目次

略語一覧 5
1. まとめ 6
2. 単回投与毒性試験 12
3. 反復投与毒性試験 12
3.1. Sprague Dawley ラットを用いた試験 12
3.1.1. Sprague Dawley ラットにエビナクマブを 5 週間静脈内投与又は皮下投与して 10 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-11073） 12
3.1.2. Sprague Dawley ラットにエビナクマブを 13 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-12062） 14
3.2. カニクイザルを用いた試験 16
3.2.1. カニクイザルにエビナクマブを 5 週間静脈内投与又は皮下投与して 10 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-11072） 16
3.2.2. カニクイザルにエビナクマブを 13 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-12061） 18
3.2.3. 性成熟したカニクイザルにエビナクマブを 26 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-14006） 20
4. 遺伝毒性試験 24
5. がん原性試験 25
6. 生殖発生毒性試験 26
6.1. Sprague Dawley ラットを用いた試験 26
6.1.1. エビナクマブを雌の Sprague Dawley に皮下投与し、雌の受胎能、着床までの初期胚発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する影響を評価した試験（R1500-TX-17096） 26
6.1.2. 妊娠 Sprague Dawley ラットを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14149） 30
6.2. ニュージーランドホワイトウサギを用いた試験 33
6.2.1. 雄のニュージーランドホワイトウサギに静脈内投与し、受胎能及び着床までの早期胚発生に及ぼす影響を評価した試験（R1500-TX-17095） 33
6.2.2. 妊娠ニュージーランドホワイトウサギを用いたエビナクマブの非ピボタル用量範囲設定胚・胎仔発生試験（REGN1500-TX-14016） 38
6.2.3. 妊娠ニュージーランドホワイトウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14092） 41
7. 幼若動物を用いた試験 47
7.1. 幼若 Sprague Dawley ラットを用いた試験 47
7.1.1. 幼若 Sprague Dawley ラットに静脈内注射又は皮下注射した毒性試験（R1500-TX-17094） 47
7.2. 幼若ニュージーランドホワイトウサギを用いた試験 50
7.2.1. 幼若ニュージーランドホワイトウサギに静脈内注射又は皮下注射した非ピボタル毒性試験（R1500-TX-18035） 50

7.2.2. 幼若ニュージーランドホワイトウサギを用いた静脈内注射毒性本試験（R1500-TX-17093）.....53
8. 局所刺激性試験.....59
9. その他の毒性試験.....60
9.1. 正常なヒト、カニクイザル及びラットの組織を用いたエビナクマブの組織交差反応性試験（REGN1500-TX-11074）.....60
9.2. 免疫毒性.....60
9.3. 薬物乱用性の評価.....61
10. 考察及び結論.....62
10.1. 全体的な要約.....65
11. 参考文献.....66

表一覧

Table 1: Summary of Evinacumab Toxicology Program.....6
Table 2: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose Following Intravenous Administration in the GLP Repeat-Dose Toxicology Studies.....8
Table 3: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose in the Definitive Embryo-Fetal Development Studies.....8
Table 4: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose Following Intravenous Administration in the Definitive Studies in Juvenile Animals.....9
Table 5: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 5 Weeks in the Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-11073).....13
Table 6: Noteworthy Findings from the 5-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sprague Dawley Rat with a 10-Week Recovery Period (REGN1500-TX-11073).....13
Table 7: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 13 Weeks in the Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-12062).....15
Table 8: Noteworthy Findings from the 13-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sprague Dawley Rat with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-12062).....16
Table 9: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 5 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-11072).....17
Table 10: Noteworthy Findings from the 5-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Cynomolgus Monkey with a 10-Week Recovery Period (REGN1500-TX-11072).....18
Table 11: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 13 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-12061).....19
Table 12: Noteworthy Findings from the 13-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Cynomolgus Monkey with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-12061).....20
Table 13: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 26 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-14006).....21

Table 14: Noteworthy Findings from the 26-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sexually-Mature Cynomolgus Monkey with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-14006) 22
Table 15: Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab in the Maternal Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17096) 28
Table 16: Noteworthy Findings from the Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study and Prenatal and Postnatal Development in Sprague Dawley Rats (R1500-TX-17096) 29
Table 17: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149) 31
Table 18: Summary of the Maternal and Fetal Total Evinacumab Concentration Ratios at Necropsy Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149) 31
Table 19: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149) 32
Table 20: Noteworthy Findings from the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149) 32
Table 21: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous Injections of Evinacumab in the Male New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17095) 34
Table 22: Summary of Unscheduled Sacrifices in the Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study of Evinacumab in the New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17095) 35
Table 23: Noteworthy Findings from Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study of Evinacumab in the New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17095) 37
Table 24: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 3 Doses) in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016) 39
Table 25: Incidence of Fetal Alterations and Litter Observations of Domed Head, Ventricular Dilation, and Flexed Forepaws in the Nonpivotal Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016) 40
Table 26: Noteworthy Findings from the Nonpivotal Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016) 40
Table 27: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injection of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092) 42
Table 28: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092) 43
Table 29: Incidence of Fetal Alterations and Litter Observations in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092) 44
Table 30: Noteworthy Findings from the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092) 45
Table 31: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 10 Weeks in the Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094) 48

Table 32: Summary of Early Deaths in the Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094) 48
Table 33: Noteworthy Findings from the 10-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094) 49
Table 34: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Subcutaneous or Intravenous Injections of Evinacumab (Total of 16 Doses) in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035) 51
Table 35: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Nonpivotal Intravenous or Subcutaneous Injection Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035) 52
Table 36: Noteworthy Findings from the Nonpivotal Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035) 53
Table 37: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous Injections of Evinacumab (Total of 25 Doses) in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17093) 54
Table 38: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices During the Dosing Phase of the Intravenous Injection Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17093) 55
Table 39: Noteworthy Findings from the Dosing Period of the Intravenous Injection Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17093) 58
Table 40: Lipid Profiles in Untreated Pregnant Sprague Dawley Rats and New Zealand White Rabbits from the Evinacumab Early Embryonic Studies Compared with Human Lipid Profiles During Pregnancy 64

略語一覧

略語一覧は Module 2.6.1 の略語一覧を参照する。

1. まとめ

エビナクマブの毒性プログラムの概要は、Module 2.6.7「毒性試験の概要表」(Module 2.6.7 Table 2.6.7.1「毒性試験：一覧表」）に示す。ピボタル試験はいずれも医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。

エビナクマブ（開発コード：REGN1500）は、アンジオポエチン様タンパク質 3（ANGPTL3）に特異的に結合する組換えヒト IgG4^{P}抗体である。ANGPTL3 は主に肝臓に発現する分泌タンパク質で、リポタンパクリパーゼ及び血管内皮リパーゼによる脂質代謝の制御に重要な役割を果たしている。エビナクマブは、ANGPTL3 のリポタンパクリパーゼ（LPL）の活性阻害を遮断する（Module 2.6.2 Section 1）。エビナクマブはヒト、サル、ウサギ、ラット及びマウスの ANGPTL3 の N 末端ドメインに高い親和力で結合する（Module 2.6.2 Section 1）。In vitro 結合データ、並びにヒト、サル、ウサギ及びラットの間でみられる ANGPTL3 のアミノ酸配列の相同性に基づき、カニクイザル、ウサギ及びラットは毒性評価に最も適した動物種と考えられる（Module 2.6.2 Section 3.1.1）。

エビナクマブの毒性プログラムを Table 1 に要約する。

Table 1: Summary of Evinacumab Toxicology Program

Study Type and Duration (Compliance)	**Study Number**	**Species**	**Evinacumab Dose (mg/kg) (Route of Administration)**
Repeat-dose Toxicology Studies			
5-week study with a 10-week recovery period (GLP)	REGN1500-TX-11073	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (IV)[a], and 100 (SC)
13-week study with a 13-week recovery period (GLP)	REGN1500-TX-12062	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (SC), and 100 (IV)[a]
5-week study with a 10-week recovery period (GLP)	REGN1500-TX-11072	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (IV)[a], and 100 (SC)
13-week study with a 13-week recovery period (GLP)	REGN1500-TX-12061	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (SC), and 100 (IV)[a]
26-week study with a 13-week recovery period (GLP)	REGN1500-TX-14006	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (SC), and 100 (IV)[a]
Reproductive and Developmental Toxicology Studies			
Female fertility and early embryonic development to implantation and pre- and postnatal development study (GLP)	R1500-TX-17096	Sprague Dawley rat	0, 30, and 100 (SC)
Embryo-fetal development study (GLP)	REGN1500-TX-14149	Sprague Dawley rat	0, 5, 10, 30, and 100 (SC)
Male fertility and early embryonic development to implantation study (GLP)	R1500-TX-17095	New Zealand White rabbit	0, 100, and 300 (IV)[a]
Nonpivotal (dose range-finding) embryo-fetal development study (GLP)	REGN1500-TX-14016	New Zealand White rabbit	0 (IV/SC)[a], 10, 30, 100 (SC), and 100 (IV)[a]

Study Type and Duration (Compliance)	Study Number	Species	Evinacumab Dose (mg/kg) (Route of Administration)
Embryo-fetal development study (GLP)	REGN1500-TX-14092	New Zealand White rabbit	0, 1, 5, 10, and 30 (SC)
Juvenile Toxicology			
PND 21 through PND 84 with a minimum 56-day recovery period (GLP)	R1500-TX-17094	Sprague Dawley rat	0, 30,100 (SC), and 100 (IV)[a]
Nonpivotal PND 21 through PND 96 (non-GLP)	R1500-TX-18035	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, 300 (SC), and 100 (IV)[a]
PND 21 through PND 144, followed by a female reproductive phase[b] (GLP)	R1500-TX-17093	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, and 300 (IV)[a]
Other Studies			
Tissue cross-reactivity study (GLP)	REGN1500-TX-11074	Human, cynomolgus, and Sprague Dawley rat tissues	1.0 and 10.0 µg/mL (ex vivo)

[a] IV doses were administered via slow bolus injection.
[b] A subset of juveniles was included in a Seg I female only arm that was initiated after washout from the juvenile portion of the study.
GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NA, Not applicable; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous
Note: The evinacumab material used in the pivotal GLP studies (Module 2.6.7 Section 2.6.7.4) is comparable to the clinical investigational drug product (Module 3.2.S.3.1).

ラットとサルを用いたすべての試験で、総エビナクマブ（遊離体、及び標的に結合した薬物）の曝露が投与期間を通して継続し、また、動物の大多数で回復期間を通して検出可能な濃度が認められた。ウサギを用いた受胎能試験及び胚胎仔発生試験では、エビナクマブ 30 mg/kg 以上を投与した動物の大多数で投与期間を通して継続曝露が認められた。胚・胎仔発生試験では、剖検時（最終投与から最長で 12 日後）に約 50%の動物で検出可能な濃度が認められた。幼若ウサギでは、総エビナクマブの継続曝露は動物の大多数で投与期間を通して認められたた。反復投与毒性の本試験、受胎能及び胚・胎仔発生試験、及び幼若動物を対象とした毒性試験におけるエビナクマブ曝露についてはそれぞれ、Table 2、Table 3、Table 4 に要約する。

ラットとサルを用いた反復投与試験では、C_{max} と曝露量（AUC_{tau}）は投与期間を通してほぼ用量比例的に増加した。回復期間での曝露量はいずれの動物種でも用量比例性を上回る増加を示し、30 mg/kg 未満を投与したサルでは、非線形で標的介在性のクリアランスがみられた。

抗エビナクマブ抗体（ADA、抗薬物抗体）反応率はサルとラットでは全般的に低かったが（一般的には各試験の動物で 25%未満）、ウサギでは高かった（典型的には 50%超）。ADA 陽性と血清中エビナクマブ低濃度は相関していたが、ラットとサルではいずれの用量でも、ウサギでは 30 mg/kg 以上を投与した動物の大多数で総エビナクマブの継続曝露が投与期間を通して維持されたため、ADA の安全性評価に対する好ましくない影響はなかった。

ラット又はサルに反復静脈内投与（IV）又は皮下投与（SC）したとき、トキシコキネティクス（TK）プロファイルについても免疫原性プロファイルについても、総エビナクマブの曝露量に性差はなかった。

Table 2: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose Following Intravenous Administration in the GLP Repeat-Dose Toxicology Studies

Parameter (Units)	**13-Week Study in the Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-12062)**	**26-Week Study in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-14006)**
NOAEL (mg/kg/dose)	100	100
C_{max} (µg/mL)	4060	7070
C_{trough} (µg/mL)	744	4580
AUC_{tau}[a] (day•(µg/mL))	11700	37700

[a] AUC_{tau} represents the 7-day dosing interval.
AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Lowest concentration in a dosing interval; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level
Notes: Pharmacokinetic parameter values are based on the last IV dosing interval in each study. Exposure multiples described in Module 2.4 are based on cumulative AUCs from the 26-week monkey toxicology study.

