増加を示した。反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。胎児の血漿及び肝臓中インクリシラン濃度は，すべての用量で LLOQ（血漿：10.0 ng/mL，肝臓：200 ng/g）未満であった。母動物の血漿中 TK パラメータを Table 6-3 に示す。

以上のとおり，本試験ではインクリシランの胚・胎児致死作用，胎児毒性，及び催奇形性を示唆する変化は認められなかった。胎児の血漿中及び肝臓中にインクリシランは確認されなかった。

Table 6-3　妊娠ラットにおける血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)			
		15 QD	50 QD	100 QD	150 QD
Tmax (h)	GD 6	0.5	1	1	0.5
	GD 17	0.5	0.5	0.5	0.5
Cmax (ng/mL)	GD 6	2820	15900	28900	47300
	GD 17	1800	16000	23600	33900
AUClast (ng.h/mL)	GD 6	5570	39700	95600	167000
	GD 17	4890	34100	92800	139000
T1/2 (h)	GD 6	0.945	0.756	1.42	1.66
	GD 17	1.24	1.12	2.05	2.05

Source: Table 2.6.7.11-9001070
GD xx：妊娠 xx 日，QD：1 日 1 回

6.2.2　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.13A-9001072]は，ラットの胚・胎児発生に対するインクリシランの影響を検討することを目的として GLP 適用で実施した。

1 群 20 例の SD 系妊娠ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），50，100，及び 150 mg/kg の用量で，妊娠 6 日から 17 日に，1 日 1 回，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。対照群：雌 3 例，投薬群：1 群雌 9 例を TK 試験用動物として設定し，同様に皮下投与した。TK 試験用母動物から，妊娠 6 及び 17 日に TK 試験用血液試料（投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，及び 8 時間後），並びに妊娠 17 日に臨床検査用血液試料を採取し，胎児からは妊娠 17 日に血液試料（母動物投与 1 及び 2 時間後）及び肝臓組織試料（胎児の採血直後）を採取した。本試験では，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），剖検，子宮重量，卵巣及び子宮内検査，胎児体重，胎児検査，並びに TK 試験（母動物及び胎児の血漿，胎児肝臓）について評価した。

本試験では死亡はみられず，一般状態，体重，及び摂餌量に投薬の影響は認められなかった。血液学的検査では，50 mg/kg 以上の群で平均赤血球ヘモグロビン濃度の低値，100 mg/kg 以上の群で血小板数の低値が認められたが，いずれも軽微な変化であり，毒性学的意義の低い変化と考えられた。血液生化学的検査では，インクリシランの薬理作用に関連する変化として，50 mg/kg 以上の群で HDL-C 及び LDL-C の低値，100 mg/kg 以上の群でトリグリセリドの低値が認められ，その他に ALP の高値が認められた。

すべての群で妊娠率は 95%以上であった。卵巣及び子宮内検査，子宮重量，胎児体重，及び胎児検査（外表，内臓，及び骨格）ではインクリシランの影響は認められなかった。剖検では，投薬群の一部の個体で肝臓の淡色化が認められた。

TK 試験では，母動物の曝露量（Cmax 及び AUClast）は，概ね用量比例的増加又は用量比を上回る増加を示したが，妊娠 17 日の 100 及び 150 mg/kg 群の Cmax は同等であった。妊娠 17 日の曝露量（AUClast）は妊娠 6 日と同等であり，12 日間反復投与による蓄積は認められなかった。胎児血漿中インクリシラン濃度は非常に低いものの，概ね用量の増加に伴う増加を示した。母動物の血漿中インクリシラン濃度は，同じ試料採取時点における胎児血漿中濃度よりも顕著に高く，投与 1 時間後における 50，100，及び 150 mg/kg 群の母動物の血漿中濃度は胎児中濃度のそれぞれ約 154，65，及び 69 倍であった。胎児肝臓中インクリシラン濃度は，いずれも LLOQ（200 ng/g）未満であった。母動物の血漿中 TK パラメータを Table 6-4 に，胎児の血漿中及び肝臓中濃度を Table 6-5 に示す。

以上のとおり，本試験ではインクリシラン投与に関連した母動物毒性はみられず，胚・胎児の発生への影響も認められなかった。したがって，本試験における母動物の毒性及び胚・胎児の発生に対する無毒性量は，いずれも 150 mg/kg/day と考えられた。

Table 6-4 妊娠ラットにおける血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)		
		50 QD	**100 QD**	**150 QD**
Tmax (h)	GD 6	1	1	1
	GD 17	0.5	0.5	0.5
Cmax (ng/mL)	GD 6	11500	22800	32300
	GD 17	7810	31600	30800
AUClast (ng.h/mL)	GD 6	35700	92300	136000
	GD 17	29700	94300	128000
T1/2 (h)	GD 6	1.21	1.87	1.88
	GD 17	1.45	2.10	2.59

Source: Table 2.6.7.13A-9001072
GD xx：妊娠 xx 日，QD：1 日 1 回

Table 6-5 胎児の血漿中及び肝臓中平均インクリシラン濃度（妊娠 17 日）

パラメータ		用量 (mg/kg)		
		50 QD	**100 QD**	**150 QD**
血漿中濃度 (ng/mL)	投与 1 時間後	38.2	254	367
	投与 2 時間後	154[a]	170[a]	89.4
肝臓中濃度		BLQ	BLQ	BLQ

Source: Table 2.6.7.13A-9001072
BLQ：定量下限未満［LLOQ：200 ng/g (肝臓)］，QD：1 日 1 回
a：n = 1

6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.11-9001071]は，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定の根拠となる情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群 5 例のニュージーランド・ホワイト（NZW）妊娠ウサギに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），15，50，100，及び 150 mg/kg の用量で，妊娠 7 日から 19 日に，1 日 1 回，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。対照群：雌 2 例，投薬群：1 群雌 5 例を TK 試験用動物として設定し，同様に皮下投与した。TK 試験用母動物から妊娠 7 及び 19 日に TK 試験用血液試料（投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後）を，妊娠 20 及び 29 日に臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）用血液試料を，試験 7 日（投与開始前）及び妊娠 29 日に ADA 検査用試料を採取した。本試験では，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），剖検，子宮重量，卵巣及び子宮内検査，胎児体重，性比，胎児外表検査，病理組織学的検査（対照群及び 150 mg/kg 群の肝臓及び腎臓），TK 試験，及び ADA 検査を実施した。

本試験で死亡はみられず，一般状態，体重，摂餌量，及び血液学的検査にインクリシラン投与の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，妊娠 20 日に 150 mg/kg 群でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），ALT，及び ALP の高値が認められた。これらの変化は，母動物 1 例に顕著な高値がみられたためと考えられ，妊娠 29 日の検査では対照群との差は認められなかった。剖検では，150 mg/kg 群の 1 例で腎臓の淡色化及び脾臓の腫大が認められた。肝臓及び腎臓の病理組織学的検査では，150 mg/kg 群で腎臓の近位尿細管に軽微な空胞化を伴う細胞質好塩基性顆粒が認められた。

すべての母動物で妊娠が認められ，生存胎児が確認された。卵巣及び子宮内検査では，黄体数，着床数，生存胎児数，吸収胚数，着床前及び着床後胚死亡率，並びに性比に投薬の影響は認められず，すべての胎盤は正常であった。胎児の外表検査では，異常及び変異を示す胎児は認められなかった。

TK 試験では，曝露量（Cmax 及び AUClast）の用量比を上回る増加又は用量比例的増加が認められた。妊娠 19 日と妊娠 7 日の AUClast は同等であり，反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。母動物の血漿中 TK パラメータを Table 6-6 に示す。

ADA 検査では，母動物の血清中に ADA は認められなかった。

以上のとおり，本試験ではインクリシランの母動物毒性，胚致死作用，胎児毒性，及び催奇形性は認められなかった。

Table 6-6　妊娠ウサギにおける血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)			
		15 QD	50 QD	100 QD	150 QD
Tmax (h) [a]	GD 7	1	1	2	1
	GD 19	1	2	2	2
Cmax (ng/mL)	GD 7	3920	15400	22400	32700
	GD 19	4000	14200	22800	29700
AUClast (ng.h/mL)	GD 7	11300	76300	168000	315000
	GD 19	12300	69300	185000	271000
T1/2 (h)	GD 7	1.40	2.20	2.73	3.14
	GD 19	1.35	2.69	3.11	4.56

Source: Table 2.6.7.11-9001071

GD xx：妊娠 xx 日，QD：1 日 1 回

a：中央値

6.2.4　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.13B-9001073]は，ウサギの胚・胎児発生に対するインクリシランの影響を検討することを目的として GLP 適用で実施した。

1 群 20 例の NZW 妊娠ウサギに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），50，100，及び 150 mg/kg の用量で，妊娠 7 日から 19 日に，1 日 1 回，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。対照群：雌 2 例，投薬群：1 群雌 3 例を TK 試験用動物として設定し，同様に皮下投与した。TK 試験用母動物から，妊娠 7 及び 19 日に TK 試験用血液試料（投与前，並びに投与 0.5，1，2，4，8，及び 24 時間後）を，妊娠 20 及び 29 日に臨床検査用血液試料を採取し，胎児からは妊娠 19 日に血液試料（母動物の投与 24 時間後の採血直後）及び肝臓試料（胎児の採血直後）を採取した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），剖検，子宮重量測定，卵巣及び子宮内検査，胎児体重測定，胎児検査（外表，内臓，及び骨格），TK 試験（母動物及び胎児血漿，胎児肝臓），及び ADA 検査を実施した。

本試験で死亡はみられず，一般状態，体重，血液学的検査，及び剖検にインクリシラン投与の影響は認められなかった。100 mg/kg 以上の群で摂餌量の低値が散見されたが，統計学的有意差はみられず，一過性の変化であり，体重への影響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。血液生化学的検査では，妊娠 20 日に 100 mg/kg 以上の群でインクリシランの薬理作用に関連すると考えられる LDL-C，総コレステロール，及びトリグリセリドの低値が認められた。また，100 mg/kg 以上の群で ALP の高値，150 mg/kg 群で AST，ALT，及び γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（γ-GTP）の高値が認められた。

本試験の妊娠率は，すべての群で 90%以上であった。子宮重量に投薬の影響はみられなかった。卵巣及び子宮内検査では，黄体数，着床数，生存及び死亡胎児数，吸収胚数，並びに着床前及び着床後胚死亡率に投薬の影響は認められなかった。150 mg/kg 群の雄の生存胎児数の高値がみられたが，総生存胎児数及び性比に対照群との差が認められなかったことから，インクリシラン投与に関連した変化ではないと考えられた。胎児体重，異常胎児発現率，並びに外表，内臓，及び骨格変異の発現率に投薬の影響はみられなかった。

TK 試験では，曝露量（Cmax 及び AUClast）の用量増加に伴う増加が認められた。妊娠 7 日と 19 日の AUClast は同等であり，反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。胎児血漿中インクリシラン濃度は，すべての用量で LLOQ（10.0 ng/mL）未満であったが，100 及び 150 mg/kg 群の同腹児各 1 例では LLOQ よりわずかに高い血漿中濃度（それぞれ 10.8 ng/mL 及び 11.0 ng/mL）が認められた。胎児の肝臓中濃度は，100 mg/kg 群の同腹児 1 例が 216 ng/g，150 mg/kg 群の同腹児 1 例が 268 ng/g であったことを除いて，すべての群で LLOQ（200 ng/g）未満であった。肝臓中にインクリシランが確認された 2 例は，血漿中にインクリシランが認められた個体とは異なる個体であった。母動物の血漿中 TK パラメータを Table 6-7 に示す。

ADA 検査では，妊娠 7 日の 50 及び 150 mg/kg 群で各 1 例に陽性反応が認められた。初回投与日の投与前採取試料であり，いずれも低抗体価であることから，インクリシラン投与に関連した変化ではないと考えられた。他の検査日では ADA 陽性例はみられず，妊娠 7 及び 19 日の AUClast が同等であることから，ADA の PK プロファイルへの影響はないと判断した。

以上のとおり，本試験ではインクリシランの母動物毒性，並びに胚・胎児致死性，胎児毒性，及び催奇形性は認められず，母動物及び胚・胎児に対する無毒性量はいずれも 150 mg/kg/day と考えられた。

Table 6-7　　妊娠ウサギにおける血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)		
		50 QD	100 QD	150 QD
Tmax (h) [a]	GD 7	2	2	2
	GD 19	1	1	2
Cmax (ng/mL)	GD 7	13300	24100	42900
	GD 19	12300	21700	25200
AUClast (ng.h/mL)	GD 7	75200	185000	361000
	GD 19	53400	193000	314000
T1/2 (h)	GD 7	1.98	3.22	2.80
	GD 19	2.52	3.23	3.46

Source: Table 2.6.7.13B-9001073
GD xx：妊娠 xx 日，QD：1 日 1 回
a：中央値

6.3　　ラットを用いた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

本試験[Table 2.6.7.14-9001159]は，ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に対するインクリシランの影響を検討することを目的として GLP 適用で実施した。

1 群 22 例の SD 系妊娠ラットに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を，0（媒体），50，100，及び 150 mg/kg の用量で，妊娠 6 日から授乳 20 日までの期間，1 日 1 回，反復皮下投与した。対照群：雌 2 例，投薬群：1 群雌 4 例を TK 試験用動物として設定し，妊娠 6 日から授乳 11 日までの期間，1 日 1 回，同様に皮下投与した。本試験では，F0 母動物について一般状態観察，体重及び摂餌量測定，母体の機能検査（妊娠パラメータ，妊娠期間，生存児数，性比，生存率），剖検，卵巣及び子宮内検査，並びに TK 試験（血漿，乳汁）を実施し，F1 児について生存率，一般状態観察，体重測定，反射機能検査（正向反射，背地走性，聴覚性驚愕反射），視覚機能検査（眼瞼開裂，視覚性置き直し反応），身体的発達検査（膣開口，包皮分離），行動機能検査（自発運動，聴覚性驚愕反応，水迷路），生殖機能検査（交尾率，受胎率，卵巣及び子宮内検査），剖検，並びに TK 試験（血漿）を実施した。TK 試験用試料は，授乳 4 日の投与 1 時間後，並びに授乳 11 日の投与 1 及び 2 時間後に，対照群の母動物 2 例の出生児雌雄各 2 例，投薬群の母動物 4 例の出生児雌雄各 4 例から血液試料を採取した。母動物からは，授乳 11 日の投与 8 時間後に採血し，採血後 15 分以内に乳汁を採取した。

本試験では，投薬に関連した母動物の死亡はみられず，一般状態及び体重への影響は認められなかった。100 mg/kg 群の母動物 1 例に難産が原因と考えられる一般状態悪化がみられたため，分娩日に安楽死処分した。生存児 10 例及び死亡児 2 例の分娩が確認され，剖検では子宮内に死亡児 1 例が認められた。母動物の 1 例に認められた事象であり，用量依存性がみられなかったことから，インクリシランの影響ではないと考えられた。150 mg/kg 群では妊娠期間に摂餌量の低値がみられたが，体重への影響のない軽度の変化であり，投薬に関連した変化ではないと考えられた。

すべての用量で 90%以上の妊娠率が認められた。いずれの用量においても，妊娠期間，着床数，出生時の生存及び死亡児数，異常児数，性比，及び生存率に対照群との差は認められなかった。100 mg/kg 群では出生時の総死亡児数の統計学的に有意な高値がみられたが，50 及び 150 mg/kg 群で差が認められていないことから，投薬の影響ではないと考えられた。母動物の剖検で異常は認められなかった。

F1 出生児の生存率及び離乳率に投薬の影響は認められなかった。哺育期間中の出生児体重に対照群との差はみられなかった。F1 出生児の外表及び内臓検査，並びに剖検で異常は認められなかった。

離乳後の F1 動物で投薬に関連した死亡はみられず，一般状態及び体重への影響は認められなかった。150 mg/kg 群の雄 1 例が生後 22 日に死亡したが，生存中の一般状態及び体重推移に異常は認められず，剖検で死亡原因は不明であった。同群における 1 例の事象であり，インクリシランの毒性ではないと考えられた。F1 動物動物の反射機能，視覚機能，身体的発達，性成熟，感覚機能，運動機能，学習・記憶，交尾所要日数，交尾率，受胎率，妊娠率，及び剖検に投薬の影響はみられなかった。150 mg/kg 群で交尾所要日数の統計学的有意な低値がみられたが，雌動物の性周期に関連した変化と考えられ，毒性学的意義は低いものと判断した。

TK 試験の結果，F0 母動物の血漿及び乳汁中のインクリシラン濃度には，いずれも高い個体間変動が認められた。母動物の血漿及び乳汁中濃度は概ね用量増加に伴う増加を示したが，100 及び 150 mg/kg 群の乳汁中濃度は同等であった。100 及び 150 mg/kg 群の乳汁中濃度は，血漿中濃度に比較して低値を示した。50 mg/kg 群では，乳汁中及び血漿中濃度の個体間変動が大きく，評価することができなかった。授乳 4 及び 11 日の出生児の血漿中濃度は，すべての用量で LLOQ（10.0 ng/mL）未満であった。授乳 11 日の投与 8 時間後の母動物の血漿及び乳汁中濃度を Table 6-8 に示す。

以上のとおり，本試験で母動物毒性はみられず，F1 出生児の生存，成長，身体的発達，感覚機能，運動機能，学習・記憶機能，及び生殖機能への投薬の影響は認められなかった。したがって，本試験の無毒性量は，母動物及び F1 出生児ともに 150 mg/kg と考えられた。

Table 6-8 母動物における血漿中及び乳汁中平均インクリシラン濃度（授乳 11 日，投与 8 時間後）

用量 (mg/kg)	母動物番号	インクリシラン濃度 (ng/mL)		乳汁／血漿中濃度比
		母動物血漿	母動物乳汁	
50 QD	273	NA	621	NA
	274	2060	716	0.348
	275	690	2810	4.072
	276	572	543	0.949
	Mean	1110	1170	1.790
	SD	824	1100	2
	N	3	4	3
100 QD	370	9420	3410	0.362
	374	5930	1800	0.304
	375	6440	2340	0.363
	376	12100	7800	0.645
	Mean	8470	3840	0.418
	SD	2860	2730	0.153
	N	4	4	4
150 QD	470	9660	2270	0.235
	471	11100	2070	0.186
	473	13300	2620	0.197
	476	10800	8900	0.824
	Mean	11200	3970	0.361
	SD	1510	3300	0.31
	N	4	4	4

Source: Table 2.6.7.14-9001159

N：検査例数，NA：該当なし，QD：1 日 1 回，SD：標準偏差

6.4 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。

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，並びに剖検及び病理組織学的検査を実施した。各試験の結果を以下に要約する。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（3.2.2 項）及び 15 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項）では，投薬による毒性学的意義ある変化は認められなかった。ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（3.2.4 項）では，投与 197 日（最終投与日）に，250 mg/kg Q4W 群の雄 5 例にごく軽度の紅斑，雄 6 例にごく軽度から軽度の浮腫が認められた。250 mg/kg Q4W 群の雄及び 10 mg/kg Q4W 以上の群の雌の剖検で投与部位の暗色巣又は暗色化がみられ，病理組織学的検査では投与

部位の軽微から中等度の出血及び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。回復性試験終了時に変化は認められなかった。

サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（3.3.2 項）及び 15 週間反復投与毒性試験（3.3.3 項）では，投薬に関連した毒性学的意義のある皮膚反応は認められなかった。40 週間反復投与毒性試験（3.3.4 項）では，300 mg/kg Q4W 群の雌で，投与 1 及び 141 日にごく軽度の紅斑（6 例中 4 例）が，投与 1 日にごく軽度の浮腫（6 例中 6 例）が，いずれも一過性に認められた。

以上のとおり，ラット及びサルの投与部位におけるインクリシランの忍容性が確認された。主な肉眼的変化は，投与部位の変色を伴う紅斑又は浮腫（ごく軽度から軽度）であり，ラットを用いた 29 週間投与試験以外では病理組織学的変化は認められなかった。これらは一過性かつ重症度の低い変化であることから，毒性変化ではないと考えられた。いずれも自然治癒的な変化であり，回復性試験終了時には回復性が認められた。

8 その他の毒性試験

その他の毒性試験として，インクリシランの免疫刺激作用に関する探索的試験及びアトルバスタチンとの併用投与毒性試験を実施した。

8.1 マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験

本試験[Table 2.6.7.17A-PCS-NCD13-002]は，インクリシランを含む 5 種類の siRNA 製剤（[redacted]，及びインクリシラン）の潜在的な免疫刺激作用（炎症誘発）を評価することを目的として，GLP 非適用で実施した。

1 群雄 5 例の CD1 系マウスに，Dulbecco リン酸緩衝生理食塩水で希釈した siRNA を，0（媒体），30，及び 100 mg/kg の用量で，単回皮下投与した。投与 4 時間後に安楽死させ，サイトカイン測定用の血液試料を採取した。本試験で測定した血清中サイトカインは，G-CSF，IL-6，interferon gamma-induced protein 10 (IP-10)，keratinocyte chemoattractant (KC)，MCP-1，及び tumor necrosis factor alpha (TNF-α) であり，測定には Millipore Mouse 6-Plex Cytokine Kit 及び Bio-Plex® Suspension Array (Luminex) system を使用した。

本試験では，5 種類すべての siRNA 製剤において 100 mg/kg までの用量で死亡はみられず，投薬に関連した一般状態の変化は認められなかった。すべての siRNA 製剤のいずれの用量においてもサイトカイン濃度への影響は認められなかった。

8.2 サルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験

本試験[Table 2.6.7.17B-20110258]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り発現する毒性評価を目的として，GLP 適用で実施した。

1 群雌雄各 5 例のカニクイザルに，注射用生理食塩液で希釈したインクリシラン製剤を 4 週間に 1 回（計 4 回），85 日間反復皮下投与，又は 0.1% Tween 80 含有 0.5% methylcellulose 溶液に懸