Table 3: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose in the Definitive Embryo-Fetal Development Studies

Parameter (Units)	**Sprague Dawley Rat**		**New Zealand White Rabbit**	
	Female Fertility and Early Embryonic Development (R1500-TX-17096)	**Embryo-Fetal Development (REGN1500-TX-14149)**	**Male Fertility and Early Embryonic Development (R1500-TX-17095)**	**Embryo-Fetal Development (REGN1500-TX-14092)**
NOAEL (mg/kg/dose) (administration route)	100 (SC)[a]	100 (SC)[b]	300 (IV)[c]	1 (SC)[d]
C_{max} (µg/mL)	2020	995	14800	0.0128
C_{trough} (µg/mL)	NC	591	8250	BLQ
AUC_{tau} (day•(µg/mL))	3980[e]	2370[e]	55100[f]	0.0156[e]

[a] Maternal NOAEL is 100mg/kg/dose, F1 NOAEL is 100mg/kg/dose.
[b] Embryo-fetal developmental NOAEL is 100 mg/kg/dose; maternal NOAEL is 30 mg/kg/dose.
[c] A NOAEL in males could not be determined; the NOAEL for mating and fertility is 300 mg/kg/dose.
[d] Embryo-fetal developmental NOAEL is 1 mg/kg/dose; a maternal NOAEL was not determined.
[e] AUC_{tau} represents the 3-day dosing interval.
[f] AUC_{tau} represents the 5-day dosing interval.
AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Lowest concentration in a dosing interval; IV, Intravenous; NC, Not calculated; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous
Notes: Except for study R1500-TX-17095, pharmacokinetic parameter values are based on the last dosing interval in each study. For study R1500-TX-17095, pharmacokinetic parameters are based on the Dose 15 interval.

Table 4: Summary of Evinacumab Exposure at the NOAEL Dose Following Intravenous Administration in the Definitive Studies in Juvenile Animals

Parameter (Units)	**Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094)**	**New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17093)**
NOAEL (mg/kg/dose)	100 IV	300 IV
C_{max} (µg/mL)	3570	11000
C_{trough} (µg/mL)	1260	7930
AUC_{tau} (day•(µg/mL))	13200[a]	45800[b]

[a] AUC_{tau} represents the 7-day dosing interval.
[b] AUC_{tau} represents the 5-day dosing interval.
AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Lowest concentration in a dosing interval (R1500-TX-17094) or concentration at 120 hours post dose (R1500-TX-17093);
IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level
Note: Pharmacokinetic parameter values are based on the last dosing interval in each study.

Sprague Dawley ラット及びカニクイザルの双方において、エビナクマブ週 1 回投与の忍容性は良好で、それぞれ最長 13 週間と 26 週間の試験中、有害作用はなかった。血清中トリグリセリド（TG）、高比重リポタンパクコレステロール（HDL-C）及び総コレステロール値が低下し、エビナクマブが ANGPTL3 とリポタンパクリパーゼ及び血管内皮リパーゼとの相互作用を遮断する能力と一致した。反復投与試験で有害作用がなかったため、ラットを用いた毒性試験でもサルを用いた毒性試験でも無毒性量（NOAEL）は、投与した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 及び SC）と考えられる。

サルを用いた 26 週間試験では受胎能を評価するために、雄で精巣の測定と精液の分析、雌で月経の周期性評価を行ったところ、いずれのパラメータにも有害作用はみられなかった。ウサギを用いた雄受胎能試験で 300 mg/kg 以下のエビナクマブを IV 注射で 5 日毎に 8 週間にわたり投与したところ、受胎能に障害はなく、妊娠は正常であった。

ラットを用いた胚・胎仔及び受胎能／出生後発生試験では、エビナクマブに関連する影響は、30 mg/kg 以上を投与した母動物及び F_1 動物で予想された程度の血清中 TG 値の低下が観察されたのみであった。エビナクマブに関連した胎仔の奇形や受胎能に対する影響がなかったため、ラットの胚・胎仔／発生毒性の NOAEL は 100 mg/kg/dose である。

ウサギを用いた胚・胎仔毒性試験では、胚・胎仔毒性は母動物に対する毒性があった用量のみで観察された。母動物に対する毒性として、すべての用量で早期死亡、早産、及び／又は流産がみられ、一般状態及び体重と摂餌量の変化も生じた。さらに、エビナクマブの薬理作用と一致する血清中 TG、HDL-C、総コレステロールの低下も観察された。5 mg/kg 以上の投与では仔に催奇形性がみられた。このウサギを用いた試験の結果では、母動物に対する NOAEL は決定できず、発生 NOAEL は 1 mg/kg/dose と考えられる。

ウサギで観察された毒性がヒトの臨床において持つ意味は不明である。しかし、ウサギはヒトに比べてベースラインの脂質の値が有意に低いことが知られており（Yin, 2012）、妊娠中のエビナク

マブの脂質低下作用に対して特異的な感受性がある可能性がある。さらに、いくつかの脂質パラメータ値は、ウサギでは妊娠の最初の三半期に低下するが（Zilversmit, 1972）、ラット及び特にヒトでは上昇する（Abbassi-Ghanavati, 2009; Ghio, 2011; Liberati, 2004）ことが知られている。この事実により、ウサギのデータをヒトの患者に外挿するのが難しい。

ウサギを用いた Seg I 雄受胎能試験では、エビナクマブの薬理作用に関連した有害所見はなかった。投与期間中の交配前に、ADA に関連した炎症反応によりエビナクマブに関連した早期の死亡が 6 件生じた。エビナクマブの薬理作用と一致して、血清中 TG、HDL-C、及び総コレステロールが低下した。雄の受胎能に影響がなかったため、この試験での NOAEL は最高用量である 300 mg/kg と考えられる。未投与雌から生まれた仔では尾椎の骨化の遅延が生じた。この所見は発生時の正常な多様性を反映しており、有害ではないと判断された（DeSesso, 2018）。仔に催奇形性はみられなかった。

21～84 日齢のラットを用いた幼若動物毒性試験では、エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、いずれの用量でも有害作用はなかった。エビナクマブに関連する影響は意図される薬理作用と一致した血清中 TG、HDL-C 及び平均コレステロール値の低下であり、これらの影響は回復期間終了時には全般的に可逆的であった。有害作用がなかったため、幼若ラットにおける NOAEL は、投与した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。同様に幼若ウサギを用いた用量設定試験では、エビナクマブ曝露の忍容性は良好で、エビナクマブに関連した用量制限毒性はみられなかった。エビナクマブに関連する影響は意図される薬理作用と一致した血清中 TG、HDL-C、及び／又はコレステロールの低下であった。その後、幼若ウサギを用いた GLP 試験では、出生後日数（PND）21 から 141 まで 300 mg/kg 以下のエビナクマブを 5 日毎に IV 注射で投与したところ、忍容性は良好であった。エビナクマブに関連する影響は、血清中 TG、HDL-C、低比重リポタンパクコレステロール（LDL-C）及び総コレステロールの低下のみであった。これらの変化は可逆的であり、意図される薬理作用と一致していた。試験の生殖段階では、雌の生殖性能、子宮内の成長と生存、及び胎仔の形態にエビナクマブに関連する影響はなかった。有害作用がなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 300 mg/kg/dose と考えられる。

がん原性リスクについては、反復投与毒性試験及び ANGPTL3 に関してこれまでに得られている文献のデータの検討を含めて網羅的に評価した結果、エビナクマブを慢性的に投与してもがんのリスクは上昇しないことが示された。リスク評価を検討した結果、エビナクマブのがん原性を評価する非臨床試験を（動物を用いたがん原性試験も含めて）これ以上実施する必要はないと判断された。

Ex vivo 組織交差反応性試験では、評価したヒト、サル又はラット組織のいずれについても、標的及び標的外の結合リスクは特定されなかった。

要約すると、ラットとサルにおいてエビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、それぞれ最長 13 週間と 26 週間にわたる試験の間、有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連する影響は TG、

HDL-C 及びコレステロールの低下のみであり、意図される薬理作用と一致していた。有害作用がなかったため、NOAEL は投与した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。エビナクマブ曝露は妊娠ラットでも忍容性良好で、母動物でも胚胎仔でも毒性は観察されなかったため、ラットにおける発生 NOAEL は 100 mg/kg/dose である。ウサギではすべての用量（1 mg/kg の低用量も含む）で母動物に対する毒性がみられ、5 mg/kg 以上では催奇形性がみられたため、発生 NOAEL は 1 mg/kg/dose と考えられる。ウサギではヒトと比べ、妊娠中のベースラインの脂質の値が大幅に異なるため、上記の所見がヒトにおいて持つ意味は不明である。幼若ラットとウサギではエビナクマブ曝露の忍容性は良好で、薬剤に関連した所見は薬理作用から予想される TG、HDL-C、及び／又はコレステロールの低下のみであった。したがって、NOAEL は、投与した最高用量である幼若ラットで 100 mg/kg/dose、ウサギで 300 mg/kg/dose と考えられる。Ex vivo 組織交差反応性試験では、評価したヒト、サル及びラットのいずれの組織でもエビナクマブの染色はみられなかった。

結論として、エビナクマブの毒性プログラムでは、予想されたようにすべての動物種で年齢にかかわらず薬理作用による脂質の変化がみられたが、安全と判断された。薬剤に関連する催奇形性はウサギではみられたがラットではみられなかった。これらのデータにより、エビナクマブの本邦での承認申請を支持している。

2. 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。

3. 反復投与毒性試験

Sprague Dawley ラット（最長 13 週間）及びカニクイザル（最長 26 週間）を用いた反復投与毒性試験を行い、最高 100 mg/kg/週のエビナクマブを投与して評価した。毒性プロファイル、ADA 反応、及び免疫毒性パラメータの特性を解析した。ラットとサルの血清中総エビナクマブ濃度は、バリデーション実施済みの酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）で測定し、ADA 反応は抗ヒト IgG4 抗体ブリッジングイムノアッセイで検出した（Module 2.6.4 Section 2）。安全性薬理評価（心血管、中枢神経系［CNS］及び呼吸器系）は、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験に組み込んだ（Module 2.6.2 Section 4）。

3.1. Sprague Dawley ラットを用いた試験

3.1.1. Sprague Dawley ラットにエビナクマブを 5 週間静脈内投与又は皮下投与して 10 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-11073）

本試験では、Sprague Dawley ラットにエビナクマブを IV 低速ボーラス注射（10、30 又は 100 mg/kg）又は SC 注射（100 mg/kg）で週 1 回、5 週間連続して投与した（合計 5 回投与）。同時対照群には、対照物質（処方溶媒）を同等のレジメンで IV 注射及び SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.A）。各群に雄 15 匹、雌 15 匹とした。一部の動物（各群で雄 10 匹雌 10 匹）を投与期間終了時（Day 36）に安楽死させ、残りの各群雄 5 匹雌 5 匹をさらに 10 週間飼育して所見の可逆性を評価し、Day 106 に安楽死させた。TK 群には対照物質とエビナクマブを同等のレジメンで投与し、回復期間終了時（Day 106）に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、獣医学的検査、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査、機能観察バッテリー（FOB）評価などの臨床評価；臨床検査（血液、凝固、臨床化学及び尿）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見及び顕微鏡所見）、骨髄スメア評価。投与期間と回復期間を通して血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

総エビナクマブへの継続曝露は、すべての投与群で投与期間を通して維持された。回復期間終了時に約 29%（24 匹中 7 匹）の動物で検出可能な濃度の総エビナクマブが認められ、検出可能な濃度が認められた最終時点は Day 63～106 であった。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 平均値は IV 投与後、用量比例的に上昇し、曝露量（AUC_{tau}）平均値は投与期間中、用量比例よりわずかに大きく増加した。回復期間中の曝露量は用量比例性を上回る増加を示し、標的介在性のクリアランスの特徴を示した。週 1 回投与で 5 回投与後に定常状態に達した。

TK 群では投与後、すべてのエビナクマブ投与動物のうち 8%（72 匹中 6 匹）が ADA 陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.1）。総エビナクマブの曝露は投与期間を通して継続したため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。TK データ（ADA 陽性動物を除く）及び ADA 反応を Table 5 に要約する。

Table 5: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 5 Weeks in the Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-11073)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)			
			10 (IV)	30 (IV)	100 (IV)	100 (SC)
C_{max}	µg/mL	1	268	974	3150	448
		5	298	1110	4280	873
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	26.8	32.5	31.5	4.48
		5	29.8	36.9	42.8	8.73
C_{trough}	µg/mL	1	32.4	162	694	NC
		5	59.2	352	1410	NC
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	538	1950	7380	2670
		5	783	3780	15700	3440
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	53.8	65.0	73.8	26.7
		5	78.3	126	157	34.4
ADA	NA	Overall[b]	0/18	1/18	0/18	5/18

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 7-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; NC, Not calculated; SC, Subcutaneous
Note: ADA-positive animals were excluded from toxicokinetic analysis.

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、薬剤に関連する有害作用はみられなかった（Table 6）。有害作用がなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。

Table 6: Noteworthy Findings from the 5-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sprague Dawley Rat with a 10-Week Recovery Period (REGN1500-TX-11073)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-11073 5 weeks (total of 5 doses) GLP	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC), 10, 30, or 100 (IV) or 100 (SC)	• No noteworthy findings • NOAEL is 100 mg/kg/dose IV and SC

GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

3.1.2. Sprague Dawley ラットにエビナクマブを 13 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-12062）

本試験では、Sprague Dawley ラットにエビナクマブを SC 注射（10、30 又は 100 mg/kg）又は IV 低速ボーラス注射（100 mg/kg）で週 1 回、13 週間連続して投与した（合計 13 回投与）。同時対照群には、対照物質（処方溶媒）を同等のレジメンで IV 注射及び SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.B）。各群は雄 15 匹雌 15 匹とした。一部の動物（各群雄 10 匹雌 10 匹）を投与期間終了時（Day 92）に安楽死させ、残りの各群雄 5 匹雌 5 匹をさらに 13 週間飼育して所見の可逆性を評価し、Day 183 に安楽死させた。TK 群には対照物質とエビナクマブを同等のレジメンで投与し、回復期間終了時（Day 183）に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、獣医学的検査、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；臨床検査（血液、凝固、臨床化学及び尿）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見、顕微鏡所見）、骨髄スメア評価。投与期間と回復期間を通して血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

薬剤を投与した 54 匹中 50 匹で 13 週間の投与期間中、総エビナクマブの継続曝露が維持された。平均総エビナクマブ濃度は、10、30 及び 100 mg/kg SC 投与では回復期間中の Day 128、146 及び 164 まで、100 mg/kg IV 投与では Day 146 まで検出された。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 平均値は週 1 回の SC 投与後ほぼ用量比例的に増加し、曝露量（AUC_{tau}）平均値は投与期間中、用量比例的に増加した。回復期間中の曝露量は用量比例性を上回る増加を示し、非線形の動態及び標的介在性のクリアランスの特徴と一致した。週 1 回投与で 7 回投与後に定常状態に達した。

合計 24%の動物（78 匹中 19 匹）で、ADA 陽性となる又は ADA 陰性でも ADA の影響と一致した薬物動態（PK）プロファイルがみられた（Module 2.6.4 Section 7.1）。総エビナクマブの曝露はほとんどの動物で投与期間を通して継続したため、ADA の存在が安全性評価に好ましくない影響を及ぼすことはなかった。

PK パラメータ（ADA の影響を受けた動物を除く）及び ADA 反応を Table 7 に要約する。

Table 7: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 13 Weeks in the Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-12062)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)			
			10 (SC)	30 (SC)	100 (SC)	100 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	53.4	166	480	2880
		7	216	423	843	4020
		13	98.6	371	1120	4060
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	5.34	5.53	4.80	28.8
		7	21.6	14.1	8.43	40.2
		13	9.86	12.4	11.2	40.6
C_{trough}	µg/mL	1	38.9	119	373	699
		7	78.6	131	432	1270
		13	6.00	140	358	744
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	297	829	2630	6750
		7	954	1630	4330	13900
		13	370	1780	3630	11700
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	29.7	27.6	26.3	67.5
		7	95.4	54.2	43.3	139
		13	37.0	59.6	36.3	117
ADA	NA	Overall[b]	3/18	2/18	5/18	3/18

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 7-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous
Note: ADA-positive and ADA-impacted animals were excluded from toxicokinetic analysis.

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、薬剤に関連する有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連する唯一の影響は、30 mg/kg 以上の SC 投与及び 100 mg/kg の IV 投与でみられた用量非依存的なごくわずかな血清中 TG の低下であり、この影響は雌のほうが雄よりも著明であった（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.B）。これらの所見は可逆的であり、エビナクマブで意図される薬理作用と一致していた。有害作用がみられなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。注目すべき所見を Table 8 に要約する。

Table 8: Noteworthy Findings from the 13-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sprague Dawley Rat with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-12062)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-12062 13 weeks (total of 13 doses) GLP	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC), 10, 30, or 100 (SC) or 100 (IV)	• No adverse effects noted • Consistent with the intended pharmacology, minimal decreases in serum triglyceride levels were observed at ≥ 30 mg/kg SC and 100 mg/kg IV; this effect was not dose dependent and was more pronounced in females than in males • NOAEL is 100 mg/kg/dose (IV and SC), the highest doses evaluated

GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

3.2. カニクイザルを用いた試験

3.2.1. カニクイザルにエビナクマブを 5 週間静脈内投与又は皮下投与して 10 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-11072）

本試験では、カニクイザル（2.6～4.9 歳）にエビナクマブを IV 低速ボーラス注射（10、30 又は 100 mg/kg）又は SC 注射（100 mg/kg）で週 1 回、5 週間連続して投与した（合計 5 回投与）。同時対照群には、対照物質（処方溶媒）を同等のレジメンで IV 注射及び SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.C）。各群は雄 6 匹雌 6 匹とした。一部の動物（各群雄 4 匹雌 4 匹）を投与期間終了時（Day 36）に安楽死させ、残りの各群雄 2 匹雌 2 匹をさらに 10 週間飼育して所見の可逆性を評価し、Day 106 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、獣医学的検査、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；心拍数、呼吸数、血圧などの生理学的測定；呼吸器系（パルスオキシメトリー）、神経系（神経学的検査／筋骨格系検査）、心血管系（体外ジャケットテレメトリー™［JET］を使用した心電図［ECG］）など重要器官系の機能の安全性薬理評価；臨床検査（血液、凝固、臨床化学及び尿）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見及び顕微鏡所見）、骨髄スメア評価。投与期間と回復期間を通して血液試料を採取し、脂質粒子のサイズ分析、TK 評価及び ADA 解析を行った。

薬剤を投与したすべての動物で 5 週間の投与期間中、総エビナクマブの継続曝露が維持されており、薬剤を投与したすべての回復期動物で 10 週間の回復期間を通して検出可能な濃度の総エビナクマブが認められた。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 平均値は IV 投与後、用量比例的に上昇し、曝露量（AUC_{tau}）平均値は投与期間を通してほぼ用量比例的に増加した。回復期間中、総エビナクマブ濃度は 30 mg/kg 群と 100 mg/kg 群では線形に

低下したが、10 mg/kg/群ではより迅速かつ二相性に低下し、非線形的な標的介在性の消失と一致していた。

エビナクマブを投与した 48 匹中 2 匹で ADA 陽性となり、100 mg/kg を IV 投与し ADA 陰性であった 1 匹では ADA の影響と一致した PK プロファイルがみられた（Module 2.6.4 Section 7.3）。総エビナクマブの曝露は投与期間を通して継続したため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。PK パラメータ（ADA の影響があった動物を除く）及び ADA 反応を Table 9 に要約する。

Table 9: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 5 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-11072)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)			
			10 (IV)	30 (IV)	100 (IV)	100 (SC)
C_{max}	µg/mL	1	290	822	2660	1150
		5	615	1770	5240	3180
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	29.0	27.4	26.6	11.5
		5	61.5	58.9	52.4	31.8
C_{trough}	µg/mL	1	105	334	1070	NC
		5	285	899	2700	NC
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	1030	3030	9500	6710
		5	2830	8250	24300	19800
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	103	101	95.0	67.1
		5	283	275	243	198
ADA	NA	Overall[b]	0/12	0/12	1/12	1/12

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 7-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve, AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; IV, Intravenous; PK, Pharmacokinetics; NA, Not applicable; NC, Not calculated; SC, Subcutaneous
Note: Animals that were ADA positive or had PK profiles consistent with an ADA impact were excluded from analysis.

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、被験物質に関連する有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連する影響は意図される薬理作用と一致しており、用量非依存的な血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロール値の低下がすべての投与群でみられ、LDL-C の低下がすべての投与群の一部の動物でみられた（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.C）。さらに、脂質粒子のサイズを評価したところ、HDL-C と LDL-C の低下は大型粒子の HDL と LDL の濃度が低下したためであることが判明した。回復期間終了時には、いずれの投与群でも低下した TG は部分的可逆性を示し、30 mg/kg 以下の投与では低下した HDL-C が部分的可逆性を示したが、低下した LDL-C の可逆性にはばらつきが

あった。有害作用がみられなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。注目すべき所見を Table 10 に要約する。

Table 10: Noteworthy Findings from the 5-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Cynomolgus Monkey with a 10-Week Recovery Period (REGN1500-TX-11072)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-11072 5 weeks (total of 5 doses) GLP	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC) 10, 30, or 100 (IV) or 100 (SC)	• No adverse effects noted • Consistent with the intended pharmacology, decreases in serum triglyceride, HDL-C, LDL-C (in some animals), and total cholesterol levels were observed at all doses • NOAEL is 100 mg/kg/dose (IV and SC), the highest doses evaluated

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

3.2.2. カニクイザルにエビナクマブを 13 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-12061）

本試験では、カニクイザル（2.4～4.4 歳）にエビナクマブを SC 注射（10、30 又は 100 mg/kg）又は IV 低速ボーラス注射（100 mg/kg）で週 1 回、13 週間連続して投与した（合計 13 回投与）。同時対照群には、対照物質（処方溶媒）を同様のレジメンで IV 注射及び SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.D）。各群は雄 6 匹雌 6 匹とした。一部の動物（各群雄 4 匹雌 4 匹）を投与期間終了時（Day 92）に安楽死させ、残りの各群雄 2 匹雌 2 匹をさらに 13 週間飼育して所見の可逆性を評価し、Day 183 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、獣医学的検査、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；体温、心拍数、呼吸数及び血圧などの生理学的測定；呼吸器系（パルスオキシメトリー）、神経系（神経学的検査／筋骨格系検査）、及び心血管系（JET を使用した ECG）など重要器官系の機能の安全性薬理評価；臨床検査（血液、凝固、臨床化学及び尿）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見及び顕微鏡所見）、骨髄スメア評価。血液試料を採取し、免疫表現型の評価、TK 評価及び ADA 解析を行った。

10 mg/kg 群の 2 匹を除き、薬剤を投与したすべての動物で 13 週間の投与期間中、総エビナクマブの継続曝露が維持されており、回復期間終了時には、1 匹（10 mg/kg 群）を除いたすべての動物で検出可能な濃度の総エビナクマブが認められた。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 平均値は SC 投与後、用量比例的に増加し、曝露量（AUC_{tau}）は投与期間を通してほぼ用量比例的に増加した。回復期間中、総エビナクマブ濃度は 100 mg/kg IV 群では線形に低下したが、SC 群では非線形的な標的介在性の消失と一致した二相性の低下がみられ、総濃度は低かった。週 1 回投与で 12 回投与後に定常状態に達した。

エビナクマブを投与した 48 匹中 2 匹（いずれも 10 mg/kg、SG 群）で ADA 陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.3）。総エビナクマブの曝露は投与期間中、継続したため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。PK パラメータ（ADA の影響があった動物を除く）及び ADA 反応を Table 11 に要約する。

Table 11: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 13 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-12061)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)			
			10 (SC)	30 (SC)	100 (SC)	100 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	133	354	1040	2630
		7	384	1020	3270	5510
		13	619	1330	4010	6720
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	13.3	11.8	10.4	26.3
		7	38.4	34.1	32.7	55.1
		13	61.9	44.4	40.1	67.2
C_{trough}	µg/mL	1	102	294	849	1000
		7	282	838	2680	3230
		13	414	937	3220	3750
AUC_{last}	day•(µg/mL)	1	763	2100	6080	9080
		7	2260	6500	21000	27300
		13	3390	7750	25300	32500
AUC_{last}/Dose	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	76.3	70.0	60.8	90.8
		7	226	217	210	273
		13	339	258	253	325
ADA	NA	Overall[a]	2/12	0/12	0/12	0/12

[a] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC_{last}, Area under the concentration-time curve calculated from time zero to the last observation; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic
Note: Data from ADA positive animals was excluded from TK analysis at the time of ADA positivity.