濁したアトルバスタチンを 1 日 1 回，85 日間反復経口投与した。各群の用量（インクリシラン＋アトルバスタチン）は，0＋0（媒体），0＋40 / 25，30＋40 / 25，100＋40 / 25，300＋0，及び 300＋40 / 25 mg/kg とした。なお，アトルバスタチンの用量は，40 mg/kg で毒性変化がみられたため，投与 15 又は 16 日からは 25 mg/kg に減量した。また，1，2，5，及び 6 群は雌雄各 3 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後，13 週間の休薬により回復性を検討した。本試験の群構成を Table 8-1 に示す。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，PCSK9 測定，イムノフェノタイピング，TDAR 試験，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。なお，TDAR 試験では，KLH の一次免疫を投与 58 日，二次免疫を投与 72 日に行い，投与 58，65，68，及び 72 日，並びに投与 79，82，及び 86 日に採血し，投与期間中の抗 KLH 抗体産生を評価した。回復性試験期間では，試験 148 及び 162 日に KLH の一次及び二次免疫を行い，試験 148，155，158，及び 162 日，並びに 169，172，及び 176 日に採血し，抗体測定を実施した。また，TK 試験用血液試料は，投与 1 及び 85 日の投与前，並びに投与 0.083，0.5，1，2，4，6，12，及び 24 時間後に採取した。

Table 8-1　　併用投与毒性試験の群構成

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

本試験では死亡はみられず，体重，摂餌量，及び眼科学的検査に併用投与の影響はみられなかった。一般状態にインクリシラン投与の影響はみられなかったが，アトルバスタチン投与の影響と考えられる液状又は赤色便が投与 5 日から認められた。この変化は 2 週間持続し，本試験が 3 ヵ月間反復投与であることを考慮し，投与 15 又は 16 日からアトルバスタチンの用量を 25 mg/kg に減量した。減量により異常便の発現は消失した。心電図検査，血液学的検査，凝固系検査，及び尿検査に併用投与の影響はみられなかった。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脂質に対する薬理作用に関連した変化が，すべての投薬群で概ね用量依存的に認められた。すべての用量で 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みられ，LDL-C で顕著であった。インクリシラン単剤群（5 群）では，HDL-C に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。すべてのインクリシラン投与群では，投与 176 日（13 週間回復性試験終了後）には，回復又は回復傾向がみられたが，LDL-C

では中等度から重度の低値が認められた。投与 86 日には，100 mg/kg 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。投与 176 日の ALP は概ね回復傾向を示したが，インクリシラン単剤群（5 群）の雌雄，併用投与高用量群（6 群）の雌，及びアトルバスタチン単剤群（2 群）の雌で高値が認められた。これらの変化には統計学的有意差は認められなかった。投与 86 日には 2，3，5，及び 6 群の雄でグロブリンの低値が認められたが，雄のみにみられた軽度の変化であり，明らかな用量関連性が認められないことから，投薬との関連性は明らかでなかった。回復性試験終了時にはグロブリンの変化は認められなかった。

投与 86 及び 176 日の各群の血漿中 PCSK9 濃度を Table 8-2 に示す。アトルバスタチン単剤群の雌雄で，投与前値に比較して投与 86 日の PCSK9 濃度の顕著な増加が認められた。回復性試験終了時には，投与前値までの回復が認められた。アトルバスタチンによる PCSK9 の増加は，いずれの用量においてもインクリシラン投与により完全に阻害された。すべてのインクリシラン群（3，4，5，及び 6 群）の PCSK9 濃度は，3 群の雄 1 例を除き投与前値に比較して投与 86 日に低下が認められた。当該動物の投与前値は他の動物に比較して非常に低値（約 1/20）であり，この個体を除いた平均値は他の群と同等の低下を示した。インクリシランのいずれの用量においても，PCSK9 濃度の低下は同程度であった。投与前値と比較した各群の雌雄合算平均値は，投与 86 日には−65.6%～−84.6%であり，投与 176 日には−82.4%～−89.8%であった。これらの結果は，インクリシランの期待される薬理作用である血漿中 PCSK9 濃度の低下が試験期間を通して生じたことを示している。用量依存性がみられなかった理由として，本試験の用量が高用量の毒性量であったことが推察される。

Table 8-2　サル血漿中 PCSK9 濃度の投与前値からの変化率

群	用量 (mg/kg)[a]	PCSK9 投与前値 (ng/mL)		PCSK9 濃度変化率 (%)			
				投与 86 日		投与 176 日	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	0 + 0	187.24	201.68	8.5	-0.9	36.5	92.6
2	0 + 40 / 25	200.06	209.64	297.0	316.1	−12.8	8.4
3	30 + 40 / 25	107.79	178.06	121.0*	−70.1	NA	NA
4	100 + 40 / 25	268.62	194.42	−72.6	−65.6	NA	NA
5	300 + 0	258.66	152.22	−84.6***	−83.8***	−82.4	−89.0
6	300 + 40 / 25	227.08	159.88	−70.0	−70.1*	−87.0	−89.8

Source: Table 2.6.7.17B-20110258

NA：該当なし，*：$p \leq 0.05$, ***：$p \leq 0.001$ (Dunn test)

a：インクリシラン + アトルバスタチン

フローサイトメトリーによるリンパ球イムノフェノタイピングでは，いずれの用量においても T リンパ球，ヘルパーT 細胞，細胞傷害性 T リンパ球，B リンパ球，及びナチュラルキラー細胞に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なかった。

TDAR 試験の結果，投与期間中及び回復性試験期間中ともに，すべての動物で抗 KLH IgM 抗体及び IgG 抗体の産生が確認され，いずれの用量においてもインクリシラン及びアトルバスタチン投与の影響は認められなかった。

いずれの群においても，剖検及び器官重量に投薬に関連した影響は認められなかった。病理組織学的検査では，30 mg/kg 以上のインクリシラン群でリンパ節（腸間膜，下顎，腋窩），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 以上の群の一部の個体で，副腎，前立腺，腎臓（尿細管内腔），及び心臓に顕著に認められた。概してリンパ節マクロファージ及び肝臓類洞のクッパー細胞の好塩基性顆粒は，顆粒状／泡沫状細胞質を伴い，肥大が認められた。投与部位では，好塩基性顆粒は混合細胞性炎症を伴う伸長した食細胞様細胞に認められた。好塩基性顆粒の蓄積は，重症度が概して低く，関連する変性性病変又は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，肝臓クッパー細胞，リンパ節マクロファージ，及び 2 箇所の投与部位で好塩基性顆粒がみられたが，発現頻度及び重症度の低下がみられ，回復傾向が示唆された。対照群を含むすべての群で，腎尿細管の空胞化が低頻度に認められた。ほとんどが軽微な変化であったが，インクリシラン 300 mg/kg 群（5 及び 6 群）では軽度の変化が認められた。対照群でも軽微な変化が認められたこと，変化がみられた上皮細胞に好塩基性化／好塩基性顆粒が同時に認められなかったこと，及び関連する臨床検査値の変動が認められていないことから，本変化は毒性変化ではないと考えられた。300 mg/kg 群（5 及び 6 群）の雄及び 100 mg/kg 以上の群（4，5，及び 6 群）の雌で，脳脈絡叢の線維血管間質に軽微な空胞化組織球浸潤が認められた。脈絡叢上皮細胞にこの他の変化は認められず，神経叢内又は神経網に細胞空胞化を伴う炎症細胞浸潤あるいは変性等のいずれの変化も認められなかった。試験施設の背景値から，この変化は自然発生性変化である可能性が考えられた。

TK 試験では，インクリシランを 300 mg/kg の用量で投与した 6 群においても，アトルバスタチンの TK パラメータはアトルバスタチン単剤群（2 群）と同等であり，インクリシランの併用投与によるアトルバスタチンの TK パラメータへの影響はないものと考えられた。同様に，5 群と 6 群の TK パラメータの比較から，インクリシランの TK パラメータへのアトルバスタチン投与の影響もないものと考えられた。インクリシランの血漿中 TK パラメータを Table 8-3 に，アトルバスタチンの血漿中 TK パラメータを Table 8-4 に示す。

以上のとおり，インクリシラン及びアトルバスタチンの単剤投与，並びにインクリシラン及びアトルバスタチンの併用投与の忍容性はすべての用量群で良好であった。インクリシランとアトルバスタチンの併用投与により，それぞれの TK プロファイルへの影響は認められなかった。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系パラメータの低下がみられ，各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により併用投与群を含めて PCSK9 濃度の低下が認められた。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 LDL-C 低下の補助的作用機序が示唆された。リンパ球フェノタイピング及び TDAR 試験で投薬の影響はみられず，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，インクリシラン投与群でリンパ節（腸間膜，下顎，腋窩），肝臓（クッパー細胞），及び投与部位に好塩基性顆粒が認められたものの，重症度が概して低く，関連する変性性変化又は臨床検査値の変化は認められなかったことから毒性変化ではないと考えられた。好塩基性顆粒は休薬期間後も一部残存したものの，概して発現頻度及び重症度は低下し，部分的な回復性が示された。顆粒状物質はこれらの細胞に蓄積した被験物質又は関連物質と考えられた。本試験の無毒性量はインクリシラン単剤投与及びアトルバスタチン 25 mg/kg との併用投与ともに 300 mg/kg Q4W と考えられた。

Table 8-3　　併用投与毒性試験におけるインクリシランの血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)[a]							
		30 + 40 / 25		**100 + 40 / 25**		**300 + 0**		**300 + 40 / 25**	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)[b]	1	2	2	0.68	4	6	5	5	5
	85	2	2	4	2	2	1.5	3	4
Cmax (ng/mL)	1	6900	5780	16800	21000	53000	50800	43600	42200
	85	6700	7190	16900	19400	51000	44800	38700	41300
AUClast (ng.h/mL)	1	59700	44700	223000	263000	828000	828000	695000	631000
	85	57000	48500	207000	245000	759000	716000	659000	670000
T1/2 (h)	1	2.45	3.80	6.42	3.31	7.97	9.55	6.81	4.53
	85	2.91	2.69	6.19	6.10	5.05	8.95	9.74	8.80

Source: Table 2.6.7.17B-20110258

a：インクリシラン＋アトルバスタチン，アトルバスタチンは投与 15 又は 16 日から減量

b：中央値

Table 8-4 併用投与毒性試験におけるアトルバスタチンの血漿中平均 TK パラメータ

パラメータ	検査日	用量 (mg/kg)[a]							
		0 + 40 / 25		30 + 40 / 25		100 + 40 / 25		300 + 40 / 25	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (h)[b]	1	0.5	0.75	1	1	1	1	0.78	0.5
	85	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5
Cmax (ng/mL)	1	405	1090	535	979	1060	1270	1570	849
	85	254	252	449	255	415	386	269	237
AUClast (ng.h/mL)	1	1180	2090	1300	2110	2740	2490	1870	1440
	85	787	696	671	882	921	869	676	721
T1/2 (h)	1	5.07	3.94	6.87	3.84	4.05	3.53	5.92	3.68
	85	4.32	5.11	4.24	4.63	4.05	4.86	5.43	5.66

Source: Table 2.6.7.17B-20110258

a：インクリシラン＋アトルバスタチン，アトルバスタチンは投与 15 又は 16 日から減量

b：中央値

8.3 免疫原性

ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において，ADA 産生状況について検討した。

ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項）の Q4W 群では投与 1，15，及び 85 日に，Q2W 群では投与 1，15，及び 99 日に，29 週間反復投与毒性試験（3.2.4 項）では投与 85 及び 197 日に，ADA 検査用血液試料を投与前に採取した。いずれの試料採取時点においても ADA 産生は認められなかった。サルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（3.3.3 項）の Q4W 群では投与開始前，投与 15，85，及び 113 日，Q2W 群の投与開始前，投与 15，99，及び 113 日の投与前に血液試料を採取した結果，投与期間後半に 40 例中 5 例に ADA 陽性（抗体価：≤50～400）が認められた。40 週間反復投与毒性試験（3.3.4 項）では，投与開始前，投与 141，281，及び 373 日の投与前に血液試料を採取した。検査の結果，投与期間後半に 28 例中 3 例に ADA 陽性（抗体価：≤50～800）が認められた。

以上のとおり，反復投与毒性試験の一部の個体で低抗体価の ADA 産生が認められたものの，インクリシランの曝露量及び PD パラメータ（PCSK9 及び LDL-C）に影響は認められなかったことから，ADA には中和活性がないことが示唆された。

8.4 免疫毒性

インクリシランの独立した免疫毒性試験は実施しなかった。サルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験（8.2 項）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，免疫毒性について評価した。試験の結果，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ず，インクリシランに免疫毒性はないと考えられた。

8.5 代謝物

インクリシラン代謝物の独立した毒性試験は実施しなかった。皮下投与後のインクリシランは血漿中で非常に安定している。ラット及びサルの主代謝物は AS(n-1)及び AS(n-2)であり，ヒトの主代謝物は AS(n-1)である。

8.6 不純物及び分解物

GLP 適用で実施したラット及びサルを用いた反復投与毒性試験（ラット：29 週間まで，サル：40 週間まで），並びに *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験に使用したインクリシラン製剤は，バッチ番号 982071 であり，バッチ番号 A05AL14002N の原薬を用いて製造された。以降に製造されたすべての原薬及び製剤は，A05AL14002N で未確認の未知の不純物が含まれないよう管理されている。したがって，臨床製剤の不純物プロファイルは非臨床毒性試験に供試した製剤と同様であることから，不純物の安全性は，反復投与毒性試験，並びに *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験によって評価されているものと考える。

8.7 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 8-5 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。インクリシランの PK プロファイルに民族間で大きな差は認められていない。臨床での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 ヵ月ごとの投与であった。反復投与毒性試験は臨床の投与レジメンを上回る 4 週間に 1 回以上の投与頻度で実施され，すべての試験でヒト曝露量を上回る曝露が認められた。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と，臨床用量におけるヒト曝露量（日本人曝露量）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。

Table 8-5 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	
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

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	
ラット	反復投与 29 週間 (Q4W)	投与 197 日	10	1.48	4.27	2.44	0.450	5001351
			50	17.4	48.7	28.7	5.14	
			250	51.4	438	84.7	46.2	
ラット	がん原性 104 週間 (Q4W)	投与 197 日	40	6.49	44.6	10.7	4.70	1016-1021
			95	19.5	150	32.1	15.8	
			250	45.1	484	74.3	51.1	
雄ラット	FEED 29 日間 (Q2W)	投与 29 日	10	1.28	5.11	2.11	0.539	9001068
			50	11.7	47.3	19.3	4.99	
			250	66.8	352	110	37.1	
雌ラット	FEED[b]	妊娠 7 日	10 / 10	1.41	4.18	2.32	0.441	9001069
			50 / 50	18.7	49.4	30.8	5.21	
			250 / 150	36.7	163	60.5	17.2	
ラット	EFD GD 6～17 (QD)	妊娠 17 日	50	7.81	29.7	12.9	3.13	9001072
			100	31.6	94.3	52.1	9.95	
			150	30.8	128	50.7	13.5	
ウサギ	EFD GD 7～19 (QD)	妊娠 19 日	50	12.3	53.4	20.3	5.63	9001073
			100	21.7	193	35.7	20.4	
			150	25.2	314	41.5	33.1	
サル	反復投与 4 週間 (Q2W)	投与 29 日	10	1.65	9.61	2.72	1.01	8302575
			50	12.9	103	21.3	10.9	
			250	50.0	1030	82.4	109	
サル	反復投与 15 週間 (Q4W)	投与 85 日	10	1.27	7.25	2.09	0.76	8297016
			50	7.05	87.4	11.6	9.22	
			250	40.6	578	66.9	61.0	
サル	反復投与 40 週間 (Q4W)	投与 281 日	30	8.01	82.5[c]	13.2	8.70	5001352
			100	20.1	283[c]	33.1	29.9	
			300	54.6	891[c]	90.0	94.0	
ヒト[d]	日本人	投与 1 日	5[e]	0.607	9.48[f]	-	-	
ヒト[g]	外国人	投与 1 日	5[e]	0.509	7.98[h]	-	-	

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：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

c：AUC0-48h

d：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

e：用量は 300 mg（体重を 60 kg として換算）

f：AUC0-24h

g：第 I 相単回投与臨床試験（ORION-6 及び ORION-7）の併合データ

h：AUCinf

9 考察及び結論

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。

すべての毒性試験で，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（LDL-C，HDL-C，総コレステロール，トリグリセリド等）の変化がみられ，毒性試験の供試動物種としてのラット及びサルの妥当性が確認された。回復性試験終了時にはこれらの変化は概ね対照群と同程度にまで回復した。

ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験でインクリシランの忍容性は良好であった。主な変化は標的器官である肝臓，排泄の主要器官である腎臓，及びリンパ節で認められ，病理組織学的変化として，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に好塩基性顆粒が認められた。

肝臓では，ラットを用いた 4，15，及び 29 週間投与試験のほとんどの用量で，軽微から重度の肝細胞空胞化が認められ，小胞性（核の遍在を伴わない多数の小空胞）又は大胞性（核の遍在を伴う単一の大空胞）を特徴としていた。サルを用いた試験では認められなかった。この変化は，すべての試験で回復性試験終了時にも認められたが，発現頻度及び重症度が低下していることから回復傾向が示唆された。サルを用いた 15 及び 40 週間投与試験では，ほとんどの用量で肝細胞細胞質に軽微から軽度の好塩基性顆粒が認められた。15 週間投与試験の 250 mg/kg Q4W 群及び 125 mg/kg Q2W 群，並びに 40 週間投与試験の 300 mg/kg Q4W 群では，回復性試験終了時にも同変化が認められたが，発現頻度及び重症度は低下し，回復傾向が示された。15 週間投与試験の 50 mg/kg Q4W 群では完全な回復性が示された。

腎臓では，ラットを用いた 4 週間投与試験の 50 及び 250 mg/kg Q2W 群，15 週間投与試験の 50 及び 250 mg/kg Q4W 群，並びに 25 mg/kg Q2W 群，29 週間投与試験の 50 及び 250 mg/kg Q4W 群で尿細管に軽微から中等度の好塩基性顆粒が認められた。回復性試験終了時には，すべての試験の 250 mg/kg（Q2W 又は Q4W）群で軽微な変化が認められたが，重症度の低下がみられ，回復傾向が示唆された。サルを用いた 4，15，及び 40 週間投与試験（GLP 適用）では，腎臓の病理組織学的変化は認められなかった。

サルを用いた 4，15，及び 40 週間投与試験では，すべての投薬群でリンパ節（下顎，腸間膜，腋窩，及び鼠径等）の類洞に軽微から中等度の空胞化マクロファージの集簇が認められた。マクロファージは，わずかに好塩基性化した細胞質の拡張を伴う，泡沫状細胞質空胞の蓄積を特徴とし，腸間膜及び腋窩リンパ節で高頻度に認められた。この変化は回復性試験終了時にも認められたが，発現頻度及び重症度は低下し，回復傾向が示唆された。15 週間投与試験の 10 mg/kg Q4W 群では完全な回復性が認められた。

肝細胞の空胞化及び腎尿細管の好塩基性顆粒には，退行性変化はみられず，肝酵素及び尿検査パラメータ等の関連する臨床検査値の変動は認められなかった。さらに，いずれの病理組織学的

変化も休薬による回復性が認められたことから，これらの変化は毒性変化ではないと考えられた。ラットを用いた 4 及び 29 週間投与試験，並びにサルを用いた 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，回復性試験後にいずれも対照群と同程度に回復した。ALP 及びインクリシランはいずれも肝細胞受容体（ASGPR）を介して排泄されるため（Blom et al. 1998），ALP の高値は，インクリシランの ASGPR 結合による ALP の消失速度遅延が原因と考えられた。

サルを用いた反復投与毒性試験で神経学的検査を実施し，行動及び意識状態，歩行，姿勢反応，並びに脊髄及び脳神経について評価した。いずれの試験の最高用量においても，インクリシランの中枢神経系に及ぼす影響は認められなかった。なお，サルにおける ^{14}C 標識インクリシランの組織分布試験では，脳中インクリシラン濃度（Cmax）は LLOQ をわずかに上回り，肝臓中インクリシラン濃度の 1/654 であった[2.6.4-4.5 項]。

インクリシランに免疫刺激性はみられなかった。サルを用いた 4 週間反復投与用量設定試験では，インクリシラン投与により補体活性化を示唆する C3a 及び Bb の変化はみられず，血漿中サイトカイン（G-CSF，GM-CSF，IFN-γ，IL-1RA，IL-2，IL-5，IL-8，IL-10，IL-12/23 (p40)，IL-13，IL-15，MCP-1，MIP-1β，CD40 リガンド，TGF-α，及び VEGF）濃度に投薬の影響は認められなかった。さらに，マウスを用いた免疫刺激作用に関する探索的試験では，インクリシラン投与による血清中サイトカイン（G-CSF，IL-6，IP-10，KC，MCP-1，及び TNF-α）濃度への影響は認められなかった。

インクリシランに免疫毒性は認められなかった。サルを用いたアトルバスタチンとの併用投与毒性試験では，投与期間中及び回復性試験中の KLH 免疫後の TDAR にインクリシラン投与による影響はみられず，すべての投薬群で，抗 KLH IgM 及び IgG の抗体価に対照群との差は認められなかった。また，フローサイトメトリーによるリンパ球フェノタイピングでは，インクリシラン投与による各リンパ球数の変動は認められなかった。

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で，インクリシランの遺伝毒性を示唆する反応は認められなかった。

インクリシランのがん原性について，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評価したところ，いずれの試験においても，インクリシラン投与に関連した腫瘍発現頻度の統計学的有意な増加は認められなかった。ラットでは，95 mg/kg 以上の群の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，発現頻度は公表背景値の範囲内であり，投薬に関連した悪性の乳腺腫瘍の発現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。受胎能，精子形成，性周期，並びに卵巣及び子宮内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，発生，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も認められなかった。胎児の血漿中には低濃度のインクリシランがみられたが，一部のウサギ胎児を除き肝臓中には認められなかった。また，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 出生児の血漿中には検出されなかった。

局所刺激性については，ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験で投与部位の Draize 変法による肉眼的観察，剖検，及び病理組織学的検査を実施し評価した。試験の結果，投与部位におけるインクリシランの良好な忍容性が確認された。投与部位の主な変化は，投与部位の変色を伴うごく軽度の紅斑又はごく軽度から軽度の浮腫であり，自然治癒による回復が認められた。投与部位の病理組織学的変化はラットを用いた 29 週間投与試験のみで認められ，50 mg/kg Q4W 以上の群の雌雄で，軽微から中等度の血管周囲単核細胞浸潤又は出血が認められた。これらの所見は休薬によりほぼ回復した。サルを用いた試験では，投与部位の病理組織学的変化は認められなかった。

インクリシランの血漿中消失半減期は，ラットでは 0.7～7 時間，サルでは 1.8～18.6 時間であった。TK パラメータに性差はみられなかった。曝露量は用量比例的に増加する傾向を示し，反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった。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。組織中濃度測定では，インクリシランは主に標的器官である肝臓で検出され，続いて排泄の主要器官である腎臓で認められた。インクリシランは血漿中と比較して肝臓及び腎臓中に高濃度でみられ，長い消失半減期を示した。心臓組織中では低濃度のインクリシランが検出されたが，RISC との結合は認められなかったことから，心臓組織中のインクリシランは遺伝子発現に関与しないことが示唆された。サルを用いた 15 及び 40 週間投与試験では，投与期間後半に ADA 産生を示す個体が散見された。これらの個体で PK（血漿及び組織）及び PD パラメータ（PCSK9 及び LDL-C）への影響はみられず，ADA に中和活性がないことが示唆された。

非臨床毒性試験に供試した製剤の不純物プロファイルは，臨床試験に使用した製剤及び市販用製剤における規格案と同様であることから，不純物の安全性は毒性試験により評価されたものと考えられた。

以上のとおり，一連の非臨床毒物試験によりインクリシランの安全性が確認された。したがって，本概要に示す毒性試験成績は，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。

10 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.