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、薬剤に関連する有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連する影響は意図される薬理作用と一致しており、用量非依存的な血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロール値の低下がすべての投与群でみられ、すべての投与群の一部の動物で LDL-C の

低下がみられた（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.D）。回復期間終了時には、10 mg/kg 群では低下した TG の完全な可逆性、10 mg/kg 超では部分的な可逆性、30 mg/kg 以下の SC 投与では低下した HDL-C の部分的可逆性がみられ、低下した LDL-C の可逆性にはばらつきがあった。有害作用がみられなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。注目すべき所見を Table 12 に要約する。

Table 12: Noteworthy Findings from the 13-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Cynomolgus Monkey with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-12061)

Study Number/Study Duration/GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-12061 13 weeks (total of 13 doses) GLP	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC) 10, 30, or 100 (SC) or 100 (IV)	• No adverse effects noted • Consistent with the intended pharmacology, decreases in serum triglyceride, HDL-C, LDL-C (in some animals), and total cholesterol levels were observed in all dose groups • NOAEL is 100 mg/kg/dose (IV and SC), the highest doses evaluated

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

3.2.3. 性成熟したカニクイザルにエビナクマブを 26 週間静脈内投与又は皮下投与して 13 週間の回復期間を設定した毒性試験（REGN1500-TX-14006）

本試験では、性成熟したカニクイザルにエビナクマブを SC 注射（10、30 又は 100 mg/kg）又は IV 低速ボーラス注射（100 mg/kg）で週 1 回、26 週間連続して投与した（合計 26 回投与）。同時対照群には、対照物質（処方溶媒）を同様のレジメンで IV 注射及び SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.E）。各群は雄 6 匹雌 6 匹とした。一部の動物（各群雄 4 匹雌 4 匹）を投与期間終了時（Day 183）に安楽死させ、残りの各群雄 2 匹雌 2 匹をさらに 13 週間飼育して所見の可逆性を評価し、回復期間の Day 92 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、獣医学的検査、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；体温、心拍数、呼吸数お及び血圧などの生理学的測定；呼吸器系（パルスオキシメトリー）、神経系（神経学的検査／筋骨格系検査）、心血管系（JET による ECG）など重要器官系の機能の安全性薬理評価；生殖系評価（精巣測定及び精液分析、月経周期）；臨床検査（血液、凝固、臨床化学及び尿）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見及び顕微鏡所見）、骨髄スメア評価。血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

薬剤を投与したすべての動物において、26 週間の投与期間を通して総エビナクマブの継続曝露が維持されており、13 週間の回復期間を通して、薬剤を投与したすべての動物（10 mg/kg 群の 1 匹を

除く）で検出可能な濃度の総エビナクマブが認められた。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は SC 投与後、投与期間を通してほぼ用量比例的に増加した。回復期間中に曝露量が比例を上回る増加を示したことは、低濃度では標的介在性のクリアランスであることを示唆する。週 1 回投与で 12 回投与後に定常状態に達した。

エビナクマブを投与した 48 匹中 5 匹で ADA 陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.3）。別の雌 2 匹では ADA の影響と一致した濃度-時間プロファイルがみられた。総エビナクマブの継続曝露は投与期間を通して継続したため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。PK パラメータ（ADA の影響があったデータを除く）及び ADA 反応を Table 13 に要約する。

Table 13: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 26 Weeks in the Cynomolgus Monkey (REGN1500-TX-14006)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)			
			10 (SC)	30 (SC)	100 (SC)	100 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	118	350	1090	2170
		5	318	888	3020	4570
		13	487	1450	4440	6950
		26	473	1620	5180	7070
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	11.8	11.7	10.9	21.7
		5	31.8	29.6	30.2	45.7
		13	48.7	48.2	44.4	69.5
		26	47.3	54.0	51.8	70.7
C_{trough}	µg/mL	1	100	310	906	815
		5	265	677	2560	2400
		13	363	1170	3660	4030
		26	387	1340	4430	4580
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	673	2040	6420	8030
		5	2000	5410	19300	21100
		13	2910	8950	28300	34800
		26	2940	10200	32800	37700
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	67.3	68.0	64.2	80.3
		5	200	180	193	211
		13	291	298	283	348
		26	294	340	328	377
ADA	NA	Overall[b]	5/12	0/12	0/12	0/12

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 7-day dosing interval.

[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic
Note: Concentrations likely impacted by ADA were excluded from TK analysis.

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、薬剤に関連する有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連した臨床検査値への影響は意図される薬理作用と一致しており、血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロール値の低下がみられた（Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.E）。回復期間終了時に、30 mg/kg 以下の SC 投与では低下した TG の完全な可逆性、100 mg/kg 以下の SC 投与では低下した HDL-C と総コレステロールの完全な可逆性がみられた。

最終安楽死時におけるエビナクマブに関連した解剖学的病理所見としては、SC 注射部位の皮下組織にごくわずかから軽度のリンパ球浸潤物がみられたのみであった。回復期安楽死時には所見はなかった。注射部位の病理所見が軽度で可逆的であったことから、これらの所見は有害ではないと判断された。

形態学的に成熟した雄の精巣では、精子形成サイクルステージが正常に進行し、細胞結合は正常で、正常な精子形成中の種々の段階は予想された割合（主観的）であった。エビナクマブ曝露は、精液サンプルの平均重量、総精子数、密度、精子の運動性（%）、形態又は精巣測定値に対する影響はなかった。

すべての雌は卵巣内の黄体（又はその残遺物）の存在、及び／又は子宮、膣、乳腺の顕微鏡的形態に基づき、十分に性成熟していると判断された。すべての雌は、卵巣の形態も月経の周期性も正常であり、エビナクマブによる月経周期に対する明らかな影響はみられなかった。

注目すべき所見を Table 14 に要約する。

Table 14: Noteworthy Findings from the 26-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Sexually-Mature Cynomolgus Monkey with a 13-Week Recovery Period (REGN1500-TX-14006)

Study Number/Study Duration/GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-14006 26 weeks (total of 26 doses) GLP	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC) 10, 30, or 100 (SC) or 100 (IV)	• No adverse effects noted, including no effects on reproductive endpoints • Consistent with the intended pharmacology, decreases in triglycerides, HDL-C, and total cholesterol were observed at all dose levels • Minimal to mild injection site reactions at SC injection sites at terminal sacrifice • NOAEL is 100 mg/kg/dose (IV and SC), the highest doses evaluated

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

要約すると、100 mg/kg 以下のエビナクマブを週 1 回、26 週間にわたって IV 注射又は SC 注射で投与したときの忍容性は良好であった。エビナクマブに関連した臨床検査値への影響は血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロールの低下であった。これらの変化は可逆的で、意図される薬理作用と一致していた。エビナクマブに関連した注射部位反応はごくわずかから軽度で、可逆的であり、有害ではないと判断された。総エビナクマブの継続曝露は、薬剤を投与したすべての動物で 26 週間の投与期間を通して維持された。有害作用がみられなかったため、NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と考えられる。

4. 遺伝毒性試験

ICH のガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（S6[R1], 2011）では、低分子医薬品について通常行われる標準的な遺伝毒性試験はバイオテクノロジー応用医薬品には該当しないとされている。エビナクマブなどのモノクローナル抗体は DNA 及び他の染色体物質と直接相互作用しないと予想される。したがって、遺伝毒性試験は実施しなかった。

5. がん原性試験

ICH S6（R1）ガイドラインに従い、エビナクマブについてがん原性試験は実施しなかった。他のモノクローナル抗体と同様に、エビナクマブと DNA や他の染色体物質との直接相互作用は予想されない。しかし、動物を用いたエビナクマブの毒性試験及び関連する文献に基づき、がん原性について科学的根拠の重要度評価を行った（Module 4.2.3.4.3 Carcinogenicity Risk Assessment of Evinacumab）。評価の結論は以下のとおりである：

- Sprague Dawley ラットとカニクイザルを用いた一般毒性試験では、エビナクマブ投与に直接関連する腫瘍性又は非腫瘍性増殖病変の発現率増加はなかった（サルでは 100 mg/kg を週 1 回、最長 6 ヵ月投与）。
- エビナクマブの投与で、腫瘍免疫監視機構を変化させる可能性のある、機能的に関連した免疫毒性は生じなかった。
- ANGPTL3 阻害の潜在的な生物学的作用に関する公表文献でも、ANGPTL3 阻害と腫瘍のイニシエーション（初発）、プロモーション（促進）、プログレッション（進展）の間に、機序に基づいた因果関係／標的に関連する因果関係を支持する文献はない。

さらに、これまでの臨床試験で腫瘍形成リスクは観察されていない。これらのデータは全体として、エビナクマブ投与により腫瘍のイニシエーション、プロモーション、プログレッションのリスクが増加しないことを示している。したがって、エビナクマブのがん原性を評価する非臨床試験を（動物を用いたがん原性試験も含めて）これ以上実施する必要はないと判断された。

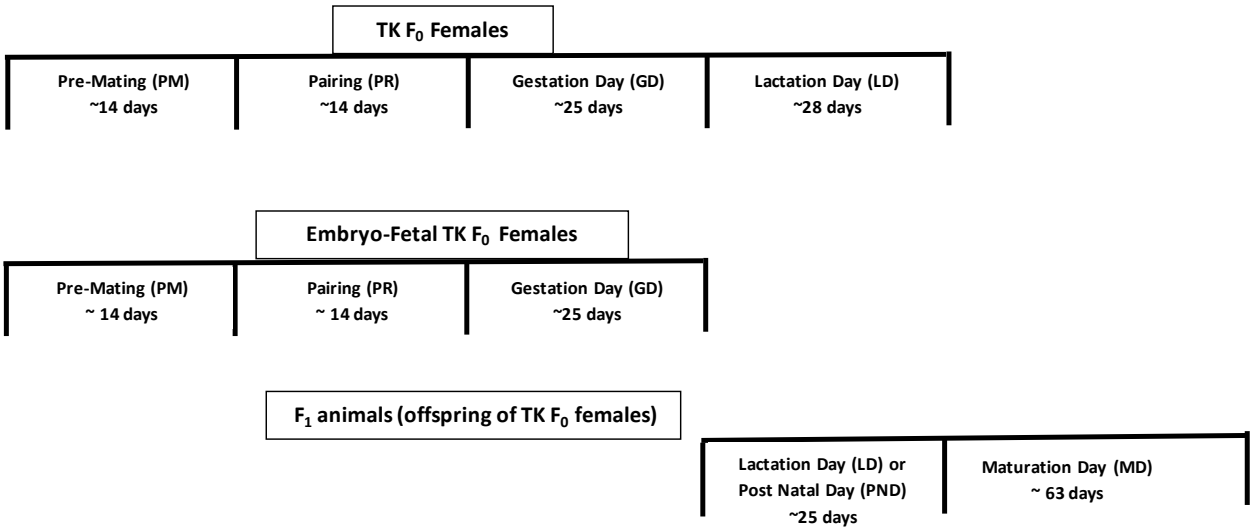
6. 生殖発生毒性試験

最高で 100 mg/kg までのエビナクマブをラットに投与し、雌の受胎能、胚・胎仔発生及び出生後発生に及ぼす影響を評価した。最高で 300 mg/kg までのエビナクマブをウサギに投与し、雄の受胎能及び胚・胎仔発生に及ぼす影響を評価した。トキシコキネティクスプロファイルを評価し、ADA 反応を解析した。バリデーション実施済みの ELISA でラットとウサギの血清中総エビナクマブ濃度を測定し、ADA 反応を抗ヒト IgG4 抗体ブリッジングイムノアッセイで検出した（Module 2.6.4 Section 2）。

6.1. Sprague Dawley ラットを用いた試験

6.1.1. エビナクマブを雌の Sprague Dawley に皮下投与し、雌の受胎能、着床までの初期胚発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する影響を評価した試験（R1500-TX-17096）

本試験では、妊娠ラット（F_0）にエビナクマブ 0、30 又は 100 mg/kg をペアリングの 2 週間前から 3 日毎に皮下投与し（Module 2.6.7 Table 2.6.7.11.A）、授乳日数（LD）21（毒性及び母動物 TK 群［合計 25 回投与］）又は妊娠日数（GD）21（胚・胎仔 TK 群［合計 17 回投与］）まで投与を継続した。仔（F_1）については離乳前まで発生のランドマーク及び成長を評価した。離乳時に F_1 の同腹仔あたり雄 2 匹雌 2 匹を選択し、成熟期間まで観察を継続した。試験の段階及び各段階のおよその期間を以下の概念図に示す。



F_0 母動物に対する毒性について、以下のパラメータを投与前及び投与期間中に評価した：病的状態及び生存状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化などの一般状態、臨床検査（脂質パネル）及び解剖学的病理検査（肉眼所見及び一部の臓器重量）。F_1 動物については、一般状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、発生ランドマーク（亀頭包皮分離又は膣開口）、精子の評価、月経の周

期性、FOB を評価した。F_1 の雌については妊娠期間中、一般状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化を評価した。F_0 雌と F_1 動物から血液試料を採取し、TK を評価した。

エビナクマブを投与した TK 群の F_0 雌のほとんどすべてで（18 匹中 16 匹）、投与期間を通して総エビナクマブの継続曝露が維持された。胚・胎仔 TK 群の F_0 動物では、すべての母ラットと胎仔で検出可能な濃度の総エビナクマブが認められた。また、すべてのプールした試料及び F_1 動物（TK 群の F_0 動物の仔）22 匹中 12 匹で、検出可能な濃度が認められた。

反復投与後、すべての投与群で全般的にエビナクマブの蓄積がみられた。C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）は、エビナクマブを投与したすべての動物で投与期間中、全般的に用量比例的に増加した。

ADA を解析した動物では、TK 群及び胚・胎仔 TK 群の F_0 動物の 8%（39 匹中 3 匹）で ADA 反応が陽性となった。しかし、この試験では試料採取方法として複合サンプリング法（n=3／時点、異なる採取時点で別動物を用いている）を用いていたことから、個別の ADA 陽性結果と総エビナクマブ濃度の急激な低下（ADA の影響と一致）の間の相関解析を行うことはできなかった。

平均複合 PK パラメータと ADA 反応を Table 15 に要約する。

Table 15: Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab in the Maternal Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17096)

Parameter	Units	Phase	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg) via SC Injection	
				30	100
C_{max}	µg/mL	PM	1	168	534
		GD	13	760	1070
		LD	20	428	1320
		LD	25	431	2020
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	PM	1	5.61	5.34
		GD	13	25.3	10.7
		LD	20	14.3	13.2
		LD	25	14.4	20.2
C_{trough}	µg/mL	PM	1	159	522
		GD	13	489	913
		LD	20	193	1150
		LD	25	182	NC
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	PM	1	362	1160
		GD	13	1520	2560
		LD	20	900	3530
		LD	25	1020	3980
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	PM	1	12.1	11.6
		GD	13	50.7	25.6
		LD	20	30.0	35.3
		LD	25	34.1	39.8
ADA (F_0 TK Animals)		Study Duration[b]		0/9	2/9
ADA (F_1 TK Animals)				1/14	8/8

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 3-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of animals with ADA-positive samples post dose/total animals assessed over the entire study duration
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Last concentration in a dosing interval; GD, Gestation day; LD, Lactation day; NC, Not calculated; PM, Pre-mating day; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic
Notes: There were no positive ADA responses in F_0 embryo-fetal TK animals (evaluated on GD 21 only). Pharmacokinetic parameters are derived from a composite sampling scheme (n = 3 rats/time point).

100 mg/kg 以下のエビナクマブを 3 日毎に SC 注射で投与したとき、忍容性は良好で試験中に薬剤に関連した死亡は生じなかった。F_0 世代では各群 2 匹の雌を全同腹仔損失で安楽死させ、100 mg/kg を投与した 1 匹を遷延妊娠のため安楽死させた。これらの損失は対照群を含めたすべての群でほぼ同率で生じたため、エビナクマブとの関連はないと判断された。

エビナクマブに関連する母動物に対する影響は、血清中 TG、HDL-C、LDL-C 及び総コレステロール値の低下であり、これらの変化は意図される薬理作用と一致していた。エビナクマブに関連した胎仔への影響及び出生後の有害作用はなかった。100 mg/kg を投与した F_1 動物では、薬剤に関連した統計的に有意な平均精子濃度の低下がみられた。しかし生殖指数に影響はなかったため、有害ではないと判断された。30 mg/kg 以上を投与した F_0 雌から生まれた F_1 動物では、エビナクマブに関連した血清中 TG、HDL-C、LDL-C 及び総コレステロールの低下が観察された。また、F_1 動物では、エビナクマブに関連した血清中脂質の低下が PND 14、21 及び／又は 35 にみられ、エビナクマブの薬理活性に関連していた。注目すべき所見を Table 16 に要約する。

Table 16: Noteworthy Findings from the Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study and Prenatal and Postnatal Development in Sprague Dawley Rats (R1500-TX-17096)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
R1500-TX-17096 2 weeks prior to pairing through LD 21 or GD 21[a] GLP	Sprague Dawley rat	0, 30, or 100 (SC)	Maternal: • Consistent with the intended pharmacology of evinacumab, lower serum triglycerides, HDL-C, LDL-C, and total cholesterol were observed in females that received ≥ 30 mg/kg evinacumab • Maternal NOAEL considered to be 100 mg/kg/dose Embryo-fetal: • Consistent with the intended pharmacology of evinacumab, lower serum triglycerides, HDL-C, LDL-C, and total cholesterol were observed in F_1 offspring of F_0 females that received ≥ 30 mg/kg evinacumab • Fetal NOAEL is considered to be 100 mg/kg/dose

[a] Doses were administered once every 3 days starting at 2 weeks prior to pairing. F0 females in the toxicity and TK cohorts were dosed through LD 21 (total of 25 doses), while F0 females in the embryo-fetal TK cohort were dosed through GD 21 (total of 17 doses). Males were not dosed.
GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; LD, Lactation day; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic

要約すると、最高で 100 mg/kg までのエビナクマブを 3 日毎に妊娠ラットに投与したとき、忍容性は良好であった。エビナクマブに関連した母動物及び胎仔に対する影響は、血清中 TG、HDL-C、LDL-C 及び総コレステロール値の低下のみであり、これらの変化は意図される薬理作用と一致していた。F_0 雌の大多数で投与期間を通して総エビナクマブの継続曝露が維持された。胚胎仔 TK F_0 動物のすべての胎仔、及び F_1 動物（F_0 動物の仔）の半数以上で、総エビナクマブが検出可能な濃度で認められた。受胎能、胚・胎仔発生、出生後発生で有害所見がなかったため、母動物と胎仔に対する NOAEL は、評価した最高用量である 100 mg/kg/dose（SC）と考えられる。

6.1.2. 妊娠 Sprague Dawley ラットを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14149）

本試験では、妊娠 Sprague Dawley ラットにエビナクマブ 0、5、10、30 又は 100 mg/kg を器官形成期中（GD 6～18。合計 5 回投与）、3 日毎に SC 注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.12.A）。主試験群には各群雌 22 匹、TK 群には各群雌 6 匹を用いた。すべての動物を GD 21 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前及び投与期間中に評価した：病的状態及び生存状態、母動物の定性的摂餌量、母動物の体重及び体重の変化などの一般状態；母動物の臨床検査（臨床化学）及び解剖学的（肉眼）病理検査、卵巣／子宮と同腹仔の検査、胎仔の評価（胎仔の体重、性別及び外表の異常）。血液試料（母動物の血液試料及び同腹仔の血液をプール）を採取して TK 評価と ADA 解析を行った。

TK 群の母動物 1 匹（5 mg/kg 群）を除いて、15 日間の投与期間を通して（GD 21 まで）総エビナクマブの継続曝露が維持されており、剖検時には、主試験群にエビナクマブ濃度のデータを入手できたすべての動物で検出可能な濃度が認められた。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は SC 投与後ほぼ用量比例的に増加した。

すべての母動物及び対応する胎仔のサンプルは ADA 陰性であった。濃度-時間プロファイルでは母動物 2 匹にいくらかの ADA 形成が示唆されたが、これらの動物でも継続曝露は維持されたため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。PK パラメータを Table 17 に要約する。

すべての投与群から得たすべてのラット同腹仔は、GD 21 に総エビナクマブへの全身曝露を示し、胎仔の平均総エビナクマブ濃度と母動物の平均総エビナクマブ濃度の比は、用量には依存していなかった（Table 18）。

Table 17: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg) via SC Injection			
			5	10	30	100
C_{max}	µg/mL	1	28.1	67.5	212	690
		5	35.2	58.5	164	995
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	5.61	6.75	7.08	6.90
		5	7.04	5.85	5.47	9.95
C_{trough}	µg/mL	1	28.1	67.5	134	690
		5	15.4	22.1	94.3	591
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	68.3	148	399	1580
		5	61.8	138	419	2370
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	13.7	14.8	13.3	15.8
		5	12.4	13.8	14.0	23.7

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 3-day dosing interval.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 3 days (dose 1) or approximately 3 days (dose 5) each dose; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic
Note: There were no positive ADA responses in maternal or pooled fetal samples from the TK or main study cohort.

Table 18: Summary of the Maternal and Fetal Total Evinacumab Concentration Ratios at Necropsy Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149)

Dose Level	Fetal/Maternal Total Evinacumab Concentration Ratios			
	Toxicokinetic Animals		Main Study Animals	
	Range	Mean	Range	Mean
5 mg/kg	0.190 – 0.846	0.502	0.314 – 1.34	0.647
10 mg/kg	0.342 – 0.787	0.619	0.129 – 1.19	0.474
30 mg/kg	0.0476 – 0.659	0.439	0.258 – 0.935	0.524
100 mg/kg	0.184 – 0.702	0.419	0.394 – 1.05	0.594

Notes: Ratios are presented as fetal concentration/maternal concentration. Fetal concentrations are from pooled litter samples.