[Giknis MLA and Clifford CB (2004)] Compilation of spontaneous neoplastic lesions and survival in Crl:CD® (SD) rats from control groups. Charles River, March 2004. (Internet) Available from: <http://www.centerforfoodsafety.org/files/charles-river-2004_39868.pdf> (Accessed 22 March 2019)

[Giknis MLA and Clifford CB (2013)] Compilation of spontaneous neoplastic lesions and survival in Crl:CD® (SD) rats from control groups. Charles River, March 2013. (Internet) Available from: <https://www.criver.com/sites/default/files/resources/CompilationofSpontaneousNeoplasticLesionsandSurvivalinCrlCD%C2%AESDRatsFromControlGroupsMarch2013.pdf> (Accessed 22 March 2019)

[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.

[Lin KK and Rahman MA (1998)] Overall false positive rates in tests for linear trend in tumor incidence in animal carcinogenicity studies of new drugs. J Biopharm Stat; 8(1):1-15.

[Nambiar PR, Turnquist SE, Morton D (2012)] Spontaneous tumor incidence in rasH2 mice: review of internal data and published literature. Toxicol Pathol; 40(4):614-23.

[Paranjpe MG, Elbekaei RH, Shar SA, et al. (2013)] Historical control data of spontaneous tumors in transgenic CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (Tg.rasH2) mice. Int J Toxicol; 32(1):48-57.

[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.

2.6.7 毒性試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 4
2.6.7.1 毒性試験一覧 5
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一覧表 9
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表 11
2.6.7.4 毒性試験に用いた製剤／不純物 17
2.6.7.5 単回投与毒性試験 19
2.6.7.6 反復投与毒性試験－重要な試験以外の試験 20
2.6.7.7 反復投与毒性試験 23
2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 23
2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験 28
2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験 34
2.6.7.7D カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験 40
2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験 44
2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験 50
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 58
2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験 58
2.6.7.8B ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 60
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 62
2.6.7.9A ラットを用いた小核試験 62
2.6.7.10 がん原性試験 64
2.6.7.10A rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験 64
2.6.7.10B トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験 66
2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験 70
2.6.7.11 生殖発生毒性試験-重要な試験以外の試験 77
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 79
2.6.7.12A 生殖発生毒性試験 - 雄ラットを用いた授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 79
2.6.7.12B 生殖発生毒性試験 - 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 82
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 84
2.6.7.13A 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 84
2.6.7.13B 生殖発生毒性試験 - ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 87
2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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 91
2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する毒性試験 96

2.6.7.16 局所刺激性試験 96
2.6.7.17 その他の毒性試験 97
2.6.7.17A その他の毒性試験 - 免疫刺激作用に関する探索的試験 97
2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験 98

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
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）
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-curve	薬物濃度-時間曲線下面積
BLQ	below the limit of quantitation	定量下限未満
Cmax	maximal drug plasma (tissue) concentration	最高血漿（又は組織）中薬物濃度
GD xx	gestation day xx	妊娠 xx 日
γ-GTP	gamma glutamyl transpeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
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
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
LD xx	lactation day xx	授乳 xx 日
LDL-C	low density lipoprotein cholesterol	低比重リポ蛋白コレステロール
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
NA	not applicable	該当なし
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
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
PO	per oral	経口
QD	once daily	1 日 1 回
Q4D	once every four days	4 日間に 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
RISC	ribonucleic acid-induced silencing complex	RNA 誘導サイレンシング複合体
SC	subcutaneous	皮下
TDAR	T-cell dependent antibody responses	T 細胞依存性抗体産生
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

2.6.7.1 毒性試験一覧

Test article: Inclisiran

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	No studies conducted							
Repeat-Dose Toxicity								
	Mouse, CD-1	SC	4 Weeks	0, 30, 100, 300 QW	No	[redacted], US	[8297717]	4.2.3.2-1
	Rat, Sprague-Dawley	SC	4 Weeks	0, 30, 100, 300 QW	No	Alnylam Pharmaceuticals Inc, US	[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
	Rat, Sprague-Dawley	SC	4 Weeks	0, 10, 50, 250 Q2W; 10 QW	Yes	[redacted], US	[8302576]	4.2.3.2-3
	Rat, Sprague-Dawley	SC	15 Weeks	0, 10, 50, 250 Q4W; 25 Q2W	Yes	[redacted], US	[8297015]	4.2.3.2-4
	Rat, Sprague-Dawley	SC	29 Weeks	0, 10, 50, 250 Q4W	Yes	[redacted], Canada	[5001351]	4.2.3.2-5
	Monkey, Cynomolgus	SC	4 Weeks	0, 30, 100, 300 QW	No	[redacted], US	[8297013]	4.2.3.2-6
	Monkey, Cynomolgus	SC	4 Weeks	0, 10, 50, 250 Q2W; 30 QW	Yes	[redacted], US	[8302575]	4.2.3.2-7
	Monkey, Cynomolgus	SC	15 Weeks	0, 10, 50, 250 Q4W; 125 Q2W	Yes	[redacted], US	[8297016]	4.2.3.2-8
	Monkey, Cynomolgus	SC	40 Weeks	0, 30, 100, 300 Q4W	Yes	[redacted], Canada	[5001352]	4.2.3.2-9

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: Inclisiran

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity								
Bacterial mutagenicity	*S. typhimurium; E. coli*	*In vitro*	52 hours; with / without metabolic activation	1.60 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted], US	[8297011]	4.2.3.3.1-1
Chromosome aberration	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	3 hours and 24 hours without metabolic activation; 3 hours with metabolic activation	3.39 to 500 µg/mL	Yes	[redacted], US	[8297023]	4.2.3.3.1-2
Micronucleus	Rat, Sprague-Dawley	SC	Single dose	0, 2000 (M + F); 500, 1000 (M)	Yes	[redacted], US	[8297010]	4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity								
	Mouse, rasH2 wild type	SC	58 Days	0, 375, 750, 1500 Q4W	Yes	[redacted], Canada	[8002111]	4.2.3.4.2-1
	Mouse, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous	SC	26 weeks	0, 300, 600, 1500 Q4W	Yes	[redacted], Canada	[8002112]	4.2.3.4.2-2
	Rat, Sprague-Dawley	SC	2 years	0, 40, 95, 250 Q4W	Yes	[redacted], Canada	[1016-1021]	4.2.3.4.1-1

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: Inclisiran

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity								
Male fertility and early embryonic development	Rat, Sprague-Dawley	SC	Q2W beginning 29 days prior to cohabitation, during cohabitation and continuing after the 14-day cohabitation period until termination (Days 1, 15, 29, 43 and 57)	0, 10, 50, 250 Q2W	Yes	[redacted], Canada	[9001068]	4.2.3.5.1-1
Female fertility and early embryonic development	Rat, Sprague-Dawley	SC	Once every 4 days beginning 14 days prior to mating (Days 1, 5, 9 and 13) and continuing during mating (Days 17, 21 and 25) and once daily during the gestation period until Day 7 pc	0, 10, 50, 250 Q4D; 0, 10, 50, 150 QD[b]	Yes	[redacted], Canada	[9001069]	4.2.3.5.1-2
DRF for embryo-fetal development	Rat, Sprague-Dawley	SC	GD 6 to 17	0, 15, 50, 100, 150 QD	No	[redacted], Canada	[9001070]	4.2.3.5.2-1
Embryo-fetal development	Rat, Sprague-Dawley	SC	GD 6 to 17	0, 50, 100, 150 QD	Yes	[redacted], Canada	[9001072]	4.2.3.5.2-2
DRF for embryo-fetal development	Rabbit, New Zealand White	SC	GD 7 to 19	0, 15, 50, 100, 150 QD	No	[redacted], Canada	[9001071]	4.2.3.5.2-3
Embryo-fetal development	Rabbit, New Zealand White	SC	GD 7 to 19	0, 50, 100, 150 QD	Yes	[redacted], Canada	[9001073]	4.2.3.5.2-4
Pre and post-natal development	Rat, Sprague-Dawley	SC	GD 6 to LD 20	0, 50, 100, 150 QD	Yes	[redacted], Canada	[9001159]	4.2.3.5.3-1

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: Inclisiran

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Local Tolerance	No dedicated studies conducted[c]							
Other Toxicity Studies								
Immune-stimulation	Mouse, CD-1	SC	Single Dose	0, 30, 100	No	Alnylam Pharmaceuticals Inc, US	[PCS-NCD13-002]	4.2.3.7.7-1
Coadministration of inclisiran and atorvastatin	Monkey, Cynomolgus	Inclisiran: SC Atorvastatin: PO	Inclisiran: 85 days Atorvastatin: 85 days	Inclisiran: 0, 30, 100, 300 Q4W Atorvastatin: 40→25 QD[d]	Yes	[redacted], US	[20110258]	4.2.3.7.7-2

[redacted]: [redacted]; DRF: dose range finding; F: female; GD: gestation day; LD: lactation day; M: male; NOAEL: no observed adverse effect level; pc: post coitum; PO: per oral; QD: once daily; Q4D: once every four days; QW: once weekly; Q2W: once every two weeks; Q4W: once every four weeks; SC: subcutaneous; US: united states

a: the underlined dose represents the NOAEL

b: Dosing regimen of prior to and during cohabitation was once every 4 days (Q4D), and during gestation was once daily (QD).

c: Dedicated local tolerance studies were not conducted, but local tolerance was determined in all pivotal toxicity studies.

d: Atorvastatin was initially administered at a dose of 40 mg/kg, but due to toxicity the dose was reduced to 25 mg/kg on Day 15 / 16.

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一覧表

Test Article: Inclisiran

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
4-week repeat dose toxicity	Mouse	SC	30, 100, 300 QW	No	[8297717]	4.2.3.2-1
58-day repeat dose toxicity	rasH2 WT mouse	SC	375, 750, 1500 Q4W	Yes	[8002111]	4.2.3.4.2-1
4-week repeat dose toxicity	Rat	SC	30, 100, 300 QW	No	[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
4-week repeat dose toxicity	Rat	SC	10, 50, 250 Q2W; 10 QW	Yes	[8302576]	4.2.3.2-3
15-week repeat dose toxicity	Rat	SC	10, 50, 250 Q4W; 25 Q2W	Yes	[8297015]	4.2.3.2-4
29-week repeat dose toxicity	Rat	SC	10, 50 250 Q4W	Yes	[5001351]	4.2.3.2-5
4-week repeat dose toxicity	Monkey	SC	30, 100, 300 QW	No	[8297013]	4.2.3.2-6
4-week repeat dose toxicity	Monkey	SC	10, 50, 250 Q2W; 30 QW	Yes	[8302575]	4.2.3.2-7
15-week repeat dose toxicity	Monkey	SC	10, 50, 250 Q4W; 125 Q2W	Yes	[8297016]	4.2.3.2-8
40-week repeat dose toxicity	Monkey	SC	30, 100, 300 Q4W	Yes	[5001352]	4.2.3.2-9
Micronucleus	Rat	SC	500, 1000, 2000	Yes	[8297010]	4.2.3.3.2-1
26-week carcinogenicity	Mouse	SC	300, 600, 1500 Q4W	Yes	[8002112]	4.2.3.4.2-2
2-year carcinogenicity	Rat	SC	40, 95, 250 Q4W	Yes	[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
Reproductive & Development Toxicity						
male FEED	Rat	SC	10, 50, 250 Q2W	Yes	[9001068]	4.2.3.5.1-1
female FEED	Rat	SC	0, 10, 50, 250 Q4D; 0, 10, 50, 150 QD[a]	Yes	[9001069]	4.2.3.5.1-2
DRF for EFD	Rat	SC	15, 50, 100, 150 QD	No	[9001070]	4.2.3.5.2-1
EFD	Rat	SC	50, 100, 150 QD	Yes	[9001072]	4.2.3.5.2-2
DRF for EFD	Rabbit	SC	15, 50, 100, 150 QD	No	[9001071]	4.2.3.5.2-3
EFD	Rabbit	SC	50, 100, 150 QD	Yes	[9001073]	4.2.3.5.2-4
PPND	Rat	SC	50, 100, 150 QD	Yes	[9001159]	4.2.3.5.3-1

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一覧表（続き）

Test article: Inclisiran

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Other Toxicity: co-administration of inclisiran + atorvastatin	Monkey	inclisiran: SC Atorvastatin: PO	Inclisiran: 30, 100, 300 Q4W Atorvastatin: 40→25 QD[b]	Yes	[20110258]	4.2.3.7.7-2

DRF: dose range findings; EFD: embryo and fetus development; FEED: fertility and early embryo development; PO: per oral; PPND: pre and postnatal development; QD: once daily; Q4D: once every four days; QW: once weekly; Q2W: once every two weeks; Q4W: once every four weeks; SC: subcutaneous

a: Dosing regimen of prior to and during cohabitation was once every 4 days (Q4D), and during gestation was once daily (QD).

b: Atorvastatin was initially administered at a dose of 40 mg/kg, but due to toxicity the dose was reduced to 25 mg/kg on Day 15 / 16.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表

AUC (µg.h/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
5 (QD)[a]								9.48[b]	[ORION-15]	
10 (QD)				4.18					[9001069]	4.2.3.5.1-2
10 (Q2W)			5.11						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			4.49	3.85					[8302576]	4.2.3.2-3
						10.2	9.03		[8302575]	4.2.3.2-7
10 (Q4W)			5.35	3.18					[5001351]	4.2.3.2-5
			5.00	28.4					[8297015]	4.2.3.2-4
						8.55	5.95		[8297016]	4.2.3.2-8
10 (QW)			4.15	3.80					[8302576]	4.2.3.2-3
15 (QD)					12.3				[9001071]	4.2.3.5.2-3
				4.89					[9001070]	4.2.3.5.2-1
25 (Q2W)			13.0	12.4					[8297015]	4.2.3.2-4
30 (Q4W)						73.7[c]	91.3[c]		[5001352]	4.2.3.2-9
						57.0	48.5		[20110258]	4.2.3.7.7-2
30 (QW)	41.3								[8297717]	4.2.3.2-1
			43.9						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						293			[8297013]	4.2.3.2-6
						65.6	49.0		[8302575]	4.2.3.2-7
40 (Q4W)			64.2	25.1					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

AUC (µg.h/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
50 (Q2W)			47.3						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			43.8	30.3					[8302576]	4.2.3.2-3
						112	93.6		[8302575]	4.2.3.2-7
50 (QD)				49.4					[9001069]	4.2.3.5.1-2
				29.7					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					69.3				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					53.4				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				34.1					[9001070]	4.2.3.5.2-1
50 (Q4W)			58.0	39.3					[5001351]	4.2.3.2-5
			80.4	27.0					[8297015]	4.2.3.2-4
						94.7	80.0		[8297016]	4.2.3.2-8
95 (Q4W)			182	119					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
100 (QD)				94.3					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					185				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					193				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				92.8					[9001070]	4.2.3.5.2-1
100 (Q4W)						275[c]	291[c]		[5001352]	4.2.3.2-9
						207	245		[20110258]	4.2.3.7.7-2
100 (QW)	113								[8297717]	4.2.3.2-1
			195						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						1179			[8297013]	4.2.3.2-6
125 (Q2W)						306	249		[8297016]	4.2.3.2-8

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

AUC (µg.h/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
150 (QD)				163					[9001069]	4.2.3.5.1-2
				128					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					271				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					314				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				139					[9001070]	4.2.3.5.2-1
250 (Q2W)			352						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			371	298					[8302576]	4.2.3.2-3
						1360	691		[8302575]	4.2.3.2-7
250 (Q4W)			487	389					[5001351]	4.2.3.2-5
			547	421					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
			429	216					[8297015]	4.2.3.2-4
						585	571		[8297016]	4.2.3.2-8
300 (Q4W)						792[c]	990[c]		[5001352]	4.2.3.2-9
						759	716		[20110258]	4.2.3.7.7-2
						659	670		[20110258]	4.2.3.7.7-2
300 (QW)	479								[8297717]	4.2.3.2-1
			590						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						2584			[8297013]	4.2.3.2-6
375 (Q4W)	350	388							[8002111]	4.2.3.4.2-1
750 (Q4W)	960	810							[8002111]	4.2.3.4.2-1
1500 (Q4W)	2210	1880							[8002111]	4.2.3.4.2-1

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

Cmax (µg/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
5 (QD)[a]								0.607	[ORION-15]	
10 (QD)				1.41					[9001069]	4.2.3.5.1-2
10 (Q2W)			1.28						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			1.24	1.91					[8302576]	4.2.3.2-3
						1.70	1.59		[8302575]	4.2.3.2-7
10 (Q4W)			1.72	1.23					[5001351]	4.2.3.2-5
			0.957	1.89					[8297015]	4.2.3.2-4
						1.69	0.857		[8297016]	4.2.3.2-8
10 (QW)			1.66	1.15					[8302576]	4.2.3.2-3
15 (QD)					4.00				[9001071]	4.2.3.5.2-3
				1.80					[9001070]	4.2.3.5.2-1
25 (Q2W)			2.08	2.51					[8297015]	4.2.3.2-4
30 (Q4W)						7.53	8.49		[5001352]	4.2.3.2-9
						6.70	7.19		[20110258]	4.2.3.7.7-2
30 (QW)	13.4								[8297717]	4.2.3.2-1
			12.2						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						21.4			[8297013]	4.2.3.2-6
						9.94	6.79		[8302575]	4.2.3.2-7
40 (Q4W)			8.08	4.90					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
50 (Q2W)			11.7						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			10.6	8.38					[8302576]	4.2.3.2-3
						14.0	11.8		[8302575]	4.2.3.2-7

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

Cmax (µg/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
50 (QD)				18.7					[9001069]	4.2.3.5.1-2
				7.81					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					14.2				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					12.3				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				16.0					[9001070]	4.2.3.5.2-1
50 (Q4W)			19.9	14.8					[5001351]	4.2.3.2-5
			8.10	5.43					[8297015]	4.2.3.2-4
						7.19	6.91		[8297016]	4.2.3.2-8
95 (Q4W)			17.4	21.6					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
100 (QD)				31.6					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					22.8				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					21.7				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				23.6					[9001070]	4.2.3.5.2-1
100 (Q4W)						17.3	22.8		[5001352]	4.2.3.2-9
						16.9	19.4		[20110258]	4.2.3.7.7-2
100 (QW)	30.9								[8297717]	4.2.3.2-1
			34.6						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						99.7			[8297013]	4.2.3.2-6
125 (Q2W)						19.1	14.9		[8297016]	4.2.3.2-8
150 (QD)				36.7					[9001069]	4.2.3.5.1-2
				30.8					[9001072]	4.2.3.5.2-2
					29.7				[9001071]	4.2.3.5.2-3
					25.2				[9001073]	4.2.3.5.2-4
				33.9					[9001070]	4.2.3.5.2-1

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

Cmax (µg/mL) Test Article: Inclisiran

Dose (mg/kg)	Mouse		Rat		Rabbit	Monkey		Human	Study no.	Location in CTD
	Male	Female	Male	Female	Female	Male	Female			
250 (Q2W)			66.8						[9001068]	4.2.3.5.1-1
			43.9	45.4					[8302576]	4.2.3.2-3
						53.7	46.2		[8302575]	4.2.3.2-7
250 (Q4W)			56.0	46.7					[5001351]	4.2.3.2-5
			47.9	42.4					[1016-1021]	4.2.3.4.1-1
			46.9	35.3					[8297015]	4.2.3.2-4
						41.9	39.3		[8297016]	4.2.3.2-8
300 (Q4W)						45.3	63.8		[5001352]	4.2.3.2-9
						51.0	44.8		[20110258]	4.2.3.7.7-2
						38.7	41.3		[20110258]	4.2.3.7.7-2
300 (QW)	92.8								[8297717]	4.2.3.2-1
			83.7						[PCSSC-NCD14-001]	4.2.3.2-2
						154			[8297013]	4.2.3.2-6
375 (Q4W)	116	214							[8002111]	4.2.3.4.2-1
750 (Q4W)	174	399							[8002111]	4.2.3.4.2-1
1500 (Q4W)	377	847							[8002111]	4.2.3.4.2-1