主試験群でエビナクマブ 100 mg/kg を投与した動物 2 匹が、予定された帝王切開の前に GD 18 と GD 19 に死亡したが、いずれの動物についても具体的な死因は特定されなかった。主試験群の同じ別の動物は、流産後に GD 20 に安楽死させた。流産は偶発的で薬物には関連がないと判断された。死亡前の観察を Table 19 に要約する。

Table 19: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149)

Dose Level (mg/kg)	Day Found Dead or Euthanized	Findings/Observations
Found Dead		
100	GD 18	• Decreased food consumption • No other clinical findings, including body-weight change
100	GD 19	• Decreased food consumption • No other clinical findings, including body-weight change
Euthanized Early		
100	GD 20	• Decreased food consumption starting at GD 17–18 interval • No previous clinical signs, including body-weight change • Abortion considered incidental

GD, Gestation day

母動物に対するエビナクマブに関連する影響は、意図される薬理作用と一致しており、10 mg/kg 以上の投与で血清 TG の軽度から中等度の低下がみられた。

胎仔の検査では、エビナクマブに関連した外表、内臓又は骨格の有害な奇形はなかった。エビナクマブを投与した動物では対照動物に比べ二分骨化の発現率が高かった。ラットの二分骨化は正常な異型と考えられ、動物の全体的な健康に影響はないため、有害ではないと判断された。注目すべき所見を Table 20 に要約する。

Table 20: Noteworthy Findings from the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant Sprague Dawley Rat (REGN1500-TX-14149)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-14149 GD 6 through GD 18 (total of 5 doses)[a] GLP	Sprague Dawley rat	0, 5, 10, 30, or 100 (SC)	Maternal: • 2 deaths and 1 abortion of unknown relationship to evinacumab occurred in the 100 mg/kg group • Consistent with the intended pharmacology of evinacumab, mildly to moderately lower triglyceride concentrations on GD 10 and GD 21 at doses ≥ 10 mg/kg • Maternal NOAEL considered to be 30 mg/kg/dose Embryo-fetal: • Embryo-fetal developmental NOAEL is considered to be 100 mg/kg/dose

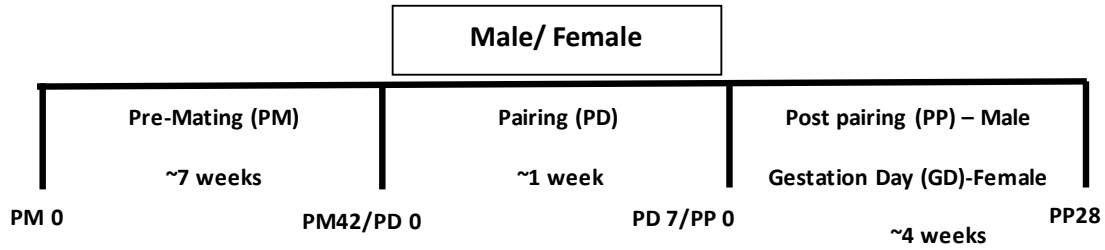
[a] Doses were administered every 3 days (GD 6, 9, 12, 15, and 18).
GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

要約すると、最高で 100 mg/kg までのエビナクマブを妊娠ラットに 3 日毎に投与したとき、忍容性は良好であった。母動物に対しエビナクマブに関連する影響は、血清 TG 値の低下のみであった。これらの変化は可逆的であり、意図される薬理作用と一致していた。エビナクマブに関連する胎児への影響はなかった。総エビナクマブの継続曝露は、動物の大多数で投与期間を通して維持された。高用量を投与した 2 匹で原因不明の早期死亡が生じたため、母動物の NOAEL は 30 mg/kg/dose である。出生した同腹仔に有害所見がなかったため、胚・胎仔発生 NOAEL は評価した最高用量である 100 mg/kg/dose と考えられる。

6.2. ニュージーランドホワイトウサギを用いた試験

6.2.1. 雄のニュージーランドホワイトウサギに静脈内投与し、受胎能及び着床までの早期胚発生に及ぼす影響を評価した試験（R1500-TX-17095）

本試験では、雄のニュージーランドホワイトウサギにエビナクマブを交配前 Day 0 から Day 40 まで 5 日毎に投与し、ペアリング Day 2 に投与し、ペアリング後 Day 1 から Day 26 まで 5 日毎に投与した（合計 16 回、いずれも静脈内投与）。用量は 0、100 又は 300 mg/kg であった（Module 2.6.7 Table 2.6.7.11.B）。未投与雌を交尾のみを目的として各群に割り当て、投与は行わなかった。雄はペアリング後 Day 27 に最終投与して、その後安楽死させ、交尾が確認された雌は GD 29 に安楽死させて帝王切開を行った。試験の段階及び各段階のおよその期間を以下の概念図に示す。



毒性について、以下のパラメータを交配前の期間及びペアリング後期間に評価した：病的状態及び生存状態、定性的摂餌量（雄のみ）、体重及び体重の変化、交尾の成功などの一般状態；臨床検査（臨床化学、凝固、血液及び尿）、テストステロン値、精液の分析（運動性、濃度、総精子数及び形態）、解剖学的病理検査（臓器重量、及び心臓、肝臓、腎臓の肉眼的評価と顕微鏡的評価）、卵巣／子宮と同腹仔の検査、胎仔の評価（胎仔の体重、外表、内臓及び骨格の異常［透明化した胎仔試料のアリザリンレッド染色など］）。早期死亡で剖検した動物の解剖学的病理検査では、可能な場合は臓器重量及び肉眼観察による病理組織の評価を行った。摂餌量減少の観察に基づき、過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色を使用して肝臓のグリコーゲンを評価した。血液試料（雌雄）と精漿サンプルを採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

100 mg/kg 群の 1 匹を除き、投与したすべての雄で投与期間を通して総エビナクマブへの継続曝露が認められた。評価した試料採取時点は 1 時点で（ペアリング後 Day 12；Day 60）、投与した雄の

91%の精液で検出可能な濃度の総エビナクマブが認められた。およそ対応する時点での血清中総エビナクマブ濃度に対する精漿中総エビナクマブの濃度（%）の中央値は全般的に約 0.6%であった。エビナクマブを投与した雄とペアリングした雌では、妊娠期間中いずれの試料採取時点でも血清中に検出可能な濃度の総エビナクマブは検出されなかった。

薬剤を投与した動物の 21%（39 匹中 8 匹）で ADA 陽性となった。ADA 陽性は、100 mg/kg 群では 5 匹中 4 匹、300 mg/kg 群では 3 匹中 1 匹において濃度の急激な低下と相関していた。有害事象のため早期に安楽死させた雄 6 匹では、100 mg/kg 群の 3 匹中 3 匹、300 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹で ADA が陽性となった。総エビナクマブ濃度-時間プロファイルの視覚的解析では、ADA 反応と一致した濃度の急激な低下は、ADA 陰性であり有害事象のため早期に安楽死させた 300 mg/kg 群の 1 匹でもみられた。

C_{max} と曝露量（AUC_{tau}）は、いずれの投与群でも投与期間中、用量比例的に増加した。反復投与後は両投与群で蓄積がみられた。平均 PK パラメータと ADA 反応を Table 21 に要約する。

Table 21: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous Injections of Evinacumab in the Male New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17095)

Parameter	Units	Phase	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg) via IV Injection	
				100	300
C_{max}	µg/mL	PM	1	3010	7830
		PP	15	4830	14800
		PP	16	5000	11100
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	PM	1	30.1	26.1
		PP	15	48.3	49.4
		PP	16	50.0	36.9
C_{trough}	µg/mL	PM	1	948	2830
		PP	15	3240	8250
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	PM	1	6800	20600
		PP	15	20700	55100
		PP	16	NC	NC
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	PM	1	68.0	68.6
		PP	15	207	184
		PP	16	NC	NC
ADA		Study Duration[b]		5/20	3/19

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 5-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the treatment period
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Last concentration in a dosing interval; IV, Intravenous; NC, Not calculated; PM, Pre-mating

day; PP, Post pairing phase
Note: Mean pharmacokinetic values are calculated on pooled animal data.

交配前の投与期間中、100 mg/kg/日を投与した雄 3 匹及び 300 mg/kg/日を投与した雄 3 匹を瀕死状態のため安楽死させた。100 mg/kg 群の 3 匹中 3 匹、300 mg/kg 群の 3 匹中 2 匹が ADA 陽性であった。ADA 陰性であった 300 mg/kg 群の 1 匹では、ADA 反応に一致した濃度の急激な低下がみられた。これらの動物における臨床所見及び肉眼所見を Table 22 に要約する。これらの動物の一般状態及び ADA の高い発現率に基づき、これらの予定外の死亡は ADA に関連した炎症反応の結果と判断された。

Table 22: Summary of Unscheduled Sacrifices in the Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study of Evinacumab in the New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17095)

Dose Group (mg/kg)	Animal Number	Day of Sacrifice (Premating Day)	Clinical Observations	Macroscopic Observations at Necropsy
100	B0108	30	• Pale eye color, barrel rolling, whole body convulsions of < 1 minute, lateral recumbent behavior, irregular and labored respiration, and purple discoloration of ears	• Bilateral yellow discolored sclera of the eye, blue discolored spleen, tan gelatinous testes, while gelatinous abnormal stomach contents, and cyst on the liver
	B0111	12	• Black testes on premating days 10 and 12	• Dark red fluid in the trachea, dark red epididymis, uncollapsed lung lobes, very dark brown fluid in urinary bladder, dark red pinpoints in the cortex of the kidney, black scrotum, and large spleen
	B0116	40	• Decreased activity and paddling and lateral recumbent behavior	• Uncollapsed lungs
300	B0209	14	• Absent feces and urine, purple discolored eyes, irregular respiration, purple ears, red scrotum, and warm to the touch ears	• Red semifluid in the trachea, red discolored epididymis, uncollapsed lung lobes, dark red eyelid, dark red discolored ears, red discolored sclera of the eye, and red discolored skin
	B0207	26	• Decreased activity, colorless eye discharge, pale conjunctiva, squinting eyes, rough hair coat, thin appearance, and/or purple discolored testes	• Abnormal shape of vas deferens, tan gelatinous testis, and brown discolored epididymis head
	B0203	27		• Tan gelatinous testes and large kidney

その他の動物では、エビナクマブを 5 日毎に IV 注射で 11 週間投与したときの忍容性は良好であった。試験終了時には、300 mg/kg を投与した雄では対照動物に比べ、平均体重（8.7%）、平均体重増加（22.1%）、摂餌量（12.9%）が少なかった。しかし、投与開始前でも対照群の動物は 300 mg/kg 群の動物より統計的に有意に体重が重かったため（投与前 Day 8 に 8.2%）、試験終了時にみられた体重の差と被験物質との関連は不明と考えられ、また変化の程度がごくわずかであった

ため、有害ではないと判断された。臨床検査パラメータに対するエビナクマブ関連の影響は、血清中 TG 濃度の低下（意図される薬理作用と一致）、総タンパク質濃度とグロブリン濃度の上昇、及びアルブミン：グロブリン比の低下などであった。

100 mg/kg 又は 300 mg/kg を投与した動物では対照動物に比べ、心臓の絶対重量（それぞれ 17.0%、26.9%）、体重に対する心臓重量（16.5%、19.7%）、脳重量に対する心臓重量のパーセンテージ（15.6%、24.1%）が有意に低かった。心臓重量の差に関連した有害な一般状態はなく、相関する肉眼的所見も顕微鏡所見もなかった。さらに、エビナクマブを投与した動物の大多数で心臓重量は既存対照の範囲内であり、心臓重量の比の範囲は同様の年齢のウサギの範囲内であったため、これらの所見は有害ではないと判断された。

100 mg/kg 以上を投与した雄の肝臓では、薬剤に関連する所見としてグリコーゲンのごくわずかからわずかな増加、ごくわずかから中等度の小葉中心空胞化などがみられた。肝臓のグリコーゲン増加と小葉中心空胞化は程度が小さく、肝細胞障害の臨床検査所見や組織病理学的所見もなかったため、有害ではないと判断された。

腎臓の顕微鏡観察としては、100 mg/kg 以上を投与した雄でごくわずかな尿細管好塩基球増加症／再生及び尿細管拡張、わずかから中等度の間質性腎炎、PAS 染色の発現率又は程度の増加、100 mg/kg を投与した雄でごくわずかから中等度のメサンギウム増殖性糸球体腎炎などがみられた。中等度のメサンギウム増殖性糸球体腎炎は 100 mg/kg 群の動物において早期死亡に至った瀕死状態（ADA 関連炎症反応による）に寄与するため、本試験の条件下で 100 mg/kg を投与した本動物種におけるメサンギウム増殖性糸球体腎炎は有害と判断された。著明な間質性腎炎は 300 mg/kg 群の 1 匹で瀕死状態（ADA 関連炎症反応のため）の原因と考えられるため、300 mg/kg を投与した動物における間質性腎炎は有害と判断された。

交配、受胎能及び繁殖指数に対しては薬剤に関連する影響はなかった。精子の運動性、濃度及び尾側精巣上体の重量に対しても薬剤に関連する影響はなかった。

300 mg/kg を投与した雄と交尾した未投与雌の胎仔で、第 15 尾椎の未骨化が統計的に有意に増加した。尾椎の未骨化は一般的にみられる多様性で生存に有害な影響はないと判断されたため（DeSesso, 2018）、この所見は有害ではないと判断された。特に、透明化した胎仔ウサギ試料の残遺骨格をアリザリンレッド染色して評価したところ、すべての動物で第 15 尾椎の位置の下に骨前駆体（軟骨モデリング）が存在していた。仔に催奇形性作用はなかった。注目すべき所見を Table 23 に要約する。