QD: once daily; QW: once weekly; Q2W: once every two weeks; Q4W: once every four weeks

a: Data from the Phase II clinical study (ORION 15) in Japanese patients treated with Inclisiran at a single dose of 300 mg. Dose in mg/kg was calculated based on body weight as 60 kg. Human exposure shows the mean value.

b: AUC0-24h

c: AUC0-48h

2.6.7.4 毒性試験に用いた製剤／不純物

Drug Product Test Article: Inclisiran

Batch / Lot Number	Analytical Method	Purity (%)[a]	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
AD-60212.4	Non-denaturing IP-RP HPLC	86	NA	[PCS-NCD13-002]	Exploratory single dose immunostimulation study in male CD-1 mice (non-GLP)
982019	Non-denaturing IP-RP HPLC	98.7	NA	[8297717]	4-week repeat dose study in CD-1 mice (non-GLP)
				[PCSSC-NCD14-001]	4-week repeat dose study in Sprague-Dawley rats (non-GLP)
				[8297013]	4-week repeat dose study in cynomolgus monkeys (non-GLP)
982071	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.4	NA	[8302576]	4-week repeat dose study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[8297015]	15-week repeat dose study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[8302575]	4-week repeat dose study in cynomolgus monkeys (GLP)
				[8297016]	15-week repeat dose study in cynomolgus monkeys (GLP)
				[8297011]	Bacterial reverse mutation assay (GLP)
				[8297023]	Chromosome aberration in human peripheral blood lymphocytes (GLP)
				[8297010]	*In vivo* rat bone marrow micronuclease assay (GLP)
				[5001351]	29-week repeat dose study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[5001352]	40-week repeat dose study in cynomolgus monkeys (GLP)
982200	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.4	NA	[5001351]	29-week repeat dose study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[5001352]	40-week repeat dose study in cynomolgus monkeys (GLP)
5004049	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.4	NA	[1016-1021]	2-year carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats (GLP)
5090-2-1-2	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.2	NA	[9001070]	Dose range finding embryo-fetal development study in female Sprague-Dawley rats (non-GLP)
				[9001071]	Dose range finding embryo-fetal development study in female New Zealand White rabbits (non-GLP)
5090-2-1-10	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.2	NA	[1016-1021]	2-year carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats (GLP)

2.6.7.4 毒性試験に用いた製剤／不純物（続き）

Drug Product Test Article: Inclisiran

Batch / Lot Number	Analytical Method	Purity (%)[a]	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
4647-1	Non-denaturing LC/UV	99.6	NA	[20110258]	85-day inclisiran and atorvastatin combination toxicity study in cynomolgus monkeys (GLP)
				[1016-1021]	2-year carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats (GLP)
B170151	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.1	NA	[9001068]	Fertility and early embryonic development in male Sprague-Dawley rats (GLP)
				[9001069]	Fertility and early embryonic development in female Sprague-Dawley rats (GLP)
				[9001072]	Embryo-fetal development study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[9001073]	Embryo-fetal development study in New Zealand White rabbits (GLP)
B170152	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.2	NA	[8002111]	58-day toxicity study in rasH2 wild type mice (GLP)
				[9001072]	Embryo-fetal development study in Sprague-Dawley rats (GLP)
B180004	Non-denaturing IP-RP HPLC	99.3	NA	[8002112]	26-week carcinogenicity study in TgrasH2 mice (GLP)
				[1016-1021]	2-year carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats (GLP)
				[9001159]	Pre and postnatal development study in Sprague-Dawley rats (GLP)

IP-RP HPLC: ion-pair reverse phase high performance liquid chromatography; LC/UV: liquid chromatography with ultraviolet detection; NA: not applicable; no specific impurities identified; siRNA: small interfering RNA

a: purity is for the siRNA duplex.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験－重要な試験以外の試験

Test Article: Inclisiran

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
Mouse / CD-1	SC, once weekly (0.9% NaCl / solution)	4 weeks	0, 30, 100, 300 QW	M: 10, F: 10	300	Decreases in LDL-C in males (range: −22% to −69% from control) and females (range: −23% to −50% from control) at all doses. Decreases in total cholesterol and HDL-C in males at all dose levels, ranging from −15% to −34% and −15% to −35% from controls, respectively, and females in the 300 mg/kg dose group exhibited decreases of −16% and −14% from controls for cholesterol and HDL-C, respectively. Increased triglycerides in males in all dose groups (range: +30% to +150% from controls) and females in the 300 mg/kg dose group (+63% from controls). Minimal to slight vacuolation of macrophages within the subcutis of injection sites.	[8297717]

2.6.7.6 反復投与毒性試験－重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Inclisiran

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
Rat / Crl:CD(SD)	SC, once weekly (0.9% NaCl / solution)	4 weeks	0, 30, 100, 300 QW	M: 5, F: 5	300	One male in the 300 mg/kg dose group was found dead on Day 20. Clinical signs and body weights had been normal in this animal from Days 1-19. No macroscopic findings were noted. The most significant microscopic finding was marked lymphoid necrosis in the marginal zone of the spleen. Due to extensive autolysis in several tissues, the significance of this splenic change is uncertain. Decreases in mean LDL-C in all male dose groups (range: −77% to −81% from controls) and females in the 30 and 100 mg/kg dose groups (range: −53% to −5% from controls); decreases in mean serum total cholesterol (range: −40% to −71% from controls) and HDL-C (range: −76% to −80% from controls) concentrations at all dose levels. Minimal to moderate vacuolation in the liver at all dose levels. Oil-red-O staining for neutral lipids in the livers of inclisiran treated animals revealed moderate numbers of hepatocytes with varying degrees of lipid ranging from small to brightly staining in all dose groups. Minimal basophilic pigment of the renal tubules in the 100 and 300 mg/kg dose groups. Minimal to slight mononuclear cell infiltration was observed at the last injection site in all inclisiran treated groups.	[PCSSC-NCD14-001]

2.6.7.6 反復投与毒性試験－重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Inclisiran

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
Monkey / Cynomolgus	SC, once weekly (0.9% NaCl / solution)	4 weeks	0, 30, 100, 300 QW	M: 3	300	Non dose-related decreases in lipids. Decreased LDL-C (range: −12% to −83% from controls) in the majority of animals at ≥ 30 mg/kg throughout the dosing period. Decreases cholesterol at ≥ 30 mg/kg dose groups throughout the dosing period (range: −1% to −47% from controls). On Day 30 there was a mild decrease in triglyceride levels (range: −34% to −41% from controls) in animals at ≥ 30 mg/kg. A minimal increase (range: +37% to +119% from controls) in mean ALP on Day 30 in animals given ≥ 30 mg/kg. Individual increases in ALP were < −2 fold in all animals compared with the highest individual control value, had no microscopic correlates, and were considered a minor effect of inclisiran. No changes in levels of C-reactive protein, complement, and pro-inflammatory cytokines. Inclisiran shown not to be incorporated into RISC in heart tissue. Minimal basophilic granules in the cytoplasm of renal tubular epithelial cells in the 300 mg/kg dose group.	[8297013]

ALP: alkaline phosphatase; F: female; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NOAEL: no observed adverse effect level; QW: once weekly; RISC: ribonucleic acid-induced silencing complex; SC: subcutaneous

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Report Title: ALN-PCSSC: A 4-week repeat-dose toxicity and toxicokinetics study in rats with an 8-week recovery
Test Article: Inclisiran
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)
Duration of Dosing: 4 weeks
Study No. [8302576]
Initial Age: 6 to 7 weeks
Duration of Recovery: 8 weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Method of Administration: Subcutaneous injection
GLP Compliance: Yes
Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.25 mL/kg via subcutaneous injection. Groups 1, 2, 3, and 4 were dosed once every two weeks for a total of three doses. Group 5 was dosed once weekly for a total of 5 doses. Select frozen tissue samples were collected from toxicokinetic animals for inclisiran concentration analysis. Local irritation assessments were conducted.

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q2W or 10 mg/kg QW

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
Number of Animals		Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics												
Number of Animals			M: 0	F: 0	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36
Plasma	Day 1	Cmax (µg/mL)	NA	NA	1.71	1.22	13.1	13.7	51.6	47.1	1.79	1.22
		AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	3.02	2.77	35.4	29.1	294	277	3.66	2.82
	Day 29	Cmax (µg/mL)	NA	NA	1.24	1.91	10.6	8.38	43.9	45.4	1.66	1.15
		AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	4.9	3.89	52.1	33.5	371	298	4.59	3.87

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
Number of Animals		Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics (cont.)												
Number of Animals			M: 0	F: 0	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36
Liver	Day 29	Cmax (µg/g)	NA	NA	318	455	1260	1630	2360	3870	401	447
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	34200	62800	121000	197000	285000	891000	51600	51800
Kidney	Day 29	Cmax (µg/g)	NA	NA	34.5	30.2	297	308	1090	1250	37.9	40.5
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	7620	7210	49800	63700	261000	443000	9970	13000
Heart	Day 29	Cmax (µg/g)	NA	NA	1.11	0.605	7.45	5.7	60.9	59.9	1.02	0.759
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	22.2	8.43	3010	1390	19300	14400	18.6	4.73
Noteworthy Findings												
Died or Sacrificed Moribund			0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dermal Irritation Scoring			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Day 30)												
T-Cho (mg/dL)			69	97	59	87	28**	31**	21**	33**	35**	70**
HDL-C (mg/dL)			65	84	56	77	27**	23**	19**	15**	35**	64**
LDL-C (mg/dL)			11	13	8	10	< 4	4	< 3	< 4	< 4	7
ALP (U/L)			151	94	154	92	167	106	169	127**	162	91
Urinalysis			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Organ Weights											
Liver											
Absolute Organ Weight (%)[a]		11.5095 g	7.1294 g	1.1	2	2.8	7.5	−2.4	19.8**	−2	6.7
Organ to Body Weight (%)		3.0465	3.1062	3.0173	3.0557	3.1224	3.3423	3.0294	3.5735**	3.0528	3.2315
Organ to Brain Weight (%)		541.4349	363.9158	551.7269	365.0880	560.7743	383.8213	529.6268	434.3783*	543.4811	387.9406
Macroscopic Observations											
Injection site, Discolored		0	0	0	1	0	1	1	0	1	0
Histopathology[b] (No. examined[c])		10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
Kidney											
Basophilic granules, tubule cell, cytoplasm	minimal	0	0	0	0	10	10	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	10	10	0	0
Liver											
Vacuolation, hepatocyte	minimal	0	0	0	0	3	4	5	4	2	1
	slight	0	0	0	0	5	0	5	5	1	0
	moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology[b] (No. examined[c]) (cont.)		10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
Injection Site											
Site A											
Inflammation	minimal	0	1	1	0	0	2	0	0	1	1
Site B											
Hemorrhage	minimal	0	0	1	0	1	1	2	1	0	0
	slight	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	moderate	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Inflammation	minimal	2	0	0	1	2	3	4	3	1	3
	slight	0	0	4	2	3	2	2	1	1	0
Site C											
Hemorrhage	minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Inflammation	minimal	0	0	2	0	1	2	4	1	3	1
	slight	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Site D (No. examined[d])		0	0	0	0	0	0	0	0	10	9
Hemorrhage	minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation	minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
	slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	0
	moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**10 QW**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Phase											
Clinical Chemistry (Day 58)											
T-Cho (mg/dL)		86	119	77	127	78	112	85	83*	86	106
HDL-C (mg/dL)		77	93	71	100	75	99	79	75	80	89
LDL-C (mg/dL)		12	16	11	16	13	15	12	8	14	14
Organ Weights[e]		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology[b] (No. examined)		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Kidney											
Basophilic granules, tubule cell, cytoplasm	minimal	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
Liver											
Vacuolation, hepatocyte	minimal	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
	slight	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0

-: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; F: female; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NA: not applicable; QW: once weekly; Q2W: once every two weeks; T-Cho: total cholesterol; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett's test)

a: For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

b: Incidence is presented.

c: One toxicity male (Animal No. B04098) at 10 mg/kg Q2W was found dead on Day 28 of the dosing phase.

d: One female (Animal No. B04470) at 10 mg/kg QW did not have Injection Site D examined.

e: Group differences in organ weight parameters at the end of recovery phase were interpreted as incidental and/or within the normal range of variation because no clear dose response was noted and/or they were without a microscopic correlate.

2.6.7.7B　ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験

Report Title: ALN-PCSSC: A 15 week repeat-dose cycle toxicity study with toxicokinetics in Sprague-Dawley rats with an 8 week recovery phase

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Duration of Dosing: 15 weeks

Study No. [8297015]

Initial Age: 6 to 7 weeks

Duration of Recovery: 8 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-4

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Subcutaneous injection

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.25 mL/kg via subcutaneous injection on Days 1, 29, 57, and 85 (Groups 1 through 4) or on Days 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, and 99 (Group 5) of the dosing phase. Bioanalytical tissue concentration and tissue toxicokinetic data were collected from toxicokinetic animals. Local irritation assessments and anti-drug antibody evaluation were conducted. Due to a protocol deviation, dosing site irritation scoring was only performed on animals given 25 mg/kg once every other week postdose on Days 1, 85, and 99 of the dosing phase.

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q4W or 25 mg/kg Q2W

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals		Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics												
Number of Animals			0	0	27	27	27	27	27	27	27	27
Plasma	Day 1	AUClast (µg.h/mL)	NA	NA	3.23	2.58	42.5	38.3	405	230	12.7	10.0
		AUC0-4h (µg.h/mL)	NA	NA	3.23	2.58	34.9	35.2	156	152	11.1	8.57
		Cmax (µg/mL)	NA	NA	1.91	1.21	13.7	16.4	43.1	54.8	4.81	4.97
	Day 85 / 99	AUClast (µg.h/mL)	NA	NA	5.00	28.4	80.4	27.0	429	216	13.0	12.4
		AUC0-4h (µg.h/mL)	NA	NA	3.25	4.08	28.3	17.8	136	121	7.22	8.07
		Cmax (µg/mL)	NA	NA	0.957	1.89	8.10	5.43	46.9	35.3	2.08	2.51

2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals		Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics (cont.)												
Number of Animals			0	0	27	27	27	27	27	27	27	27
Liver	Day 85 / 99	Cmax (µg/g)	NA	NA	382	341	1670	1740	5210	5920	906	1070
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	28000	27400	101000	144000	968000	960000	67300	66200
Kidney	Day 85 / 99	Cmax (µg/g)	NA	NA	42.7	35.5	403	285	2330	1990	170	157
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	23300	19100	129000	136000	1050000	1070000	72800	82200
Heart	Day 85 / 99	Cmax (µg/g)	NA	NA	1.7	0.596	5.17	3.08	40.2	36.3	5.89	3.78
		AUClast (µg.h/g)	NA	NA	NA	NA	4290	2610	42300	28100	2230	968
Anti-drug Antibodies (No. of positive animals)			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings												
Died or Sacrificed Moribund[a]			1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Clinical Observations			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dermal Irritation Scoring			NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Hematology			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Clinical Chemistry (Day 113)											
T-Cho (mg/dL)		122	105	81	101	73*	77	43*	84	23*	62*
HDL-C (mg/dL)		106	101	82	93	79	76	50*	88	25*	67*
LDL-C (mg/dL)		27	14	14	12	10	< 6	< 4	8	< 3	5
Total protein (g/dL)		7.6	8.3	7.2	8.3	7.2	8.0	6.9*	8.1	7.1	8.1
Globulin (g/dL)		2.7	2.5	2.6	2.4	2.5	2.2	2.2*	2.4	2.4*	2.4
Potassium (mmol/L)		6.2	5.7	6.1	5.7	6.1	5.6	5.5*	5.6	5.9	5.6
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights											
Adrenal											
Absolute Organ Weight (%)[b]		0.0510 g	0.0646 g	10.6	−8.0	18.4	−1.4	25.9*	−8.8	31.0*	−0.3
Organ to Body Weight (%)		0.0097	0.0220	0.0098	0.0204	0.0104	0.0209	0.0114	0.0198	0.0119*	0.0213
Organ to Brain Weight (%)		2.2971	3.2053	2.5743	2.9260	2.6950	3.1549	2.9031*	2.9443	2.9540*	3.1831
Macroscopic Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology[c]											
No. Examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney											
Basophilic granules, tubule cell											
	not present	10	10	10	10	7	0	0	0	7	0
	minimal	0	0	0	0	3	10	4	0	3	10
	slight	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0
	moderate	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Degeneration, tubule, focal / multifocal											
	not present	10	10	10	10	10	10	7	7	10	10
	minimal	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0
Liver											
Vacuolation, hepatocyte											
	not present	10	9	6	10	1	8	0	2	0	4
	minimal	0	1	4	0	4	2	4	3	0	3
	slight	0	0	0	0	4	0	3	3	7	2
	moderate	0	0	0	0	1	0	3	2	3	1
Infiltrate, mononuclear cell											
	not present	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	minimal	8	10	10	10	9	10	8	9	7	10
	slight	0	0	0	0	1	0	2	1	3	0

2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Phase											
Number of Toxicity Animals in Recovery		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Clinical Chemistry (Day 3)											
T-Cho (mg/dL)		80	89	66	91	63	96	42*	99	30*	82
HDL-C (mg/dL)		72	85	62	89	64	92	47*	97	34*	77
LDL-C (mg/dL)		16	11	15	12	11	13	< 4	13	4	9
Histopathology[c]											
No. Examined		4	5	5	5	5	5	4	4	5	5
Kidney											
Basophilic granules, tubule cell											
	not present	4	5	5	5	5	5	1	0	5	5
	minimal	0	0	0	0	0	0	3	4	0	0

2.6.7.7B ラットを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**25 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Phase (cont.)											
Histopathology[c] (cont.)											
Liver											
Vacuolation, hepatocyte											
not present		3	5	4	5	4	5	0	4	4	5
minimal		1	0	1	0	0	0	2	0	1	0
slight		0	0	0	0	1	0	2	0	0	0
Infiltrate, mononuclear cell											
not present		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
minimal		4	5	5	5	5	5	4	3	5	5
slight		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

-: no noteworthy findings; F: female; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NA: not applicable; Q2W: once every two weeks; Q4W: once every four weeks; T-Cho: total cholesterol; *: $p \leq 0.05$ (Dunnett's test)

a: Three toxicity animals were found dead or were sacrificed in moribund condition during the recovery phase. One male given 250 mg/kg was found dead on Day 11 of the recovery phase. This animal had clinical observations limited to red discolored haircoat around the nose. A cause of death was not evident from macroscopic and microscopic findings. This death was not considered test article-related because no other deaths in this group occurred that were undetermined or attributed to test article-related findings. One control male was sacrificed in moribund condition on Day 29 of the recovery phase with the clinical observation of a left axillary mass. One female given 250 mg/kg once every 4 weeks was sacrificed in moribund condition on Day 29 of the recovery phase because of general debilitation, with thin appearance and cold to touch on all feet. The cause of death was attributed to malignant lymphoma. Lymphoma is the most common hematopoietic neoplasm reported in Sprague-Dawley rats in short-term toxicity studies; therefore, this neoplasm was considered spontaneous and not test article-related.

b: For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

c: Incidence is presented.

2.6.7.7C　ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験

Report Title: PCSSC: A 29-week repeat dose subcutaneous injection toxicity and toxicokinetic study in the Sprague-Dawley rat followed by a 13-week recovery period

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Duration of Dosing: 29 weeks

Study No. [5001351]

Initial Age: 7 weeks

Duration of Postdose: 13 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-5

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Subcutaneous injection

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.25 mL/kg via subcutaneous injection on Days 1, 29, 57, 85, 113, 141, 169, and 197 of the dosing phase. Bioanalytical tissue concentration and tissue toxicokinetic data were collected from toxicokinetic animals. Local irritation assessments, anti-drug antibody, and corticosterone evaluation were conducted.

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q4W

Dose (mg/kg)			**0 (Control) Q4W**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals		Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics										
Number of Animals			3	3	27	27	27	27	27	27
Plasma	Day 1	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	7360	2460	38200	25800	284000	236000
		Cmax (ng/mL)	NC	NC	7260	1380	17400	11100	63500	56800
	Day 85	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	6040	3970	52200	37900	356000	262000
		Cmax (ng/mL)	NC	NC	2370	2530	19000	16400	60100	70800
	Day 197	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	5350	3180	58000	39300	487000	389000
		Cmax (ng/mL)	NC	NC	1720	1230	19900	14800	56000	46700

2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)				0 (Control) Q4W		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
Number of Animals		Main		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
		Recovery		M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics (cont.)											
Number of Animals				3	3	27	27	27	27	27	27
Liver	Day 197	AUClast (ng.h/g)		NC	NC	22300000	20200000	94100000	78400000	279000000	301000000
		Cmax (ng/g)		NC	NC	87200	79700	341000	305000	901000	1100000
Kidney	Day 197	AUClast (ng.h/g)		NC	NC	7780000	4020000	45400000	35900000	335000000	260000000
		Cmax (ng/g)		NC	NC	15700	9780	128000	98600	705000	494000
Heart	Day 197	AUClast (ng.h/g)		NC	NC	NC	NC	2380000	759000	15300000	5270000
		Cmax (ng/g)		NC	NC	NC	NC	3640	1710	15900	6700
Anti-drug Antibodies (No. of positive animals)				0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings											
Died or Euthanized Moribund[a]				1	1	0	0	3	1	0	0
Body Weight				-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption				-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology				-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations				-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation Assessments											
Day 1	No. Examined			15	15	15	15	15	15	15	15
	Edema[b]		moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Day 85	No. Examined			15	15	15	15	15	15	15	15
	Erythema[b]		very slight	0	2	2	2	1	3	1	4
	Edema[b]		very slight	0	0	0	0	0	1	0	0
Day 197	No. Examined			14	14	15	15	13	14	15	15
	Erythema[b]		very slight	0	2	0	3	2	0	5	1
	Edema[b]		very slight	0	0	0	0	0	0	2	1
			slight	0	0	0	0	0	0	4	0

2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)			**0 (Control) Q4W**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals		Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
		Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Hematology										
Day 86	Platelet (10^3/μL)		-	1076	-	1025	-	1014	-	938*
Day 198	Platelet (10^3/μL)		-	1013	-	945	-	912	-	850
Coagulation			-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Corticosterone			-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry										
Day 86	ALP (U/L)		94	35	78	44*	86	45*	185***	62***
	ALT (U/L)		54	-	47	-	51	-	66	-
	LDL-C (mg/dL)		17	12	17	11	14	10	10*	6***
Day 198	ALP (U/L)		69	24	57	25	67	32*	125***	52***
	ALT (U/L)		48	-	43	-	62	-	74**	-
	LDL-C (mg/dL)		15	14	15	12	20	8*	8**	6**
Urinalysis			-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight			-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[b]										
No. Examined			15	14	15	15	13	15	15	15
Liver		Discoloration, pale	0	0	0	0	3	0	8	0
Site, Injection		Focus, dark	1	2	2	5	2	5	8	5
		Discoloration, dark	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control) Q4W		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
Number of Animals	Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology[c]									
No. Examined		15	14	15	15	13	15	15	15
Kidney									
Granules; basophilic, tubular		(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(15)	(15)	(15)
	minimal	0	0	0	0	0	11	2	0
	mild	0	0	0	0	12	4	10	11
	moderate	0	0	0	0	0	0	3	4
Vacuolation; tubular		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(8)	(5)
	minimal	0	0	0	0	0	0	8	5
Liver									
Vacuolation; hepatocellular; zonal		(0)	(0)	(14)	(14)	(13)	(15)	(15)	(15)
	minimal	0	0	9	12	6	9	3	5
	mild	0	0	5	2	6	4	7	7
	moderate	0	0	0	0	1	2	4	3
	marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Site, injection									
Hemorrhage; subcutaneous tissue		(3)	(2)	(1)	(4)	(0)	(5)	(6)	(6)
	minimal	0	0	1	3	0	2	2	1
	mild	3	2	0	1	0	1	4	3
	moderate	0	0	0	0	0	1	0	2
Infiltration; mononuclear; perivascular		(5)	(10)	(7)	(10)	(9)	(7)	(11)	(14)
	minimal	5	9	7	10	5	7	4	7
	mild	0	1	0	0	4	0	5	5
	moderate	0	0	0	0	0	0	2	2

2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control) Q4W		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
Number of Animals	Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Phase									
Clinical Chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[b]									
No. Examined		4	5	5	5	4	4	5	5
Liver	Discoloration, pale	1	2	0	1	0	0	3	3
Histopathology[c]									
No. Examined		4	5	5	5	4	4	5	5
Kidney									
Granules; basophilic, tubular		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(1)
	minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Vacuolation; tubular		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(0)
	minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Liver									
Vacuolation; hepatocellular; zonal		(0)	(0)	(2)	(1)	(0)	(1)	(3)	(5)
	minimal	0	0	0	0	0	1	2	2
	mild	0	0	2	1	0	0	1	2
	moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Foci of cellular alteration; basophilic		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(3)
	minimal	0	0	0	0	0	1	0	2
	mild	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7C ラットを用いた 29 週間反復投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control) Q4W		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W	
Number of Animals	Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Phase (cont.)									
Histopathology (cont.)[c]									
No. Examined		4	5	5	5	4	4	5	5
Site, injection									
Infiltration; mononuclear; perivascular		(0)	(2)	(1)	(3)	(0)	(1)	(3)	(3)
	minimal	0	2	1	2	0	1	1	3
	mild	0	0	0	1	0	0	2	0

-: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; F: female; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NC: not calculated due to samples below lower limit of quantification (LLOQ: 10.0 ng/mL); Q4W: once every four weeks; TK: toxicokinetics; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunnett / Dunn test)

a: Six animals assigned to the main study or recovery cohorts and 4 animals assigned to the toxicokinetics (TK) cohort were found dead or preterminally euthanized during the course of the study. There were two preterminal control group animals. One male was found dead and the cause of death was not determined. One female was euthanized and the cause of death was considered to be a granulomatous inflammatory reaction with necrosis and bacterial colonies involving skeletal muscle in the cervical region which correlated macroscopically with a mass. One TK male in the 10 mg/kg dose group was found dead and a cause of death was not determined. Three main study males, two TK males and one recovery female in the 50 mg/kg dose group were found dead. The cause of death was not determined in two of the main study animals and in the third the cause of death was secondary to a complication associated with a renal adenoma that was not considered inclisiran related. The cause of death for the two TK animals was considered likely related to the blood sampling procedure. The female in the recovery group had malignant lymphoma, moderate hemorrhage involving the brain, mild increased hematopoiesis (spleen), and stress related changes in the adrenal gland and thymus that were not considered inclisiran related. One male in the 250 mg/kg TK dose group was found dead and the cause of death was not determined. For the animals where the cause of death was not determined there was no clear pattern in the deaths and the number of deaths were consistent with the attrition rate routinely observed in 29 week studies; therefore these deaths were considered related to the administration of inclisiran.

b: Incidence is presented.

c: Incidence is presented. Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.

2.6.7.7D　カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Report Title: ALN-PCSSC: A 4-week repeat dose toxicity and toxicokinetics study in cynomolgus monkeys with an 8-week recovery phase

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Monkeys, cynomolgus

Duration of Dosing: 4 weeks

Study No. [8302575]

Initial Age: 36 to 48 months

Duration of Recovery: 8 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-7

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Subcutaneous injection

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.25 mL/kg via subcutaneous injection on Days 1, 15, and 29 (Groups 1 through 4) or on Days 1, 8, 15, 22, and 29 (Group 5) of the dosing phase.

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q2W or 30 mg/kg QW

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**30 QW**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Toxicokinetics											
Plasma											
Day 1	AUC0-24h (µg.h/mL)	NC	NC	11.0	10.6	113	95.9	770	617	57.3	47.2
	Cmax (µg/mL)	NC	NC	1.92	1.65	14.4	13.4	54.8	39.6	9.02	7.52
Day 29	AUC0-24h (µg.h/mL)	NC	NC	14.1	12.7	135	124	808	803	71.2	61.1
	Cmax (µg/mL)	NC	NC	1.70	1.59	14.0	11.8	53.7	46.2	9.94	6.79
Tissue concentration (ng/g)											
Day 30	Liver	BLQ	BLQ	791	954	83587	148700	339808	278120	70997	46414
	Kidney	BLQ	BLQ	565	1278	24698	26481	189586	207646	14928	11579
	Heart	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	1212	563	BLQ	BLQ

2.6.7.7D カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**30 QW**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy Findings											
Died or Euthanized Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neurological Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation Assessments		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry											
Day 1	T-Cho (mg/dL)	180	132	132	126	139	140	131	129	145	133
	LDL-C (mg/dL)	89	62	65	61	63	72	61	59	77	76
Day 15	T-Cho (mg/dL)	170	137	113*	99*	106*	101*	98*	99*	107*	91*
	LDL-C (mg/dL)	72	52	31*	26*	21*	23*	21*	18*	28*	21*
Day 30	T-Cho (mg/dL)	163	130	117*	91*	111*	103*	108*	104*	109*	90*
	LDL-C (mg/dL)	61	42	23*	15*	17*	17*	16*	14*	21*	15*
	ALP (U/L)	355	303	403	383	448	385	676*	646*	519	383
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**30 QW**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Histopathology[a]											
No. Examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Lymph node, mesenteric											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	2	0	2	3	2	1	2	3
	slight	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0
Lymph node, mandibular											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0
Lymph node, axillary											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	1	3	2	2	3	3	2	3
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, inguinal											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0
Recovery Phase											
Number of Animals		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Recovery Day 57	T-Cho (mg/dL)	194	159	146	95	100	105	125	115	126	119
	LDL-C (mg/dL)	84	56	36	21	21	24	28	25	32	40
Organ Weights		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**		**10 Q2W**		**50 Q2W**		**250 Q2W**		**30 QW**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Recovery Phase (cont.)											
Histopathology[a]											
No. Examined		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Lymph node, mesenteric											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	1	1	2	2	1	2
	slight	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
Lymph node, mandibular											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node, axillary											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
Lymph node, inguinal											
Vacuolation, macrophage, sinusoids											
	minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

-: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 80 ng/g (liver), 160 ng/g (kidney), 200 ng/g (heart)]; F: female; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; QW: once weekly; Q2W: once every two weeks; T-Cho: total cholesterol; *: $p \leq 0.05$ (Dunnett test)

a: Incidence is presented.

2.6.7.7E　カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験

Report Title: ALN-PCSSC: A 15-week repeat dose cycle toxicity and toxicokinetics study with ALN-PCSSC in cynomolgus monkeys with an 8-week recovery period

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Monkeys, cynomolgus

Duration of Dosing: 15 weeks

Study No. [8297016]

Initial Age: 25 to 45 months

Duration of Recovery: 8 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-8

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Subcutaneous injection

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.25 mL/kg via subcutaneous injection on Days 1, 29, 57, and 85 (Groups 1 through 4) or on Days 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, and 99 (Group 5) of the dosing phase. Blood samples were collected for ADA analysis, toxicokinetics evaluation and pharmacodynamic (PCSK9) analysis. Liver, kidney and heart samples were collected for tissue bioanalysis.

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q4W or 125 mg/kg Q2W

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (Control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**125 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Toxicokinetics											
Plasma											
Day 1	AUClast (µg.h/mL)	NC	NC	10.1	9.69	97.6	95.3	665	683	304	280
	AUC0-8h (µg.h/mL)	NC	NC	9.16	8.70	68.2	58.7	323	264	183	158
	Cmax (µg/mL)	NC	NC	1.94	1.73	11.2	9.38	46.8	37.3	28.7	24.8
Day 85 / 99	AUClast (µg.h/mL)	NC	NC	8.55	5.95	94.7	80.0	585	571	306	249
	AUC0-8h (µg.h/mL)	NC	NC	6.80	5.18	45.3	43.2	243	232	126	91.7
	Cmax (µg/mL)	NC	NC	1.69	0.857	7.19	6.91	41.9	39.3	19.1	14.9

2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (Control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**125 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Toxicokinetics (cont.)											
Tissue concentration (ng/g)											
Liver	Day 113 (DP)	BLQ	2.58	173	124	1047	1279	1208	1438	2501	3289
	Day 57 (RP)	BLQ	BLQ	108	41.3	155	161	748	946	1149	1226
Kidney	Day 113 (DP)	BLQ	2.75	2.56	3.00	6.68	8.61	31.8	36.8	29.0	33.0
	Day 57 (RP)	BLQ	BLQ	1.35	1.76	2.79	2.83	5.52	8.84	34.0	42.6
Heart	Day 113 (DP)	BLQ	BLQ	1.21	0.856	4.65	4.78	8.96	17.0	23.1	23.4
	Day 57 (RP)	BLQ	BLQ	BLQ	0.283	0.872	0.617	4.88	7.62	7.45	10.3
ADA analysis (No. of positive animals)		0	0	1	0	0	0	2	1	0	1
PCSK9 concentration (ng/mL)											
Baseline	Day 1	124.970	119.780	62.130	145.096	113.460	136.356	91.152	138.016	104.900	131.414
Dosing Phase	Day 3	79.688	101.006	37.554	93.722	48.398	80.446	40.708	88.246	86.855	81.370
	Day 8	14.586	119.798	33.486*	90.960	41.413	46.946*	30.288**	42.944**	78.960	45.074*
	Day 15	138.052	127.474	23.646	50.378	20.893*	20.628**	18.434**	27.950*	47.360	23.232**
	Day 22	136.944	127.244	21.966*	45.904	18.470**	26.704*	17.472**	25.388*	37.375	15.464**
	Day 29	102.154	113.858	17.628*	41.020	15.425*	24.530*	14.324**	21.520*	27.378	13.412***
	Day 57	151.076	175.794	15.290**	41.104	19.723	26.386*	18.116*	27.054*	36.230	13.462***
	Day 85	118.952	94.528	11.960**	19.136***	12.793*	12.424***	14.138*	15.586***	15.853	5.716***
	Day 99	128.466	174.994	11.364**	27.466	14.830*	14.746*	16.114*	16.014*	23.515	6.600***
	Day 113	103.300	107.908	11.122**	19.448	13.568*	12.088*	14.518*	17.264	21.223	5.902***
Recovery Phase	Day 28	211.485	103.345	13.895	29.170	14.080	20.040	11.855	19.450	24.810	11.020
	Day 57	145.675	55.605	13.405	22.020	13.700	18.290	12.990	19.320	21.220	9.070

2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (Control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**125 Q2W**	
Number of Animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neurobehavioral Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dermal Irritation Scoring		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry											
Day 8	LDL-C (mg/dL)	47	54	30	31*	22*	28*	24*	34*	32	23*
	T-Cho (mg/dL)	102	129	93	101*	87	105	92	106	97	93*
Day 15	LDL-C (mg/dL)	46	52	21*	22*	18*	25*	20*	30*	30	19*
	T-Cho (mg/dL)	105	127	84	90*	84	102*	86	104	95	89*
Day 22	LDL-C (mg/dL)	42	55	17*	19*	14*	21*	15*	25*	21*	14*
	T-Cho (mg/dL)	103	132	80	91*	78	99*	81	104	89	83*
Day 29	LDL-C (mg/dL)	45	56	21*	20*	21*	26*	19*	28	29	16*
	T-Cho (mg/dL)	111	131	86	91*	92	104*	89	106	98	91*
Day 57	LDL-C (mg/dL)	38	50	15*	16*	15*	18*	14*	24*	21	14*
	T-Cho (mg/dL)	105	134	83	89*	82	100*	84	102*	96	87*

2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (Control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**125 Q2W**	
Number of Animals	Main		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery		M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Clinical Chemistry (cont.)												
Day 85	LDL-C (mg/dL)		42	57	20*	19*	19*	23*	20*	30*	20	16*
	T-Cho (mg/dL)		108	140	90	92*	90	107*	97	109*	99	94*
Day 99	LDL-C (mg/dL)		47	54	17*	19*	17*	22*	19*	28*	24*	14*
	T-Cho (mg/dL)		108	124	87	89*	88	99	91	105	91	88*
Day 113	LDL-C (mg/dL)		40	50	22*	18*	19*	21*	20*	26	24*	15*
	T-Cho (mg/dL)		112	132	99	93*	102	105	99	107	96	95*
Urinalysis			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology[a]												
No. Examined			3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Liver												
Granules, basophilic		not present	3	3	3	3	3	2	1	1	2	2
		minimal	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1
		slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, mandibular												
Infiltrate, neutrophils		not present	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3
		minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Vacuolation, macrophage		not present	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0
		minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3

2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (Control)**		**10 Q4W**		**50 Q4W**		**250 Q4W**		**125 Q2W**	
Number of Animals	Main		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery		M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Histopathology (cont.)[a]												
No. Examined			3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Lymph node, mesenteric												
Vacuolation, macrophage		not present	3	3	2	3	0	0	0	0	1	0
		minimal	0	0	1	0	3	3	2	3	2	1
		slight	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
Lymph node, axillary												
Vacuolation, macrophage		not present	3	3	3	2	3	1	2	0	1	0
		minimal	0	0	0	1	0	2	1	3	2	3
Lymph node, inguinal												
Vacuolation, macrophage		not present	3	3	3	3	2	2	2	1	0	0
		minimal	0	0	0	0	1	1	1	1	3	3
		slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Recovery Phase												
Clinical Chemistry												
Day 28	LDL-C (mg/dL)		54	60	14	24	14	28	20	29	30	14
	T-Cho (mg/dL)		128	144	90	81	83	123	104	118	85	106
Day 57	LDL-C (mg/dL)		56	58	22	26	17	31	21	28	30	15
	T-Cho (mg/dL)		136	146	110	92	93	122	105	119	94	102

2.6.7.7E カニクイザルを用いた 15 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			1		2		3		4		5	
Dose (mg/kg)			0 Q4W (Control)		10 Q4W		50 Q4W		250 Q4W		125 Q2W	
Number of Animals	Main		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery		M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Recovery Phase (cont.)												
Histopathology[a]												
No. Examined			2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Liver												
Granules, basophilic		not present	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
		minimal	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Lymph node, mandibular												
Vacuolation, macrophage		not present	2	2	2	2	2	2	2	1	0	2
		minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
Lymph node, mesenteric												
Vacuolation, macrophage		not present	2	2	2	2	1	0	0	0	0	0
		minimal	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2
Lymph node, axillary												
Vacuolation, macrophage		not present	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0
		minimal	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2
Lymph node, inguinal												
Vacuolation, macrophage		not present	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
		minimal	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2

-: no noteworthy findings; ADA: anti-drug antibody; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 80 ng/g (liver), 160 ng/g (kidney), 200 ng/g (heart)]; DP: dosing phase; F: female; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; PCSK9: proprotein convertase subtilisin / kexin type 9; Q2W: once every two weeks; Q4W: once every four weeks; RP: recovery phase; T-Cho: total cholesterol; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunn / Dunnett test)

a: Incidence is presented.

2.6.7.7F　カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験

Report Title: PCSSC: A 40-week repeat subcutaneous injection toxicity and toxicokinetic study in the cynomolgus monkey followed by a 13-week recovery period

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Monkeys, cynomolgus

Duration of Dosing: 40 weeks

Study No. [5001352]

Initial Age: 2.5 to 3.5 years

Duration of Postdose: 13 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-9

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Subcutaneous injection

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: All animals were administered a constant dose volume of 1.5 mL/kg via subcutaneous injection on Days 1, 29, 57, 85, 113, 141, 169, 197, 225, 253, and 281 of the dosing phase. Neurological examination, electrocardiography, lipid chemistry sample analysis, biomarkers (cortisol, troponin I, DHEA, DHT) measurement, pharmacodynamics (PCSK9) analysis, anti-drug antibody analysis, and TDAR analysis were conducted.

No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg Q4W

Group			**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals		Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
		Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics										
Plasma[a]	Day 1	Cmax (ng/mL)	NC	NC	7580	10200	18600	33500	57100	82400
		AUC0-48h (ng.h/mL)	NC	NC	48100	56700	254000	305000	852000	1010000
	Day 141	Cmax (ng/mL)	NC	NC	6470	8020	15900	21300	34100	68200
		AUC0-48h (ng.h/mL)	NC	NC	47900	54300	226000	241000	598000	972000
	Day 281	Cmax (ng/mL)	NC	NC	7530	8490	17300	22800	45300	63800
		AUC0-48h (ng.h/mL)	NC	NC	73700	91300	275000	291000	792000	990000

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics (cont.)									
Tissue Concentration (ng/g)									
Liver	Day 283 (DP)	BLQ	BLQ	661000	490000	1640000	1560000	2570000	2070000
	Day 374 (RP)	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA	1230000	691000
Kidney	Day 283 (DP)	BLQ	BLQ	17300	17100	50500	75400	121000	134000
	Day 374 (RP)	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA	2720	3170
Heart	Day 283 (DP)	BLQ	BLQ	4110	7530	13200	17100	19700	21500
	Day 374 (RP)	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA	5360	8810
PCSK9 concentration (ng/mL)									
Pretreatment		226.975	237.150	203.565	119.708	217.040	147.418	185.717	214.958
Dosing Phase	Day 1	252.880	209.018	205.758	118.423	167.463	132.008	261.418	142.707
	Day 29	109.442	113.945	17.733	16.283*	14.345**	11.603**	16.137**	19.237*
	Day 85	90.715	117.648	14.603*	13.303	11.835**	8.923**	15.022*	11.947*
	Day 141	192.663	300.653	24.528**	23.823	28.495*	18.565*	32.633*	22.422*
	Day 197	182.880	272.523	21.170*	18.692	23.630*	11.683**	20.345**	18.668*
	Day 253	220.490	275.807	25.710*	19.620	24.783*	13.705*	23.937**	15.298**
	Day 281	190.507	238.853	19.090**	13.410*	22.665*	14.335**	24.447*	15.835*
Recovery Phase	Day 309	121.780	123.085	NA	NA	NA	NA	20.000	14.070
	Day 316	198.465	156.830	NA	NA	NA	NA	23.460	13.805
	Day 330	231.305	171.610	NA	NA	NA	NA	24.530	24.065
	Day 337	289.520	159.555	NA	NA	NA	NA	27.975	22.775
	Day 373	191.950	161.110	NA	NA	NA	NA	21.700	31.440

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group			**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)			**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main		M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery		M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
ADA analysis (No. of positive animals)										
Pretreatment			0	0	0	0	0	0	0	2
Dosing Phase	Day 141		0	0	0	0	0	0	0	1
	Day 270		0	0	0	0	0	1	0	1
Recovery Phase	Day 281		0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund			0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations			-	-	-	-	-	-	-	-
Dermal Irritation Scoring[b]										
Edema	Day 1	very slight	0	0	0	0	0	1	0	6
	Day 141	very slight	0	0	0	0	0	0	0	0
	Day 281	very slight	0	0	0	0	0	0	0	0
Erythema	Day 1	very slight	1	0	0	1	0	0	0	4
	Day 141	very slight	3	0	1	0	0	1	0	4
	Day 281	very slight	1	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight			-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption			-	-	-	-	-	-	-	-
Neurological Evaluation			-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations			-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology			-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography			-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology			-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation			-	-	-	-	-	-	-[c]	-