Table 23: Noteworthy Findings from Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study of Evinacumab in the New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17095)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
R1500-TX-17095 Premating Day 0 through Post Pairing Day 26 (total of 16 doses)[a] GLP	New Zealand White rabbit	0, 100, or 300 (IV)	• 6 males (3 in each of the 100 and 300 mg/kg groups) were sacrificed early in moribund condition due to an ADA-related inflammatory response • Decreased serum triglyceride levels were consistent with the pharmacology of evinacumab • Statistically significant decreases in heart weight were not associated with adverse histological findings • Non-adverse, evinacumab-related microscopic observations in the liver • Adverse, evinacumab-related microscopic observations in the kidney • No evinacumab-related effects on mating, fertility, or sperm assessments • Evinacumab was detected in semen fluid • Non-adverse, evinacumab-related unossified caudal vertebra from the offspring of naïve females mated with treated males • Based on the severe drug-related clinical observations resulting in early sacrifice and kidney histopathology findings of males in the 100 and 300 mg/kg groups, a NOAEL for males could not be determined • NOAEL for mating and fertility is considered to be 300 mg/kg

[a] Doses were administered every 5 days from Premating Days 0 through 40, on Pairing Day 2, and continuing on Post Pairing Days 1 through 26 (total of 16 doses).
GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level

要約すると、最高で 300 mg/kg までのエビナクマブを投与したとき、交配、受胎能又は精子の評価に薬剤に関連する影響はなかった。動物の大多数で投与期間を通して総エビナクマブの継続曝露が維持された。投与した雄の精液サンプルではエビナクマブが検出されたが、これらの雄と交尾させた未投与雌では検出可能なエビナクマブは認められなかった。100 mg/kg 以上を投与した動物では、エビナクマブの薬理作用に関連したごくわずかから軽度の非進行性の臨床化学所見がいくつかみられた。エビナクマブに関連した顕微鏡観察は、各用量で腎臓と肝臓のみにみられた。投与した雄と交尾させた未投与雌の仔でエビナクマブに関連した尾椎の未骨化が生じたが、有害ではないと判断された。数匹で ADA を介した炎症反応に起因する重度の一般状態が認められたため、雄に対する毒性の NOAEL は決定できなかった。しかし、交配と受胎能に対する影響はなかったため、交配と受胎能の NOAEL は 300 mg/kg と考えられる。

6.2.2. 妊娠ニュージーランドホワイトウサギを用いたエビナクマブの非ピボタル用量範囲設定胚・胎仔発生試験（REGN1500-TX-14016）

本試験では、交配が確認された雌ニュージーランドホワイトウサギ（各群 6 匹）にエビナクマブ 10、30 又は 100 mg/kg（SC）及び 100 mg/kg（IV）を 5 日毎に投与した（GD 7、12 及び 17。合計 3 回投与）（Module 2.6.7 Table 2.6.7.10）。すべてのウサギを GD 29 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前及び投与期間中に評価した：病的状態及び生存状態、母動物の定性的摂餌量、母動物の体重及び体重の変化などの一般状態；母動物の臨床検査（血液、凝固及び臨床化学）、解剖病理検査（肉眼検査）、卵巣／子宮と同腹仔の検査、胎仔の評価（胎仔の体重、性別、外表及び軟組織の異常）。母動物の血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

エビナクマブを投与した 24 匹中 11 匹で ADA 反応が陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.2）。ADA がエビナクマブ濃度に及ぼす影響は主に 10 mg/kg 投与群にみられ、30 mg/kg 群ではそれより低い程度でみられた。

総エビナクマブの継続曝露は、100 mg/kg を投与した動物ではすべての動物、30、10 mg/kg を投与した動物でそれぞれ 6 匹中 5 匹、6 匹中 2 匹で GD 22 まで維持された。GD 27 まで検出可能な濃度が認められた動物は、10、30 及び 100 mg/kg SC 群でそれぞれ 6 匹中 0 匹、6 匹中 2 匹、6 匹中 5 匹、100 mg/kg IV 投与群で 6 匹中 6 匹であった。

いずれの用量においても C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、SC 投与後、ほぼ用量比例性を上回る増加を示した。これは低用量では ADA の程度が大きかったことを反映すると考えられる。PK パラメータ（ADA の影響を受けたデータを除く）及び ADA 反応を Table 24 に要約する。

Table 24: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab (Total of 3 Doses) in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg)			
			10 (SC)	30 (SC)	100 (SC)	100 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	63.9	259	1020	4040
		3	101	428	1560	5780
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	6.39	8.64	10.2	40.4
		3	10.1	14.3	15.6	57.8
C_{trough}	µg/mL	1	38.3	250	1000	999
		3	0.701	85.2	1010	897
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	216	1020	3890	8270
		3	255	1360	6650	13400
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	21.6	34.0	38.9	82.7
		3	25.5	45.3	66.5	134
ADA	NA	Overall[b]	5/6	4/6	1/6	1/6

[a] AUC_{tau} reflects the AUC over the 5-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 120 hours post dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous
Note: ADA-impacted concentrations were excluded from toxicokinetic analysis.

母動物ではいずれの用量でも、エビナクマブに関連した死亡又は一般状態はなかった。母動物では体重増加にわずかな変動がみられたが、ばらつきが大きく各群の動物数が少なかったため（6匹）、薬剤投与に起因すると結論付けることはできない。意図される薬理作用と一致して、すべての投与群で血清中 TG、HDL-C 及びコレステロール値が低下した。

注目すべき所見を Table 26 に要約する。すべてのエビナクマブ投与群で着床後胚損失率が上昇し、これに付随して同腹仔あたりの平均後期吸収数の増加、平均同腹仔数の減少及び生存胎仔の減少がみられた。胎仔の検査では、エビナクマブを投与したすべての群でドーム頭、前足の屈曲及び脳側室の拡張がみられ、対照群ではこれらの観察はなかった（Table 25）。短い四肢、小さな体幹及び小さな肺も低い発現率で観察された。さらに、平均胎仔体重は対照と比べ低値であった。

Table 25: Incidence of Fetal Alterations and Litter Observations of Domed Head, Ventricular Dilation, and Flexed Forepaws in the Nonpivotal Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016)

Alterations and Observations	**Evinacumab Dose (mg/kg)**				
	0 IV/SC	**10 SC**	**30 SC**	**100 SC**	**100 IV**
Total pregnant rabbits (n)	5	5	6	5	5
Total # of live fetuses evaluated	60	49	52	49	46
Fetuses with domed head (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	1 (2.0%)	11 (21.2%)	3 (6.1%)	2 (4.3%)
Fetuses with domed head (litter incidence), n (%)	0 (0%)	1 (20.0%)	3 (50.0%)	2 (40.0%)	1 (20.0%)
Fetuses with ventricular dilation brain (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	6 (12.2%)	12 (23.0%)	7 (14.3%)	3 (6.5%)
Fetuses with ventricular dilation brain (litter incidence), n (%)	0 (0%)	2 (40.0%)	3 (50.0%)	2 (40.0%)	2 (40.0%)
Fetuses with flexed paws (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	1 (2.0%)	2 (3.8%)	4 (8.2%)	0 (0%)
Fetuses with flexed paws (litter incidence), n (%)	0 (0%)	1 (20.0%)	2 (33.3%)	3 (60.0%)	0 (0%)
Fetal weights (grams; mean ± SD)	40.4 ± 1.8	37.2 ± 1.7	38.3 ± 3.7	36.1 ± 6.1	36.5 ± 5.6
% Post implantation loss (mean ± SD)	4.5 ± 6.3	13.6 ± 21.8	17.1 ± 17.5	14.3 ± 21.1	4.4 ± 9.9
Average litter size (mean ± SD)	12.0 ± 2.5	9.8 ± 2.4	8.7 ± 2.8	9.8 ± 2.9	9.2 ± 3.1

IV, Intravenous; n, Number of fetuses or litters; SC, Subcutaneous; SD, Standard deviation

Table 26: Noteworthy Findings from the Nonpivotal Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14016)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	**Species**	**Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)**	**Noteworthy Findings**
REGN1500-TX-14016 GD 7 through GD 17 (total of 3 doses)[a] GLP	New Zealand White rabbit	0 (IV/SC), 10, 30, or 100 (SC) or 100 (IV)	• Consistent with the intended pharmacology, decreases in triglycerides, HDL-C, and total cholesterol were observed at all dose levels • Increases in percentages of post implantation loss, with associated increases in mean number of late reabsorptions per litter, decreases in mean litter size, and live fetuses • Reductions in mean fetal body weights observed in all dose groups • Increases in the incidence of domed heads, corresponding to slight to extreme dilation of the lateral ventricles in the brain • Increases in the litter incidence of flex forepaws in all SC dose groups and a low incidence of short limbs, short trunk, and small lungs at 30 and/or 100 mg/kg/dose SC

[a] Doses were administered every 5 days (GD 7, 12, and 17).

GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; SC, Subcutaneous

要約すると、最高で 100 mg/kg までのエビナクマブを SC 又は IV 注射で 5 日毎に投与したとき、母動物に対する毒性と有害な催奇形性が生じた。エビナクマブに関連する臨床検査値への作用としては、ADA の影響を受けない動物で血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロール値が用量非依存的に低下したのみであり、これらの変化は意図される薬理作用と一致していた。曝露量に影響を及ぼす ADA 陽性反応は主に 10 mg/kg 投与群にみられ、これより程度は低いが 30 mg/kg 群にもみられた。総エビナクマブの継続曝露は、30 mg/kg 以上を投与した動物の大多数で GD 22 まで維持された。有害作用の観察に基づき、ウサギを用いた GLP 胚・胎仔毒性の本試験で使用する用量として 5、10 及び 30 mg/kg/dose の IV 投与を選択した（Section 6.2.3，REGN1500-TX-14092）。

6.2.3. 妊娠ニュージーランドホワイトウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14092）

本試験では、交配が確認された雌ニュージーランドホワイトウサギにエビナクマブ 0、1、5、10 又は 30 mg/kg を SC 注射で 3 日毎に（GD 7、10、13、16 及び 19。合計 5 回投与）投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.12.B）。すべてのウサギを GD 29 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前及び投与期間に評価した：病的状態及び生存状態、母動物の定性的摂餌量、母動物の体重及び体重の変化などの一般状態；母動物の臨床検査（脂質パネル）及び解剖病理検査（肉眼検査）、卵巣／子宮と同腹仔の検査、胎仔の評価（胎仔の体重、性別、外表、軟組織及び骨格の異常）。母動物及び胎仔の血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

エビナクマブを投与した 80 匹中 70 匹で ADA 反応が陽性となり、陽性発現率は 10 mg/kg 以下を投与した動物で最も高かった（Module 2.6.4 Section 7.2）。ADA 陽性動物の 97%（70 匹中 68 匹）では、初回投与後と比べ反復投与後では ADA 陽性とエビナクマブ濃度低値が相関していた。さらに、1 mg/kg 又は 5 mg/kg を投与した母動物から生まれたすべての胎仔由来の血清において、実質的に曝露に影響を及ぼしている可能性がある ADA 陽性反応がみられた。10 mg/kg を投与した 16 匹中 13 匹、30 mg/kg を投与した 10 匹中 6 匹の母動物から生まれた胎仔では、大多数が ADA 陽性であった。

30 mg/kg を投与した動物の大多数で（1 mg/kg 群で 18 匹中 0 匹、5 mg/kg 群で 20 匹中 2 匹、10 mg/kg 群で 19 匹中 8 匹、30 mg/kg 群中 19 匹中 16 匹）GD 22 まで総エビナクマブの継続曝露が維持された。GD 29 までに検出可能な濃度が認められた動物は、10 mg/kg 群で 20 匹中 2 匹、30 mg/kg 群で 19 匹中 10 匹のみであった。

GD 29 には、1 mg/kg を投与した 14 匹中 0 匹、5 mg/kg を投与した 18 匹中 0 匹、10 mg/kg を投与した 16 匹中 3 匹、及び 30 mg/kg を投与した 10 匹中 7 匹の母動物の胎仔で、エビナクマブが検出可能であった。1 mg/kg 群と 5 mg/kg 群では、すべての胎仔で濃度は定量下限未満（BLQ）であった。

10 mg/kg 群と 30 mg/kg 群では、胎仔血清中の平均エビナクマブ濃度は典型的には各母動物血清中の濃度以上であった。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、ほぼ用量比例性を上回る増加を示した。これは低用量投与の低い濃度では ADA の程度が大きかったことを反映すると考えられる。PK パラメータと ADA 反応を Table 27 に要約する。