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Clinical Chemistry[d]									
Day 142	ALP (U/L)	579	-	938	-	1136*	-	1160*	-
	ALT (U/L)	-	55	-	55	-	75	-	104
	T-Cho (mg/dL)	105	122	82	94	84	91*	81*	73***
	LDL-C (mg/dL)	40	63	19***	21	13***	25	14***	11***
Day 282	ALP (U/L)	546	-	765	-	993*	-	1068*	-
	ALT (U/L)	-	51	-	44	-	92	-	77
	T-Cho (mg/dL)	108	126	85*	109	79*	102	82*	92**
	LDL-C (mg/dL)	44	61	19	32***	13*	29***	11***	18***
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-
Urine Chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-
Biomarkers[e]		-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight		-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology		-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology[f]									
No. Examined		4	4	4	4	4	4	4	4
Liver									
Basophilic granules, hepatocytes		(0)	(0)	(2)	(4)	(3)	(4)	(3)	(4)
	minimal	0	0	2	4	3	4	2	3
	slight	0	0	0	0	0	0	1	1
Lymph node, mandibular									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(3)	(4)	(4)
	minimal	0	0	0	0	0	3	0	0
	slight	0	0	0	0	2	0	4	4

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Histopathology (cont.)[f]									
No. Examined		4	4	4	4	4	4	4	4
Lymph node, deep cervical									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	(0)	(1)	(2)	(4)	(4)	(4)
	minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	slight	0	0	0	1	0	3	2	2
	moderate	0	0	0	0	1	0	2	2
Lymph node, axillary									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	(0)	(2)	(4)	(4)	(4)	(4)
	minimal	0	0	0	1	2	0	0	1
	slight	0	0	0	1	2	3	2	3
	moderate	0	0	0	0	0	1	2	0
Lymph node, mesenteric									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	(2)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	minimal	0	0	1	1	1	1	0	0
	slight	0	0	1	1	2	1	2	0
	moderate	0	0	0	2	1	2	2	4
Lymph node, tracheobronchial[g]		0	0	0	0	1	0	0	0
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
	moderate	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
TDAR analysis									
Anti-KLH IgM titers	Day 275	1/1000 to 1/5000	1/1000 to 1/2000	1/250 to 1/2000	1/250 to 1/3500	1/250 to 1/1000	1/250 to 1/2000	1/250 to 1/1000	< 1/250 to 1/1000
	Day 277	1/3500 to 1/7500	1/2000 to 1/5000	1/500 to 1/5000	1/1000 to 1/5000	1/2000 to 1/7500	1/2000 to 1/35000	1/2000 to 1/5000	< 1/250 to 1/7500
Anti-KLH IgG titers	Day 277	1/2000 to 1/10000	1/4000 to 1/8000	1/500 to 1/2000	1/2000 to 1/6000	1/2000	1/4000 to 1/10000	1/2000 to 1/4000	< 1/500 to 1/2000
	Day 283	1/25000 to 1/100000	1/25000 to 1/50000	1/25000 to 1/50000	1/25000 to 1/50000	1/10000 to 1/50000	1/50000	1/25000 to 1/50000	1/1000 to 1/25000
Recovery Phase									
Clinical Chemistry[h]									
Day 373	T-Cho (mg/dL)	120	138	NA	NA	NA	NA	86	94
	LDL-C (mg/dL)	57	64	NA	NA	NA	NA	21	24
Histopathology[f]									
No. Examined		2	2	0	0	0	0	2	2
Liver									
Basophilic granules, hepatocytes		(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	(2)	(2)
	minimal	0	0					2	2
Lymph node, mandibular									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	(1)	(2)
	minimal	0	0					1	1
	slight	0	0					0	1

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Recovery Phase (cont.)									
Histopathology (cont.)[f]									
No. Examined		2	2	0	0	0	0	2	2
Lymph node, deep cervical									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	(2)	(1)
	minimal	0	0					2	0
	slight	0	0					0	1
Lymph node, axillary									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	(2)	(2)
	minimal	0	0					2	1
	slight	0	0					0	1
Lymph node, mesenteric									
Vacuolation, macrophage		(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	(2)	(2)
	slight	0	0					2	2

2.6.7.7F カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (control)**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**	
Number of Animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Recovery Phase (cont.)									
TDAR analysis									
Anti-KLH IgM titers	Day 366	1/1000 to 1/2000	1/250 to 1/1000	NA	NA	NA	NA	1/1000	1/2000
	Day 368	1/5000 to 1/17500	1/3500 to 1/5000	NA	NA	NA	NA	1/7500 to 1/10000	1/7500 to 1/15000
Anti-KLH IgG titers	Day 368	1/4000 to 1/8000	1/2000	NA	NA	NA	NA	1/1000 to 1/8000	1/2000 to 1/10000
	Day 374	1/25000 to 1/50000	1/25000	NA	NA	NA	NA	1/10000 to 1/50000	1/25000 to 1/100000

-: no noteworthy findings; ADA: anti-drug antibodies; ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 200 ng/g (liver), 200 ng/g (kidney), 200 ng/g (heart)]; DHEA: dehydroepiandrosterone; DHT: dihydrotestosterone; DP: dosing phase; F: female; IgG: immunoglobin G; IgM: immunoglobin M; KLH: keyhole limpet hemocyanin; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NA: not applicable: NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; PCSK9: proprotein convertase subtilisin / kexin type 9; RP: recovery phase; Q4W: once every four weeks; T-Cho: total cholesterol; TDAR: T-cell dependent antibody responses; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunn / Dunnett test)

a: All samples collected on Day 373 were BLQ.

b: Incidence is presented.

c: Mild increase (+106% pretreatment value) in fibrinogen in a single male given 300 mg/kg/dose at Day 282. At the end of the recovery study, the coagulation parameters in animals given inclisiran were comparable to control values. This difference was not considered adverse due to the low magnitude of change.

d: Lipid chemistry (including triglycerides, T-Cho, LDL-C and HDL-C) was performed on Days 1, 29, 85, 141, 142, 197, 253, 281, and 282, and the same trends were seen at all intervals. Selected intervals are presented.

e: Refers to cortisol, troponin I, DHEA, and DHT.

f: Incidence is presented. Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.

g: Examination was performed due to the presence of gross lesion. Bold number indicate numbers of tracheobronchial lymph node observed.

h: Lipid chemistry (including triglycerides, T-Cho, LDL-C and HDL-C) was performed on Days 309, 316, 330, 337, and 373 and the same trends were seen at all intervals. Values for the end of recovery occasion are presented.

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: ALN-PCSSC: Bacterial reverse mutation assay
Test Article: Inclisiran
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Number of Independent Assays: 1
Study No. [8297011]
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*
Number of Replicate Cultures: 3
Location in CTD: 4.2.3.3.1-1
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9
No. of Cells Analyzed / Cultured: ca. 10^8
GLP Compliance: Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: 0.9% sodium chloride for injection; **Positive Controls:** Deionized (DI) Water (sodium azide only); Dimethylsulfoxide (DMSO, all other positive controls)
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
−S9	Inclisiran	0 (vehicle)	15 ± 4 [N]	133 ± 8 [N]	11 ± 2 [N]	4 ± 3 [N]	13 ± 4 [N]
		1.60	16 ± 6 [N]	116 ± 11 [N]	13 ± 1 [N]	6 ± 4 [N M B]	11 ± 3 [N]
		5.00	12 ± 5 [N]	121 ± 17 [N]	13 ± 4 [N]	8 ± 0 [N]	7 ± 4 [N]
		16.0	18 ± 2 [N]	122 ± 9 [N]	14 ± 1 [N]	6 ± 3 [N M]	9 ± 1 [N]
		50.0	14 ± 4 [N]	118 ± 5 [N]	12 ± 1 [N]	5 ± 3 [N]	13 ± 1 [N]
		160	18 ± 8 [N]	118 ± 7 [N]	12 ± 6 [N]	4 ± 1 [N]	10 ± 2 [N]
		500	13 ± 8 [N]	138 ± 25 [N]	10 ± 4 [N]	5 ± 4 [N]	15 ± 3 [N]
		1600	13 ± 2 [N]	134 ± 15 [N]	10 ± 3 [N]	5 ± 3 [N]	7 ± 3 [N]
		5000	19 ± 7 [N]	123 ± 7 [N]	16 ± 2 [N]	5 ± 3 [N]	11 ± 4 [N]
	2-nitrofluorene	1.0	241 ± 74 [N]	NA	NA	NA	NA
	sodium azide	2.0	NA	799 ± 62 [N]	664 ± 90 [N]	NA	NA
	ICR-191	2.0	NA	NA	NA	254 ± 47 [N]	NA
	4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	NA	NA	NA	NA	160 ± 13 [N]

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
+S9	Inclisiran	0 (vehicle)	14 ± 3 N	136 ± 9 N	13 ± 4 N	9 ± 5 N	17 ± 6 N
		1.60	24 ± 4 N	125 ± 10 N	13 ± 5 N	7 ± 2 N	13 ± 8 N
		5.00	14 ± 0 N	142 ± 2 N	15 ± 2 N	8 ± 2 N	11 ± 2 N
		16.0	23 ± 6 N	137 ± 26 N	15 ± 4 N	8 ± 1 N	15 ± 2 N
		50.0	17 ± 6 N	141 ± 8 N	14 ± 6 N	5 ± 1 N	18 ± 7 N
		160	18 ± 1 N	138 ± 13 N	13 ± 3 N	5 ± 1 N	13 ± 2 N
		500	20 ± 10 N	136 ± 21 N	11 ± 6 N	12 ± 2 N	16 ± 2 N
		1600	25 ± 4 N	129 ± 9 N	9 ± 5 N	10 ± 3 N	11 ± 6 N
		5000	23 ± 4 N	139 ± 14 N	12 ± 5 N	4 ± 1 N	12 ± 0 N
	benzo[a]pyrene	2.5	510 ± 83 N	NA	NA	NA	NA
	2-aminoanthracene	2.5	NA	1396 ± 67 N	147 ± 7 N	122 ± 17 N	NA
	2-aminoanthracene	25.0	NA	NA	NA	NA	210 ± 52 N

M: plate counted manually; N: normal background bacterial lawn; NA: not applicable; SD: standard deviation

2.6.7.8B　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

Report Title: ALN-PCSSC: Chromosomal aberrations in cultured human peripheral blood lymphocytes
Test for Induction of: Chromosome aberrations
Strains: Primary human lymphocytes
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed / Culture: 100
Test Article: Inclisiran
Study No. [8297023]
Location in CTD: 4.2.3.3.1-2
GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Vehicles: Test article: 0.9% sodium chloride for injection, USP (sterile saline); **Positive controls:** deionized (DI) water
Treatment: Continuous 24 hour without S9; pulse treatment 3 hour and recovery time 21 hour with and without S9.
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

24-hour treatment without metabolic activation

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells		Polyploidy Mean%	Endoreduplication Mean%
					Mean% (−gap)	Mean% (+gap)		
−S9	Inclisiran	0 (vehicle)	200	100	0.5	2.0	0.0	0.0
		245	200	100	1.0	1.0	0.0	0.0
		350	200	97	0.5	1.0	0.0	0.0
		500	200	100	0.5	2.0	0.0	0.0
	Mitomycin C	0.300	100	48	63.0[#]	65.0	0.0	0.0

2.6.7.8B ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

3-hour treatment without metabolic activation

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells		Polyploidy Mean%	Endoreduplication Mean%
					Mean% (−gap)	Mean% (+gap)		
−S9	Inclisiran	0 (vehicle)	200	100	0.0	0.0	0.0	0.0
		245	200	91	0.0	1.0	0.0	0.0
		350	200	91	0.0	0.5	0.0	0.0
		500	200	97	0.5	0.5	0.0	0.0
	Mitomycin C	1.00	100	32	60.0#	62.0	0.0	0.0

3-hour treatment with metabolic activation

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells		Polyploidy Mean%	Endoreduplication Mean%
					Mean% (−gap)	Mean% (+gap)		
+S9	Inclisiran	0 (vehicle)	200	100	0.5	1.5	0.0	0.0
		245	200	100	0.0	0.0	0.0	0.0
		350	200	100	0.0	1.0	0.0	0.0
		500	200	100	0.5	0.5	0.0	0.0
	Cyclophosphamide	25.0	100	31	64.0#	69.0	0.0	0.0

−gap: % of aberrant cells excluding those with gaps only; +gap: % of aberrant cells plus % of cells with gaps only; # Significantly greater in −gap than the vehicle control, $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test)

a: Mitotic index reduction = [One minus the quotient (mean test article mitotic index / mean vehicle control mitotic index)] × 100

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A ラットを用いた小核試験

Report Title: ALN-PCSSC: *In vivo* rat bone marrow micronucleus assay
Test Article: Inclisiran
Test for Induction of: Bone marrow micronuclei
Treatment Schedule: single dose, one day
Study No. [8297010]
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)
Sampling Time: 24 and 48 hours after dosing
Location in CTD: 4.2.3.3.2-1
Age: 8 to 10 weeks
Method of Administration: Test Article: Subcutaneous injection; Positive Control: oral, gavage
GLP Compliance: Yes
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes
Number of Cells Analyzed / Animal: 2000
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Vehicle / Formulation: Test Article: 0.9% sodium chloride for injection, USP (sterile saline) / solution; **Positive Control:** Deionized (DI) water / solution
Toxic / Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Micronucleus assay

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of animals	Harvest Time (h)	Mean Ratio PCE:NCE (± SD)		Mean % MNPCE (± SD)	
				Male	Female	Male	Female
Inclisiran	0 (vehicle)	M: 5, F: 5	24	0.82 ± 0.06	0.88 ± 0.10	0.04 ± 0.02	0.09 ± 0.07
		M: 5, F: 5	48	0.87 ± 0.09	0.91 ± 0.06	0.05 ± 0.04	0.08 ± 0.04
	500	M: 5, F: 0	24	0.92 ± 0.14	NA	0.05 ± 0.05	NA
		M: 5, F: 0	48	0.93 ± 0.05	NA	0.03 ± 0.03	NA
	1000	M: 5, F: 0	24	0.95 ± 0.07	NA	0.05 ± 0.00	NA
		M: 5, F: 0	48	0.95 ± 0.08	NA	0.03 ± 0.03	NA
	2000	M: 5, F: 5	24	0.95 ± 0.04	0.88 ± 0.07	0.06 ± 0.05	0.06 ± 0.04
		M: 5, F: 5	48	0.89 ± 0.14	0.92 ± 0.10	0.02 ± 0.03	0.02 ± 0.03*
Cyclophosphamide[a]	60	M: 5, F: 0	24	0.72 ± 0.10	NA	1.59 ± 0.68**	NA

2.6.7.9A ラットを用いた小核試験（続き）

Dose (mg/kg)		**500**	**1000**	**2000**	
Number of TK Animals		M: 9	M: 9	M: 9	F: 9
Toxicokinetics					
Plasma	Cmax (µg/mL)	95.1	132	235	251
	AUC0-24h (µg.h/mL)	810	1630	3050	2900

F: female; M: male; MNPCE: micronucleated PCEs; NA: not applicable; NCE: normochromatic erythrocytes; PCE: polychromatic erythrocytes; SD: standard deviation; TK: toxicokinetics; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett's t-test)

a: Positive control was administered once approximately 24 hours prior to collection.

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A rasH2 野生型マウスを用いた用量設定試験

Test Article: Inclisiran

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
Mouse / rasH2 Wild type	SC, once every four weeks (0.9% sodium chloride for injection, USP / solution)	58 Days	0, 375, 750, 1500 Q4W	M: 12, F: 12	1500	Hematology changes were limited to minimal non-dose dependent increases in neutrophils and monocytes in males given ≥ 375 mg/kg and monocytes in females given ≥ 375 mg/kg. Non-dose dependent decreases in cholesterol (range: 11.5% to 22.7%), HDL-C (range: 12.5% to 27.1%), and LDL-C (range: 43.3% to 61.3%) compared to controls. Increases in triglyceride concentrations (range: 28.7% to 117.1%) in males and females in all dose groups. Minimal, statistically significant, increases in ALP in males in the 750 mg/kg (+15.8%) and 1500 mg/kg (+24.3%) dose groups and females in the 1500 mg/kg (+21.6%) dose group compared to controls. Females in the 750 mg/kg and 1500 mg/kg dose groups exhibited minimal, statistically significant, increases in ALT of 19.9% and 20.4%, respectively. Mononuclear inflammatory cells were detected in the injection sites at ≥ 750 mg/kg in males and at ≥ 375 mg/kg in females.	[8002111]

Test Article: Inclisiran

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

(cont.)

Toxicokinetics parameters in plasma

Parameter	Day	Dose (mg/kg)					
		375 Q4W		750 Q4W		1500 Q4W	
		M	F	M	F	M	F
Cmax (µg/mL)	1	90.8	74.9	133	138	222	174
	57	116	214	174	399	377	847
AUClast (µg.h/mL)	1	333	249	743	488	1300	866
	57	350	388	960	810	2210	1880

ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; F: female; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; M: male; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; Q4W: once every four weeks; SC: subcutaneous

2.6.7.10B　トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験

Report Title: A 26-week subcutaneous injection carcinogenicity study of inclisiran in Tg rasH2 mice

Test Article: Incisiran

Species / Strain: Hemizygous rasH2 [CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous]

Duration of Dosing:
Group 1 to 4: 25 weeks (Q4W, total of 7 doses)
Group 5: Single dose on Day 1

Study No. [8002112]

Initial Age: 8 weeks

Method of Administration:
Group 1 to 4: Subcutaneous injection
Group 5: Intraperitoneal injection

Location in CTD: 4.2.3.4.2-2

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

GLP Compliance: Yes

Treatment of Controls: Vehicle at the same dose volume as the inclisiran treatment groups

Positive Control: N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) in citrate buffer saline, pH4.5 (59 mM sodium citrate tribasic dihydrate, 41 mM citric acid, 154 mM sodium chloride

Basis for High Dose Selection: The dose levels were selected based on Guidance for Industry document S1C(R2) “Dose Selection for Carcinogenicity Studies” and recommendations from the Executive CAC received by the Sponsor in a Facsimile dated March 7, 2018. In a dose range finding study (Study No. 8002111) conducted in wild type Tg rasH2 mice, inclisiran was well tolerated with no significant toxicities observed up to 1500 mg/kg/occasion, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) and the highest dose administered. Therefore, the dose levels 1500, 600 and 300 mg/kg/occasion were selected for this study.

Special Features: NA

Non-Carcinogenic Level: 1500 mg/kg Q4W

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**300 Q4W**		**600 Q4W**		**1500 Q4W**		**75 (MNU)**	
Number of Animals / Sex / Group	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	1	1	1	1	0	0	2	19	24
Survival Rate (%)	100	96	96	96	96	100	100	92	24	4

2.6.7.10B トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**300**		**600**		**1500**		**75 (MNU)**	
Number of Animals / Sex / Group		M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
Body Weight (%)[a]	Day 182	40.16 g	27.07 g	−8*	+2	−8**	+2	−13**	−1	−26**	−7[b]
Body Weight Gains (%)[a]	Day −1 to 182	15.15 g	7.80 g	−19*	+6	−20*	+6	−32**	+1	−68**	−37[b]
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Mice with Palpable Masses		0	0	0	2	0	0	0	0	2	5
Hematology (Day 183)											
lymphocyte (10^3/µL)		2.332	3.191	3.613	3.161	4.460	3.915	4.045	3.883	4.262	2.930[b]
neutrophil (10^3/µL)		0.461	0.524	0.656	0.527	0.716	0.549	0.720	0.612	3.622**	0.940[b]
reticulocyte (10^9/L)		253.42	358.92	270.01	316.09	267.55	311.91	262.94	332.57	532.87**	297.20[b]
platelet (10^3/µL)		1013.0	994.3	1113.3	932.6	1078.6	959.3	1042.8	981.4	1098.7	524.0[b]
Gross Pathology[c]											
Liver											
Discoloration; pale		0	1	1	3	0	4	0	3	5	7
Enlargement		0	0	0	1	0	0	0	0	3	7
Lymph node[d]											
Enlargement		0	0	0	1	1	0	0	1	15	17
Kidney											
Discoloration; pale		0	0	0	0	0	0	0	0	3	8
Enlargement		0	0	0	0	0	0	0	0	6	5
Skin											
Mass		1	0	0	2	0	0	0	0	6	7
Nodule		0	0	0	0	0	0	0	0	5	2
Spleen											
Enlargement		0	1	0	1	0	2	0	3	18	17
Discoloration; pale		0	0	0	0	0	0	0	0	5	6

2.6.7.10B トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験（続き）

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**300**		**600**		**1500**		**75 (MNU)**	
Number of Animals / Sex / Group	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
Gross Pathology (cont.)[c]										
Stomach										
Focus; raised	0	0	0	0	0	0	0	0	10	16
Nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	9	8
Mass	1	1	0	0	0	1	0	0	4	1
Thymus										
Mass	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Histopathology - non-neoplastic findings[c]										
Eye										
Degeneration / atrophy, retina	0	0	0	0	0	0	0	0	18	15
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	18	12
Stomach										
Hyperplasia; squamous	10	2	1	2	1	2	3	0	16	18
minimal	10	1	1	2	1	2	2	0	4	6
mild	0	1	0	0	0	0	1	0	7	7
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10B トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験（続き）

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**300**		**600**		**1500**		**75 (MNU)**	
Number of Animals / Sex / Group	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
Histopathology - neoplastic findings[c]										
Lung										
Bronchioloalveolar adenoma	3	0	1	1	1	2	2	1	2	0
Bronchioloalveolar carcinoma	0	0	1	2	0	1	0	0	0	1
Adenoma + carcinoma	3	0	2	3	1	3	2	1	2	1
Hemolymphoreticular tissue										
Lymphoma, malignant	0	1	0	0	0	0	0	0	19	24
Skin										
Squamous cell papilloma	1	0	0	0	0	0	0	0	11	7
Stomach										
Squamous cell papilloma	0	0	0	0	0	0	0	0	19	20
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Spleen										
Hemangiosarcoma	0	3	3	0	1	3	2	2	1	0

-: no noteworthy findings; F: female; M: male; MNU: N-Methyl-N-Nitrosourea; NA: not applicable; Q4W: once every four weeks; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett / Dunn test)

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

b: Group excluded from statistical analysis ($N < 3$).

c: Incidence is presented.

d: Macroscopic finding present in one or multiple lymph nodes.

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験

Report Title: ALN-PCSSC: A 2-year subcutaneous injection carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats

Test Article: Inclisiran

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Duration of Dosing: Males: 94 to 99 weeks
Females: 86 to 90 weeks

Study No. [1016-1021]

Initial Age: 6 weeks

Method of Administration: Subcutaneous injection

Location in CTD: 4.2.3.4.1-1

Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

GLP Compliance: Yes

Treatment of Controls: Vehicle at the same dose volume as the inclisiran treatment groups

Basis for High Dose Selection: The dose levels were selected based on Guidance for Industry document S1C(R2) "Dose Selection for Carcinogenicity Studies" and recommendations from the Executive CAC received by the Sponsor in a Facsimile dated April 13, 2016. The high dose (250 mg/kg Q4W) level selected was the same high dose as in a previous 15-week toxicology study conducted in Sprague-Dawley rats (Study 8297015). High dose selection was based on decreased body weight gain in female rats and on the AUC in male rats exceeding 25-fold the human AUC. The low and mid dose (40 and 95 mg/kg Q4W) were selected to ensure adequate dose spacing, based on AUC values previously obtained.

Special Feature: There were no ophthalmological examinations performed in Week 104 due to early termination of all study groups by Week 99. Therefore, ocular effects of prolonged administration of inclisiran were not determined in the context of this study.

Non-Carcinogenic Level: 250 mg/kg Q4W

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals		M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Toxicokinetics											
Number of Animals		M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12
Day 1	Cmax (ng/mL)	NC	NC	NC	NC	9039	6447	24833	22082	59439	51414
	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	NC	NC	24288	17616	81906	65191	368825	225120
Day 85	Cmax (ng/mL)	NC	NC	NC	NC	7689	7073	24277	21287	43960	50489
	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	NC	NC	35768	26291	111781	80361	476493	373945
Day 197	Cmax (ng/mL)	NC	NC	NC	NC	8079	4897	17352	21648	47894	42379
	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	NC	NC	64217	25056	182327	118554	546880	421177

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)		**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals		M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Noteworthy Findings											
Mortality											
Main study	Found dead	20	10	18	8	23	4	25	6	20	6
	Unscheduled death	22	26	23	28	17	36	16	34	20	34
TK	Found dead	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Unscheduled death	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Survival at Termination[a]											
Number of Animals		13	19	14	19	15	15	14	15	15	15
Percentage		24%	35%	25%	35%	27%	27%	25%	27%	27%	27%
Termination Week		99	90	99	90	95	90	99	86	94	88
Clinical Observations											
Number of Rats with Palpable Masses[b]											
Incidence		52/55	54/55	54/55	53/55	43/55	55/55	46/55	52/55	50/55	53/55
Percentage		95%	98%	98%	96%	78%	100%	84%	95%	91%	96%
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[c]											
Liver (No. Examined)		55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Pale area		18	18	17	19	16	28	16	33	21	31
Pale discoloration		4	6	6	5	9	10	15	10	17	24
Pale focus		0	1	1	0	1	2	3	3	4	6

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Histopathology - neoplastic findings[c, d]										
Mammary Gland (No. Examined)	54	55	54	55	54	55	52	55	53	55
Combined tumors	1	42	2	48	2	56	0	50	5	56
Adenocarcinoma, malignant	0	14 (25.5)	0	13 (23.6)	0	16 (29.1)	0	16 (29.1)	0	15 (27.3)
Adenoma, benign	0	2 (3.6)	0	2 (3.6)	0	3 (5.5)	0	3 (5.5)	0	3 (5.5)
Carcinosarcoma, malignant	0	0	0	0	0	1 (1.8)	0	0	0	0
Fibroadenoma, benign	1 (1.9)	22 (40.0)	2 (3.7)	27 (49.1)	2 (3.7)	29 (52.7)	0	29 (52.7)	5 (9.4)	35 (63.6)
Adenocarcinoma arising in fibroadenoma	0	4 (7.3)	0	6 (10.9)	0	6 (10.9)	0	2 (3.6)	0	3 (5.5)
Carcinoma, adenosquamous	0	0	0	0	0	1 (1.8)	0	0	0	0
Thyroid (No. Examined)	55	55	55	55	54	54	55	55	55	55
Combined tumors	7	5	9	4	6	2	6	3	9	8
Adenoma, C cell; benign	4 (7.3)	5 (9.1)	4 (7.3)	4 (7.3)	5 (9.3)	1 (1.9)	4 (7.3)	2 (3.6)	5 (9.1)	7 (12.7)
Carcinoma, C cell; malignant	3 (5.5)	0 (0.0)	5 (9.1)	0 (0.0)	1 (1.9)	1 (1.9)	2 (3.6)	1 (1.8)	4 (7.3)	1 (1.8)
Liver (No. Examined)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Combined tumors	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Adenoma, hepatocellular, benign	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.8)	1 (1.8)	0
Carcinoma, hepatocellular, malignant	0	0	0	0	0	0	1 (1.8)	0	0	0

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Histopathology - non-neoplastic findings[c]										
Liver (No. Examined)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Hyperplasia, oval cell	1	0	0	0	0	3	3	11	4	21
minimal	1	0	0	0	0	3	3	11	4	15
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hyperplasia, hepatocellular, regenerative	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Focus of cellular alteration; eosinophilic	2	0	1	1	1	4	5	4	11	10
minimal	2	0	1	1	1	2	1	3	6	4
mild	0	0	0	0	0	2	1	0	2	5
moderate	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1
marked	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Focus of cellular alteration; basophilic	7	28	11	28	1	29	8	38	9	41
minimal	7	23	11	20	1	21	7	29	7	20
mild	0	3	0	7	0	6	1	6	2	19
moderate	0	1	0	1	0	1	0	3	0	2
marked	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Histopathology - non-neoplastic findings (cont.)[c]										
Liver (No. Examined) (cont.)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Vacuolation; macrovesicular / microvesicular	15	16	14	8	41	34	51	36	53	50
minimal	9	10	1	5	13	17	12	17	5	7
mild	5	5	9	1	17	11	21	11	31	20
moderate	1	1	4	2	7	2	9	8	12	19
marked	0	0	0	0	4	4	6	0	3	4
severe	0	0	0	0	0	0	3	0	2	0
Hypertrophy, hepatocellular	0	0	0	0	0	10	26	37	38	51
minimal	0	0	0	0	0	7	10	19	13	7
mild	0	0	0	0	0	3	16	17	22	29
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	3	15
Necrosis, single cell	1	1	0	0	1	2	10	16	21	46
minimal	1	1	0	0	1	2	9	15	19	41
mild	0	0	0	0	0	0	1	1	2	4
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group	1		2		3		4		5	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Histopathology - non-neoplastic findings (cont.)[c]										
Liver (No. Examined) (cont.)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Degeneration, cystic	10	1	9	0	17	2	25	9	26	5
minimal	10	1	9	0	13	1	20	8	19	4
mild	0	0	0	0	3	1	3	0	5	1
moderate	0	0	0	0	1	0	2	1	2	0
Pigment, kupffer cells	7	2	2	2	12	19	13	19	20	34
minimal	5	2	2	2	11	17	11	11	12	17
mild	2	0	0	0	1	2	2	7	8	16
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Inclusion, cytoplasmic hepatocellular; hyaline	1	0	0	0	7	0	8	1	12	3
minimal	1	0	0	0	2	0	2	1	5	1
mild	0	0	0	0	5	0	6	0	6	2
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, bile duct	39	22	38	19	21	9	14	6	8	8
minimal	30	16	32	13	17	7	10	6	8	8
mild	9	6	6	5	4	2	3	0	0	0
moderate	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Fibrosis; periductal, bile duct	23	11	23	7	10	3	10	0	5	3
minimal	18	8	12	5	9	3	6	0	4	2
mild	5	2	10	2	1	0	4	0	1	1
moderate	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10C ラットを用いた 2 年間がん原性試験（続き）

Group	1		2		3		4		5	
Dose (mg/kg)	**0 Q4W (Control)**		**0 Q4W (Control)**		**40 Q4W**		**95 Q4W**		**250 Q4W**	
Number of Animals	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
Histopathology - non-neoplastic findings (cont.)[c]										
Liver (No. Examined) (cont.)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Infiltrate, mixed inflammatory cells; periductal, bile duct	24	10	19	5	11	2	7	4	5	3
minimal	21	9	18	3	11	2	6	3	5	2
mild	3	1	1	2	0	0	1	1	0	1
Kidney (No. Examined)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Basophilic granules; tubular epithelial cells	0	0	0	0	28	27	45	36	51	49
minimal	0	0	0	0	24	27	17	21	18	8
mild	0	0	0	0	4	0	17	11	12	13
moderate	0	0	0	0	0	0	11	4	19	28
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Injection Site (No. Examined)	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Infiltrate, macrophages; with grey pigment; dermis / subcutis	0	0	0	0	1	5	5	4	24	12
minimal	0	0	0	0	1	5	4	4	16	12
mild	0	0	0	0	0	0	1	0	7	0
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

-: no noteworthy findings; F: female; M: male; NC: not calculated due to samples below the lower limit of quantification (LLOQ: 10.0 ng/mL); Q4W: once every four weeks; TK: toxicokinetics

a: Excluding animals that died on the day of scheduled necropsy while waiting to be processed.

b: Palpable mass incidence = Number of animal with masses / Total number of animals per group

c: Incidence is presented.

d: Values in parenthesis are the calculated percent incidence.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験-重要な試験以外の試験

Test Article: Inclisiran

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Crl:CD(SD) (Pregnant)	SC, once daily (0.9% sodium chloride for injection, USP / solution)	GD 6 to 17 (12 Days)	0, 15, 50, 100, 150 QD	F: 6	There was no evidence of embryolethality (embryo-fetal death), fetotoxicity (growth) or teratogenicity (structural abnormalities) at any dose level. There was no inclisiran detected in fetal plasma or liver at any dose level. Increase white blood cell counts (14%) associated with increases in lymphocytes (15%) and large unsustained cells (56%) in the 150 mg/kg dose group compared to the vehicle control group. At all dose levels there were non-dose related decreases in red blood cells (range: −9% to −10%), reticulocytes (range: −16% to −22%), hemoglobin (range: −9% to −11%) and hematocrits (range: −7% to −8%) compared to the vehicle control group. In the ≥ 15 mg/kg dose groups, non-dose related decreases in cholesterol (range: −51% to −61%), triglycerides (range: −52% to −74%), LDL-C (range: −63% to −68%) and HDL-C (range: −59% to −64%) compared to the control group. In the ≥ 50 mg/kg dose groups, there were non-dose related increases in ALP (range: 60% to 87%) compared to the vehicle control group. In the 150 mg/kg dose group, there was minimal to mild kupffer cell vacuolation, minimal hepatocellular vacuolation and mild to moderate hepatocellular hypertrophy; in the kidney, there were basophilic granules in the proximal convoluted tubules characterized as mild and tubular vacuolation characterized as minimal to mild.	[9001070]

2.6.7.11 生殖発生毒性試験-重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Inclisiran

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit / New Zealand White (Pregnant)	SC, once daily (0.9% sodium chloride for injection, USP / solution)	GD 7 to 19 (13 Days)	0, 15, 50, 100, 150 QD	F: 5	There was no evidence of embryolethality (embryo-fetal death), fetotoxicity (growth) or teratogenicity (structural abnormalities) in any dose group. Mean AST, ALT and ALP levels were 169%, 98% and 120% higher than controls, respectively, in the150 mg/kg dose group on GD20. The higher means on GD20 were influenced by one doe which exhibited markedly higher values of each parameter compared to the other animals at the same dose level which exhibited values within or comparable to control ranges. By GD29, the mean AST, ALT, and ALP values in the 150 mg/kg dose group were comparable to controls. Gross pathology findings were observed in two females in the 150 mg/kg/day dose group and included pale discoloration of the kidney (1 of 5 females) and splenic enlargement (1 of 5 females). Microscopic analysis was limited to the liver and kidneys of control and the inclisiran 150 mg/kg dose groups. Inclisiran related microscopic findings were observed in the kidney of all females in the 150 mg/kg dose group and consisted of mild to moderate basophilic granules in the renal tubules with minimal vacuolation in the proximal convoluted tubules.	[9001071]

ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; F: female; GD: gestation day; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; QD: once daily; SC: subcutaneous

2.6.7.12 生殖発生毒性試験

2.6.7.12A 生殖発生毒性試験 - 雄ラットを用いた授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: A fertility and early embryonic development study of Inclisiran administered by subcutaneous injection in the male Sprague-Dawley rat

Test Article: Inclisiran

Design similar to ICH 4.1.1? Yes

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Initial Age: 11 weeks (males)
11 weeks at mating (females)

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing (males): Once every two weeks, beginning 29 days prior to cohabitation, during cohabitation and continuing after the 14-day cohabitation period until termination (Days 1, 15, 29, 43 and 57)
TK males: Days 1, 15 and 29

Day of Mating: GD 0

Day of C-Section: GD 13

Method of Administration: Subcutaneous injection

Study No. [9001068]

Location in CTD: 4.2.3.5.1-1

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg Q2W

Dose (mg/kg)		**0 Q2W (Control)**	**10 Q2W**	**50 Q2W**	**250 Q2W**
Number of animals	Males	22	22	22	22
	Female (untreated)	22	22	22	22
Toxicokinetics (No. of animals)		M: 3	M: 6	M: 6	M: 6
Day 1	Cmax (ng/mL)	NC	1110	13200	57200
	AUClast (ng.h/mL)	NC[a]	4070	46000	305000
Day 29	Cmax (ng/mL)	NC	1280	11700	66800
	AUClast (ng.h/mL)	NC	5110	47300	352000

2.6.7.12A 生殖発生毒性試験 - 雄ラットを用いた授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 Q2W (Control)	10 Q2W	50 Q2W	250 Q2W
Number of animals	Males	22	22	22	22
	Female (untreated)	22	22	22	22
Noteworthy findings					
F0 Males					
No. Evaluated		22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Clinical Observations		-	-	-	-
Body Weight		-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating		3.7	2.7	3.1	2.5
No. of Males that Mated		22	22	21	21
No. of Fertile Males		22	22	20	19
Necropsy Observations		-	-	-	-
Organ weight		-	-	-	-
Male Reproductive Assessment					
Sperm motility		-	-	-	-
Sperm concentration		-	-	-	-
Sperm morphology		-	-	-	-
Histopathology (Testis)					
Spermatogenic cycle Assessment		-	NA	NA	-

2.6.7.12A 生殖発生毒性試験 - 雄ラットを用いた授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 Q2W (Control)	10 Q2W	50 Q2W	250 Q2W
Number of animals	Males	22	22	22	22
	Female (untreated)	22	22	22	22
F0 Females (untreated)					
No. Evaluated		22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Mean No. Days Prior to Mating		3.7	2.7	3.1	2.5
No. of Females Sperm Positive		22	22	21	21
No. of Pregnant Females		22	22	20	19
Sum of Early Resorptions and Dead Embryos		0.7	1.0	2.1*	1.5*
Mean No. Corpora Lutea		17.5	19.1	17.9	18.8
Mean No. Implantations		16.4	17.8	16.8	17.4
Mean % Preimplantation Loss		8.23	7.49	5.71	7.68
Mean No. Live Conceptuses		15.8	16.7	14.8	15.8
Mean No. Early Resorptions		0.7	1.0	2.0	1.5*
No. Dead Conceptuses		0.0	0.0	0.1	0.0
Mean % Postimplantation Loss		8.63	5.86	11.55	8.85

-: no noteworthy findings; GD: gestation day; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated due to samples below the lower limit of quantification (LLOQ: 10.0 ng/mL); Q2W: once every two weeks; TK: toxicokinetics; *: $p \leq 0.05$ (Dunn test)

a: Except for Animal No. 1025 at 1-hour post dose on Day 1 where inclisiran concentration was 13.9 ng/mL.

2.6.7.12B 生殖発生毒性試験 - 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: A fertility and early embryonic development study of Inclisiran administered by subcutaneous injection in the female Sprague-Dawley rat

Test Article: Inclisiran

Design similar to ICH 4.1.1? Yes

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Initial Age: 11 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing (females): Once every 4 days beginning 14 days prior to cohabitation for mating (Study Days 1, 5, 9 and 13) and continuing during mating (Study Days 17, 21 and 25) and, for unmated females. During the gestation period, daily from GD 0 to 7

Day of Mating: GD 0

Day of C-Section: GD 13

Method of Administration: Subcutaneous injection

Study No. [9001069]

Location in CTD: 4.2.3.5.1-2

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: 250 / 150 mg/kg[a]

Dose (mg/kg)		0 (Control)	10 / 10[b]	50 / 50[b]	250 / 150[b]
Toxicokinetics (No. of animals)		F: 3	F: 6	F: 6	F: 6
Day 1	Cmax (ng/mL)	NC	2350	18700	75000
	AUClast (ng.h/mL)	NC	NC	49100	283000
GD 7	Cmax (ng/mL)	NC	1410	18700	36700
	AUClast (ng.h/mL)	NC	4180	49400	163000
Noteworthy findings					
F0 females					
No. Evaluated		22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Clinical Observations		-	-	-	-
Necropsy Observations					
Liver, pale discoloration[c]		0	2	7	11
Organ weight		-	-	-	-

2.6.7.12B 生殖発生毒性試験 - 雌ラットを用いた授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	10 / 10[b]	50 / 50[b]	250 / 150[b]
F0 females (cont.)				
Premating Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Premating Food Consumption	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Mean No. Estrous cycles / 14 days	3.1	3.0	2.9	3.4
Mean No. Days Prior to Mating	3.0	2.9	2.7	3.8
No. of Females Sperm Positive	21	21	22	21
No. of Pregnant Females	21	20	22	21
Sum of Early Resorptions and Dead Embryos	1.2	1.7	2.0	1.4
Mean No. Corpora Lutea	17.9	20.7*	21.5***	21.0**
Mean No. Implantations	15.9	16.6	18.3*	18.3*
Mean % Preimplantation Loss	12.7	19.4	14.0	12.1
Mean No. Live Conceptuses	14.7	14.9	16.3	17.0
Mean No. Early Resorptions	1.2	1.7	2.0	1.3
No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	11.9	14.0	11.2	7.2

-: no noteworthy findings; F: female; GD: gestation day; NC: not calculated for TK profiles with less than 3 quantifiable concentrations (LLOQ: 10.0 ng/mL); TK: toxicokinetics;
*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunn test)

a: Dose level prior to and during cohabitation was once every 4 days at 250 mg/kg/occasion; Dose level during gestation was once daily at 150 mg/kg/day.

b: Dose level prior to and during cohabitation / Dose level during gestation.

c: Incidence is presented.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

Report Title: An embryo-fetal development study of Inclisiran by subcutaneous injection in Sprague Dawley rats
Test Article: Inclisiran
Design similar to ICH 4.1.3? Yes
Duration of Dosing: GD 6 to 17
Study No. [9001072]
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)
Day of Mating: GD 0
Location in CTD: 4.2.3.5.2-2
Initial Age: 11 to 12 Weeks
Day of C-Section: GD 21
GLP Compliance: Yes, except fetal liver sample bioanalysis
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Method of Administration: Subcutaneous injection, once daily
Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution
Special Features: Hematology, clinical chemistry and toxicokinetics (fetal blood and liver)
No Observed Adverse Effect Level: F0 Females: 150 mg/kg/day, **F1 Litters:** 150 mg/kg/day

Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**50**	**100**	**150**
Toxicokinetics (No. of animals)			F: 3	F: 9	F: 9	F: 9
Maternal Plasma	GD 6	Cmax (ng/mL)	NC	11500	22800	32300
		AUClast (ng.h/mL)	NC	35700	92300	136000
	GD 17	Cmax (ng/mL)	NC	7810	31600	30800
		AUClast (ng.h/mL)	NC	29700	94300	128000
Fetal Plasma concentration (ng/mL)	GD 17	1-hour post dose[a]	BLQ	38.2	254	367
		2-hour post dose[b]	NA	154	170	89.4
Fetal Liver concentration (ng/g)[c]	GD 17		BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control)	50	100	150
Noteworthy Findings					
Dams					
No. evaluated		20	20	20	20
No. Pregnant		20	19	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
No. with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Clinical Observations		-	-	-	-
Body Weight		-	-	-	-
Body Weight Gain		-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-
Hematology (only TK animals)					
GD 17	MCHC (g/dL)	35.47	34.16*	34.08*	33.89**
	Platelets (10^3/uL)	1269.7	1121.6	1069.8*	1031.3*
Clinical Chemistry (only TK animals)					
GD 17	ALP (U/L)	95.3	149.6	173.1**	162.7*
	HDL-C (mg/dL)	44.7	13.9***	14.8***	15.2***
	LDL-C (mg/dL)	11.3	2.1***	2.0***	2.0***
	Triglycerides (mg/dL)	192.3	87.2	60.4*	55.4*
Necropsy (GD 21)	No. examined	20	20	20	20
Liver	Pale discoloration[d]	0	2	9	3
Gravid Uterine Weight		-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea		15.1	15.4	15.6	15.1
Mean No. Implantations		14.2	13.7	14.6	13.4
Mean % Preimplantation Loss		6.81	9.55	7.00	12.52

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
F1 Litters				
No. Litters Evaluated	20	19	20	20
Mean No. Live Fetuses	13.6	12.6	13.4	12.6
Mean No. Resorptions	0.6	1.1	1.2	0.9
No. of Litters with Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Postimplantation Loss	3.92	8.38	7.32	8.27
Mean Fetal Body Weight (g)[e]	5.8	5.9	5.7	5.9
Fetal Sex Ratios (% males)	44.8	54.1	45.4	52.9
Malformation	-	-	-	-
External and Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Variations	-	-	-	-

-: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 200 ng/g (liver)]; F: female; GD: gestation day; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; NA: not applicable; NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; TK: toxicokinetics; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunn / Dunnett test)

a: Pooled litters from 2 control females and 3 females/treated group

b: One litter at 50 and 100 mg/kg and 3 litters at 150 mg/kg

c: BLQ for both 1 and 2-hour post dose timepoints

d: Incidence is presented.

e: Combined (male and female) fetal weight

2.6.7.13B　生殖発生毒性試験 - ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

Report Title: An embryo-fetal development study of Inclisiran by subcutaneous injection in New Zealand White rabbits

Test Article: Inclisiran

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of Dosing: GD 7 to 19

Study No. [9001073]

Species / Strain: Rabbit / New Zealand White (Crl:KBL[NZW])

Day of Mating: GD 0

Location in CTD: 4.2.3.5.2-4

Day of C-Section: GD 29

GLP Compliance: Yes, except fetal liver sample bioanalysis

Initial Age: 5 to 6 months

Method of Administration: Subcutaneous injection, once daily

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Special Features: Hematology, clinical chemistry, toxicokinetics (including fetal blood and liver), and ADA analysis

No Observed Adverse Effect Level: F0 Females: 150 mg/kg/day, **F1 Litters:** 150 mg/kg/day

Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**50**	**100**	**150**
Toxicokinetics (No. of animals)			2	3	3	3
Maternal Plasma	GD 7	Cmax (ng/mL)	NC	13300	24100	42900
		AUClast (ng.h/mL)	NC[a]	75200	185000	361000
	GD 19	Cmax (ng/mL)	NC	12300	21700	25200
		AUClast (ng.h/mL)	NC	53400	193000	314000
Fetal Plasma concentration	GD 19	(ng/mL)[b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fetal Liver concentration	GD 19	(ng/g)[c]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
ADA analysis[d]			-	-	-	-

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験 - ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
Noteworthy Findings				
Dams				
Number evaluated	20	20	20	20
No. Pregnant	20	18	19	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption (%)[e]				
GD 14-15	127.42 g/animal/day	3	−6	−10
GD 15-16	127.60 g/animal/day	0	−12	−24
GD 16-17	140.37 g/animal/day	−4	−5	−17
GD 17-18	148.32 g/animal/day	−6	−10	−14
GD 18-19	144.89 g/animal/day	−4	−8	−14
GD 19-20	149.40 g/animal/day	−6	−3	−21
Overall Food Consumption (%)[e]				
GD 7 to 19	1807.0 g/animal	−4	−11	−9
GD 19 to 29	1000.4 g/animal	−2	8	1
GD 7 to 29	2811.9 g/animal	−4	−5	−6

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験 - ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)		0 (Control)	50	100	150
Dams (cont.)					
Hematology		-	-	-	-
Clinical Chemistry					
GD 20	AST (U/L)	23.3	18.3	18.8	50.3
	ALT (U/L)	31.5	23.0	22.1*	43.1
	ALP (U/L)	42.3	58.2	97.3**	197.4***
	γ-GTP (U/L)	4.6	4.4	5.1	7.3**
	Cholesterol (mg/dL)	25.3	26.6	19.4	20.7
	LDL-C (mg/dL)	4.1	4.1	3.1	3.2
	Triglycerides (mg/dL)	149.8	179.7	109.4	126.3
GD 29	Triglyceride (mg/dL)	40.4	41.5	41.6	53.2*
Necropsy Observations (GD 29)		-	-	-	-
Gravid Uterine Weight		-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea		10.8	10.8	11.5	12.1
Mean No. Implantations		10.4	10.5	10.3	11.3
Mean% Preimplantation Loss		3.73	2.94	9.89	3.93

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験 - ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
F1 Litters				
No. Litters Evaluated	20	18	19	20
Mean No. Live Fetuses	9.5	10.1	9.8	10.8
Mean No. male fetuses	4.4	4.2	4.9	6.1*
Mean No. female fetuses	5.1	5.8	4.9	4.7
Mean No. Resorptions	1.0	0.4	0.5	0.5
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean% Postimplantation Loss	8.26	3.92	5.84	5.45
Mean Fetal Body Weight (g)[f]	39.8	40.9	40.1	39.1
Fetal Sex Ratios (% males)	46.95	41.95	52.77	55.00
Malformation	-	-	-	-
External and Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Variations	-	-	-	-

-: no noteworthy findings; ADA: anti-drug antibody; ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; AST: apartate aminotransferase; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 200 ng/g (liver)]; F: female; GD: gestation day; γ-GTP: gamma-glutamyl transpeptidase; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; pc: post coitum; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunn / Dunnett test)

a: Except for control animal No. 1521 at 24 hours post dose on Day 7 pc, inclisiran concentration (14.8 ng/mL).

b: Concentration at 24-hour post dose; pooled litters from 2 control females and 3 females/treated group. Fetal plasma concentrations for the inclisiran treated groups were < LLOQ in all dose groups, except in one litter at 100 mg/kg/day (10.8 ng/mL) and at 150 mg/kg/day (11.0 ng/mL).

c: Concentration at 24-hour post dose; pooled litters from 2 control females and 3 females/treated group. Fetal liver concentrations for the inclisiran treated groups were < LLOQ in all dose groups, except in one litter in 100 mg/kg/day (216 ng/g) and 150 mg/kg/day (268 ng/g).

d: No treatment-induced antibody response observed on Day 20 pc and no antibodies directed against inclisiran were detected during the recovery period on Day 29 pc.

e: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

f: Combined (male and female) fetal weight.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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: A subcutaneous injection pre and postnatal developmental toxicity study of Inclisiran in the Sprague-Dawley rat, including postnatal behavioral and functional evaluations

Test Article: Inclisiran

Design similar to ICH 4.1.2? Yes

Duration of Dosing: GD 6 to LD 20

Study No. [9001159]

Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)

Day of Mating: GD 0

Location in CTD: 4.2.3.5.3-1

Initial Age: 77 to 84 days old

Method of Administration: Subcutaneous injection, once daily

GLP Compliance: Yes, except for the bioanalysis of maternal milk

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Litters Culled: LD 4, culled to 4 males and 4 females each, where possible

Vehicle / Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: **F0 Females** (maternal toxicity)**:** 150 mg/kg/day
F0 Females (reproductive performance): 150 mg/kg/day
F1 Offspring: 150 mg/kg/day

Dose (mg/kg)			0 (Control)	50	100	150
Inclisiran concentration (ng/mL)		(No. F0 females)	2	4	4	4
Maternal Plasma	LD 11	8 h postdose	BLQ	1110	8470	11200
Maternal Milk	LD 11	8 h postdose	BLQ	1170	3840	3970
Pup Plasma	LD 11	1 h postdose	BLQ[a]	BLQ	BLQ	BLQ
		2 h postdose	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Noteworthy Findings						
Dams						
No. Pregnant			22	21	21	18
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	1[b]	0
No. with Total Resorption of Litter			0	0	0	0
Clinical Observations			-	-	-	-
Necropsy Observations			-	-	-	-

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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）

Dose (mg/kg)		0 (Control)	50	100	150
Dams (cont.)					
Body Weight Gain (%)[c]	GD 6 to 21	148.3 g	4	8	9
	LD 0 to 21	27.7 g	−9	−2	−16
Food Consumption (%)[c]	GD 6 to 18	282.5 g/animal	−6	−4	−7
	LD 0 to 14	670.7 g/animal	3	4	5
Mean Duration of Gestation (days)		21.5	21.4	21.6	21.6
Live Birth Index (%)		90.8	90.1	87.1	91.8
Abnormal Parturition		0	0	1[b]	0
F1 Litters (Preweaning)					
No. Litters Evaluated		22	21	20	17
Mean No. of Implantation Scars		13.2	13.4	14.3	14.1
Mean No. Liveborn Pups/Litter at Birth		12.1	12.0	12.3	12.9
No. of Litters with Dead Pups		4	5	8	2
No. of Dead Pups		5	8	22[#]	3
Postnatal Survival to Day 4 (%)		98.1	97.4	99.1	97.4
Postnatal Survival to Weaning Day 21 (%)		98.3	99.4	98.8	100.0
No. of Total Litter Losses		0	0	0	0
Pup Body Weight Change (%)[c]					
Days 4 to 21 pp (Males)		43.4 g	−3.8	−5.1	−9.6
Days 4 to 21 pp (Females)		41.7 g	−2.3	−3.3	−8.8
Pup Sex Ratios (% Males)		50.4	52.6	51.5	49.5
Righting Reflex		-	-	-	-
Negative Geotaxis		-	-	-	-
Auricular Startle Response		-	-	-	-
Pup Clinical Signs		-	-	-	-
Pup Necropsy Observations		-	-	-	-

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
F1 Males (Postweaning)				
No. Evaluated	22	21	20	17
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[d]
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Change (%)[c]				
Days 21 to 98 pp	522.6 g	−4.1	−0.98	−3.9
Mean Age of Preputial Separation (days)	40.8	40.7	41.0	40.7
Sensory Function	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Startle Habituation	-	-	-	-
Learning and Memory (‘E’ Water Maze)	-	-	-	-
No. of Males Placed for Mating	22	21	20	16
Mean No. Days Prior to Mating	3.9	3.4	2.9	2.1*
No. of Males that Mated	22	20	20	16
No. of Fertile Males	21	19	20	16

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
F1 Females (Postweaning)				
No. Evaluated	22	21	20	17
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight Change (%)[c]				
Days 21 to 77 pp	238.9 g	−0.4	−2.0	−4.1
Gestation Body Weight Change (%)[c]				
Days 0 to 13 pc	60.2 g	2.0	14.1	0.8
Mean Age of Vaginal Patency (days)	31.8	31.4	31.7	32.4
Sensory Function	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Startle Habituation	-	-	-	-
Learning and Memory (‘E’ Water Maze)	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	3.9	3.4	2.9	2.1*
No. of Females Sperm-Positive	22	20	20	17
No. of Pregnant Females	21	19	20	17
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	17.0	17.1	17.4	18.1
Mean No. Implantations	15.1	15.5	15.6	16.2
Mean % Preimplantation Loss	10.5	8.0	10.9	10.3

2.6.7.14 生殖発生毒性試験 - ラットを用いた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）

Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	100	150
F2 Litters				
No. Evaluated	20	19	19	15
Mean No. Live Conceptuses/Litter	13.7	14.4	14.4	15.5
Mean No. Resorptions	1.5	1.2	1.2	0.7
No. of Litter with Dead Conceptuses	0	0	0	0
No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	9.7	8.7	9.3	4.5

-: no noteworthy findings; BLQ: below the lower limit of quantitation [LLOQ: 10.0 ng/mL (plasma), 200 ng/mL (milk)]; GD: gestation day; LD: lactation day; pc: post coitum; pp: postpartum; *: $p \leq 0.05$ (Dunn test); #: $p \leq 0.001$ (Fisher's Exact test)

a: All animals were BQL except one control male that had a quantifiable value of 12.4 ng/mL at 1-hour postdose.

b: One F0 generation female (100 mg/kg/day) underwent preterminal euthanasia on LD 0 due to poor/deteriorating condition with dystocia. At necropsy, there was one dead fetus in utero.

c: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

d: One F1 male (150 mg/kg/day) was found dead on Day 22 pp. The cause of death remains unclear based on the macroscopic evaluation.

2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する毒性試験

該当資料なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A その他の毒性試験 - 免疫刺激作用に関する探索的試験

Test Article: Inclisiran

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Mouse / CD-1	SC	Single dose	0, 30, 100	M: 5	There was no mortality and no inclisiran related clinical observations or impact on cytokine levels (G-CSF, IL-6, IP-10, KC, MCP-1 and TNF-α) at either dose level.	No	[PCSSC-NCD13-002]	4.2.3.7.7-1

G-CSF: granulocyte-colony stimulating factor; IL-6: interleukin-6; IP-10: interferon gamma-induced protein 10; KC: keratinocyte chemoattractant; M: male; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; SC: subcutaneous; TNF-α: tumor necrosis factor alpha

2.6.7.17B　その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験

Report Title: A 85-day PCSSC (subcutaneous) and atorvastatin (oral) combined toxicity study in the cynomolgus monkey with a 13-week recovery period

Test Article: Inclisiran, Atorvastatin

Species / Strain: Monkeys, cynomolgus

Duration of Dosing: 85 days

Study No. [20110258]

Initial Age: 2.5 to 2.9 years (male), 2.9 to 3.5 years (female)

Duration of Recovery: 13 weeks

Location in CTD: 4.2.3.7.7-2

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration:

Inclisiran: subcutaneous injection, once every four weeks

Atorvastatin: oral gavage, once daily

GLP Compliance: Yes

Vehicle / Formulation:

Inclisiran: 0.9% sodium chloride for injection, USP sterile saline / solution

Atorvastatin: 0.5% methylcellulose and 0.1% Tween 80 in purified water / suspension

Special Features: Beginning on Day 16 or Day 15, the dose level for atorvastatin was reduced to 25 mg/kg/day due to adverse toxicity observed at 40 mg/kg/day.

No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg Q4W / 25 mg/kg QD (Inclisiran / Atorvastatin)

Dose (mg/kg)	**Inclisiran**	**0 (vehicle) Q4W**		**None**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**		**300 Q4W**	
	Atorvastatin	**0 (vehicle) QD**		**40 / 25 QD**		**40 / 25 QD**		**40 / 25 QD**		**None**		**40 / 25 QD**	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Toxicokinetics													
Inclisiran													
AUClast (ng.h/mL)	Day 1	NC	NC	NA	NA	59700	44700	223000	263000	828000	828000	695000	631000
	Day 85	NC	NC	NA	NA	57000	48500	207000	245000	759000	716000	659000	670000
Cmax (ng/mL)	Day 1	NC	NC	NA	NA	6900	5780	16800	21000	53000	50800	43600	42200
	Day 85	NC	NC	NA	NA	6700	7190	16900	19400	51000	44800	38700	41300

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Toxicokinetics (cont.)													
Atorvastatin													
AUClast (ng.h/mL)	Day 1	NC	NC	1180	2090	1300	2110	2740	2490	NA	NA	1870	1440
	Day 85	NC	NC	787	696	671	882	921	869	NA	NA	676	721
Cmax (ng/mL)	Day 1	NC	NC	405	1090	535	979	1060	1270	NA	NA	1570	849
	Day 85	NC	NC	254	252	449	255	415	386	NA	NA	269	237
Noteworthy Findings													
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs													
Feces, liquid		-	-	P	P	P	P	P	P	-	-	P	P
Feces, red		-	-	P	P	-	P	-	P	-	-	P	P
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Day 86)													
LDL-C (mg/dL)		45.8	45.9	42.6	43.3	7.6*	3.8*	8.6*	9.4*	16.0*	12.0*	4.9*	9.8*
HDL-C (mg/dL)		64.8	59.5	46.4*	38.4*	47.0*	36.4*	39.4*	41.8*	65.9	58.6	39.8*	48.4
Cholesterol (mg/dL)		114.1	108.4	92.9*	86.0	62.4*	47.2*	53.2*	56.2*	87.4*	75.0*	48.5*	62.9*
Triglycerides (mg/dL)		38.4	35.4	37.8	34.1	30.8	24.4*	30.8	23.0*	24.6*	36.0	22.1*	22.6*
ALP (U/L)		512.4	318.8	450.5	350.0	582.4	387.0	1074.4*	678.8*	954.6*	685.1*	904.1*	564.1*
Globulin (g/dL)		2.79	2.71	2.43*	2.89	2.36*	2.56	2.60	2.56	2.48*	2.73	2.31*	2.56

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Urinalysis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCSK9 (ng/mL)													
Pretreatment		187.24	201.68	200.06	209.64	107.79	178.06	268.62	194.42	285.66	152.22	227.08	159.88
Day 86		192.72	181.10	693.02	861.63	43.75*	52.50	74.46	63.40	36.02***	23.66***	61.92	39.12*
Immunophenotyping		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDAR analysis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology[a] (No. examined)		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Adrenal													
Granules, basophilic, macrophage, cortex													
	minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Kidney													
Granules, basophilic, tubular, lumen													
	minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Liver													
Granules, basophilic, Kupffer cell													
	minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	4	1	2	0
	slight	0	0	0	0	0	0	1	2	1	4	2	2
	moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Histopathology[a] (cont.)													
Lymph node, axillary													
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0	0	0	1	1	0	2	0	2	0	0
	slight	0	0	0	0	4	3	4	1	4	3	4	5
	moderate	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0
Lymph node, mandibular													
	No. examined	4	4	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	4
	slight	0	0	0	0	1	0	3	0	3	4	3	0
	moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
Lymph node, mesenteric													
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	4	2	3	3	3	5	2	3
	moderate	0	0	0	0	1	1	2	2	2	0	3	2
Prostate			NA		NA		NA		NA		NA		NA
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0		0		0		0		0		1	

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Histopathology[a] (cont.)													
Heart													
Granules, basophilic, macrophage, myocardial													
minimal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Site administration, SC1				NA	NA								
Inflammation, mononuclear cell													
minimal		0	0			1	0	0	0	2	1	1	0
Granules, basophilic, macrophage													
minimal		0	0			1	0	0	4	3	2	1	1
slight		0	0			0	0	0	1	1	1	0	1
Site administration, SC2				NA	NA								
Inflammation, mononuclear cell													
minimal		0	0			0	0	0	0	1	0	0	1
Inflammation, mixed cell													
minimal		0	0			0	0	1	1	0	0	0	0
Granules, basophilic, macrophage													
minimal		0	0			0	0	1	3	1	1	1	2
slight		0	0			0	0	0	0	1	2	0	0

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	**Inclisiran**	**0 (vehicle) Q4W**		**None**		**30 Q4W**		**100 Q4W**		**300 Q4W**		**300 Q4W**	
	Atorvastatin	**0 (vehicle) QD**		**40 / 25 QD**		**40 / 25 QD**		**40 / 25 QD**		**None**		**40 / 25 QD**	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Histopathology[a] (cont.)													
Site administration, SC3				NA	NA								
Inflammation, mononuclear cell													
	minimal	0	0			0	1	0	0	1	2	0	2
Inflammation, mixed cell													
	minimal	0	0			0	0	1	1	0	1	0	0
	slight	0	1			0	0	0	0	0	0	0	0
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0			0	0	0	2	3	1	0	3
	slight	0	0			0	0	0	1	1	2	1	0

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Histopathology[a] (cont.)													
Site administration, SC4				NA	NA								
Inflammation, mononuclear cell													
	minimal	1	0			0	0	0	1	0	1	0	1
	slight	0	0			0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, mixed cell													
	minimal	3	1			2	1	1	3	2	2	4	1
	slight	0	0			1	2	2	1	1	2	0	2
	moderate	0	0			0	0	1	0	1	0	0	1
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0			1	2	2	2	2	3	3	1
	slight	0	0			1	0	1	0	1	1	0	2
	moderate	0	0			0	0	0	0	1	0	0	0
Recovery Phase													
Clinical Chemistry (Day 176)						NA	NA	NA	NA				
LDL-C (mg/dL)		45.7	56.0	53.3	74.7					22.0	14.3*	23.3	26.0
HDL-C (mg/dL)		57.3	52.3	64.0	74.7					64.7	65.0	70.0	80.7
Cholesterol (mg/dL)		104.3	114.0	119.7	157.0					95.3	92.3	103.0	117.7
Triglycerides (mg/dL)		56.3	46.7	54.3	47.0					44.0	37.3	44.0	36.0
ALP (U/L)		493.3	245.0	581.0	401.7					713.3	336.3	491.3	455.3
PCSK9 (ng/mL) (Day 176)		321.78	244.88	249.67	272.57	NA	NA	NA	NA	37.21	19.52	38.37	15.80

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery Phase (cont.)													
Histopathology[a]													
Liver						NA	NA	NA	NA				
Granules, basophilic, Kupffer cell													
	minimal	0	0	0	0					1	1	1	2
	slight	0	0	0	0					1	1	0	0
Lymph node, axillary						NA	NA	NA	NA				
Granules, basophilic, macrophage													
	slight	0	0	0	0					0	2	0	2
Lymph node, mandibular						NA	NA	NA	NA				
Granules, basophilic, macrophage													
	minimal	0	0	0	0					2	1	1	1

2.6.7.17B その他の毒性試験 - 併用投与毒性試験（続き）

Dose (mg/kg)	Inclisiran	0 (vehicle) Q4W		None		30 Q4W		100 Q4W		300 Q4W		300 Q4W	
	Atorvastatin	0 (vehicle) QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		40 / 25 QD		None		40 / 25 QD	
Number of Animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery Phase (cont.)													
Histopathology[a] (cont.)													
Lymph node, mesenteric						NA	NA	NA	NA				
No. examined		3	3	3	3					2	3	3	3
Granules, basophilic, macrophage													
minimal		0	0	0	0					0	0	0	0
slight		0	0	0	0					2	1	3	2
moderate		0	0	0	0					0	2	0	1
Site administration, SC1				NA	NA	NA	NA	NA	NA				
Granules, basophilic, macrophage													
minimal		0	0							1	0	0	2
Site administration, SC3				NA	NA	NA	NA	NA	NA				
Granules, basophilic, macrophage													
minimal		0	0							0	0	0	1

-: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; F: female; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated due to samples below quantifiable limit; P: present; PCSK9: proprotein convertase subtilisin / kexin type 9; QD: once daily; Q4W: once every four weeks; SC: subcutaneous; *: $p \leq 0.05$, ***: $p \leq 0.001$ (Dunnett / Dunn test)

a: Incidence is presented.