Table 27: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 3 Days Subcutaneous Injection of Evinacumab (Total of 5 Doses) in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg) via SC injection			
			1	5	10	30
C_{max}	µg/mL	1	0.448	13.6	60.2	264
		5	0.0128	0.201	23.1	297
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	0.448	2.72	6.02	8.78
		5	0.0128	0.0402	2.31	9.91
C_{trough}	µg/mL	1	0.388	11.6	59.8	264
		5	BLQ	BLQ	BLQ	191
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	1.02	28.0	122	501
		5	0.0156	0.225	61.5	732
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	1.02	5.60	12.2	16.7
		5	0.0156	0.0450	6.15	24.4
ADA	NA	Overall[b]	19/20	20/20	18/20	13/20

[a] AUC_{tau} represents the AUC over the 3-day dosing interval
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 3 days post dose; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous

すべての用量で脂質値にエビナクマブに関連した影響がみられた。投与開始前のベースラインと比べ、GD 10 では血清中 TG（10、30 mg/kg）、HDL-C（すべての群）、及び総コレステロール（5 mg/kg 以上）の値が低下した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.12.B）。

1 mg/kg 以上のすべての用量で、母動物でエビナクマブに関連した毒性が生じ、早期死亡、早産、及び／又は流産、並びに一般状態、母動物の体重増加と母動物の平均摂餌量に対する影響などが観察された。いずれの用量でも母動物に肉眼的病変はなかった。母動物の早期の死亡について Table 28 に要約する。

Table 28: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092)

Dose Level (mg/kg)	Day Found Dead or Euthanized	Findings/Observations
Found Dead		
30	GD 22	• Scant feces on GD 18 • Ungroomed coat on GD 18 through GD 21 • Lost 0.59 kg (15% body weight) between GD 11 and GD 21, and food consumption was ≤ 7 g/day on GD 15 through GD 21 • All tissues appeared normal at necropsy • Litter consisted of 11 late resorptions
Euthanized Early		
1	GD 22	• Euthanized following abortion
	GD 22	
	GD 25	
5	GD 29	• Euthanized following delivery
10	GD 21	• Euthanized following abortion
30	GD 23	• Euthanized following abortion
	GD 23	
	GD 24	
	GD 28	
	GD 29	• Euthanized following delivery
	GD 29	

GD, Gestation day

5 mg/kg 以上の用量で、エビナクマブに関連して胎仔平均体重が減少した。10 mg/kg 以上ではエビナクマブに関連して平均同腹仔数と生存胎仔が減少し、同時に平均吸収と着床後胚損失率が上昇した。エビナクマブに関連した胎仔の変化と同腹仔の観察（Table 29）について以下に記述する。

- 10 mg/kg と 30 mg/kg では対照と比べ、外見の肉眼検査でドーム頭の発現率が上昇した。この観察は、側脳室及び第三脳室の中等度又は極端な拡張と相関しており、骨の不完全な骨化（頭頂部［一部には穴がみられた］、頭頂骨間、前頭及び上後頭骨）など、頭蓋で種々の不規則な骨化所見及び、前泉門と後泉門の拡大を伴っていた。5 mg/kg では胎仔 191 匹中 1 匹が無頭であった。
- 10、30 mg/kg で複数の胎仔に前足の下向きの屈曲がみられ、5 mg/kg でも胎仔 1 匹に観察された。さらに、5 mg/kg 以上では骨化中手骨の平均数が減少した。前足の屈曲は、対照群（延長試験）では 1 匹（同腹仔での発現率は 5%）のみであったが、30 mg/kg 投与群では同腹仔での発現率は 30%であった。

- 10、30 mg/kg で胎仔に同時にみられたエビナクマブに関連したその他の異常は、小さい舌；口蓋裂（口蓋の不完全な骨化と相関）；前足の屈曲；脊柱側弯症、頚椎の弓の不完全な骨化、及び脊柱の弓の不整合などであった。

1 mg/kg では卵巣／子宮の検査又は同腹仔の観察にエビナクマブに関連する影響はなく、外表、軟組織又は骨格にエビナクマブに起因する肉眼的異常はなかった。

注目すべき所見を Table 30 に要約する。

Table 29: Incidence of Fetal Alterations and Litter Observations in the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092)

Alterations and Observations	**Evinacumab Dose (mg/kg)**					
	0 IV/SC[a]	**0 SC [b] (Extension)**	**1 SC**	**5 SC**	**10 SC**	**30 SC**
Total # pregnant rabbits evaluated	19	20	19	19	20	20
Total # of maternal deaths	0	0	0	0	0	1
Total # of spontaneous abortions	0	0	3	0	1	4
Total # early deliveries	0	0	0	1	0	2
Total # of litters evaluated	19	20	14	18	17	10
Total # of live fetuses evaluated	193	197	156	190	160	91
Fetuses with domed head (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	1 (0.5%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (3.1%)	18 (19.8%)**
Fetuses with domed head (litter incidence), n (%)	0 (0%)	1 (5.0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (23.5%)	6 (60.0%)**
Fetuses: ventricular dilation brain (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (3.8%)[c]	22 (24.1%)[d]
Fetuses: ventricular dilation brain (litter incidence), n (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (23.5%)[e]	7 (70%)[f]
Fetuses with flexed paws (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	1 (0.5%)	0 (0%)	1 (0.5%)	2 (1.2%)	5 (5.5%)**
Fetuses with flexed paws (litter incidence), n (%)	0 (0%)	1 (5.0%)	0 (0%)	1 (5.6%)	1 (5.9%)	3 (30.0%)**
Fetuses with cleft palate (fetal incidence), n (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.6%)	3 (3%)**
Fetuses with cleft palate (litter incidence), n (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5.9%)	1 (10.0%)
Skull irregular ossification (fetal incidence), n (%)	2 (1.0%)	8 (4.1%)	2 (1.3%)	1 (0.5%)	5 (3.1%)	20 (22.0%)**
Skull irregular ossification (litter incidence), n (%)	2 (10.5%)	5 (25.0%)	2 (14.3%)	1 (5.6%)	3 (17.6%)	6 (60.0%)**
Fetal weights (grams; mean ± SD)	39.4 ± 4.3	39.0 ± 7.5	38.5 ± 4.7	36.4 ± 3.8	34.7 ± 6.7*	35.7± 4.7
% Post implantation loss (mean ± SD)	5.1 ± 8.9	5.3 ± 6.5	13.7 ± 33.8	6.5 ± 11.4	20.0 ± 29.9	39.8 ± 38.7**
Average litter size (mean ± SD)	10.2 ± 2.4	9.9 ± 2.8	9.8± 4.4	10.6 ± 2.7	8.5± 3.8	7.1 ± 4.8

* Significantly different from the control group value ($p \leq 0.05$).

** Significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$).
[a] Control group used for comparison against the 5, 10, and 30 mg/kg dose groups.
[b] Control group used for comparison against the 1 mg/kg dose group.
[c] Total fetal incidences consisting of 5 (3.1%) extreme ventricular dilations and 1 (0.6%) moderate ventricular dilations.
[d] Total fetal incidences consisting of 16 (17.6%) extreme ventricular dilations and 5 (5.5%) moderate ventricular dilations; both extreme and moderate instances were significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$).
[e] Total litter incidences consisting of 4 (23.5%) extreme ventricular dilations and 1 (5.9%) moderate ventricular dilations; litter incidence of extreme dilations is significantly different from the control group value ($p \leq 0.05$).
[f] Total litter incidences consisting of 4 (40.0%) extreme ventricular dilations and 4 (40.0%) moderate ventricular dilations; both of which are significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$).
IV, Intravenous; n, Number of fetuses or litters; SC, Subcutaneous; SD, Standard deviation

Table 30: Noteworthy Findings from the Definitive Embryo-Fetal Development Study of Evinacumab in the Pregnant New Zealand White Rabbit (REGN1500-TX-14092)

Study Number/ Study Duration/ GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
REGN1500-TX-14092 GD 7 through GD 19 (total of 5 doses)[a] GLP	New Zealand White rabbit	0 (IV/SC and SC), 1, 5, 10, or 30 (SC)	Maternal: • Maternal toxicity apparent at all dose levels, consisting of early deaths, premature deliveries, and/or abortions, as well as clinical signs and changes in body weight and food consumption • Maternal NOAEL not determined Embryo-fetal: • Reductions in mean fetal body weights observed at all dose levels • Reductions in mean litter sizes and live fetuses, with concurrent increases in mean resorptions and percentages of post implantation loss at ≥ 10 mg/kg • Fetal alterations and litter observations observed at ≥ 5 mg/kg included: – domed heads, correlated with moderate or extreme dilation of the lateral and third ventricles of the brain, a variety of irregular ossification findings in the skull, and enlarged anterior and posterior fontanelles (≥ 10 mg/kg) – downward flexed forepaws and reductions in mean number of ossified metacarpals (≥ 5 mg/kg) – small tongue, cleft palates, flexed forepaws, scoliosis, incompletely ossified arches in cervical vertebra, and misaligned arches in vertebral column (≥ 10 mg/kg) • Embryo-fetal developmental NOAEL considered to be 1 mg/kg/dose

[a] Doses were administered every 3 days (GD 7, 10, 13, 16, and 19).
GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

要約すると、30 mg/kg 以下の SC 注射によるエビナクマブ投与では、すべての用量で母動物に対する毒性がみられ、1 mg/kg 超で有害な催奇形性が生じた。ADA の影響を受けなかった動物では、用量とは関連なく血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロールがエビナクマブに関連して低下し、意

図される薬理作用と一致していた。すべての用量で、動物の大多数が ADA 陽性となった。総エビナクマブへの継続曝露は 30 mg/kg を投与した動物の大多数で GD 22 まで維持されたが、30 mg/kg 未満の投与では継続しなかった。有害所見がみられたため、母動物の NOAEL は確立できず、胎仔 NOAEL は 1 mg/kg/dose と考えられる。

7. 幼若動物を用いた試験

幼若ラットに最高で 100 mg/kg まで、幼若ウサギに最高で 300 mg/kg までのエビナクマブを投与して評価した。トキシコキネティクスプロファイルを評価し、ADA 反応を解析した。ラット及びウサギ血清中の総エビナクマブ濃度をバリデーション実施済みの ELISA で測定し、ADA 反応を抗ヒト IgG4 抗体ブリッジングイムノアッセイで検出した（Module 2.6.4 Section 2）。

7.1. 幼若 Sprague Dawley ラットを用いた試験

7.1.1. 幼若 Sprague Dawley ラットに静脈内注射又は皮下注射した毒性試験（R1500-TX-17094）

本試験では、幼若 Sprague Dawley ラットにエビナクマブを SC 注射（0、30 又は 100 mg/kg）又は IV 低速ボーラス注射（100 mg/kg）で PND 21 から PND 84 まで週 1 回投与した（合計 10 回投与）（Module 2.6.7 Table 2.6.7.14.A）。各群は雄 30 匹雌 30 匹とし、一部の動物（各群雄 20 匹雌 20 匹）を PND 85 に安楽死させ、残りの各群雄 10 匹雌 10 匹を回復期間として、さらに少なくとも 56 日間飼育した。TK 群には対照物質とエビナクマブを同等のレジメンで投与し、動物は回復期間終了時に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；発生のランドマーク（亀頭包皮分離又は膣開口）、神経行動パラメータ（聴覚性驚愕反応、FOB 評価、運動能及び Biel 型水迷路実験）；臨床検査（血液、凝固、血清化学、尿及び脂質解析）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見、顕微鏡所見及び神経病理）。投与期間及び回復期間を通して血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

TK 動物では 1 匹を除いて、すべての動物で総エビナクマブへの継続曝露が投与期間を通して維持された。エビナクマブを投与した動物では 95%（54 匹中 51 匹）で、8 週間の回復期間を通して総エビナクマブの検出可能な濃度が認められた。血清中総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

用量で正規化した C_{max} 値は、SC 投与 1 回後と 10 回後でほぼ同じであった。反復投与後はすべての投与群で蓄積がみられた。

SC 投与後の曝露量（AUC_{tau}）は、投与期間中、用量比例的であった。回復期間終了時には非線形の消失が軽度にみられたが、標的介在性のクリアランスによるものと考えられた。

エビナクマブを投与した 54 匹中 3 匹で ADA 反応が陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.1）。投与期間を通して動物の大多数で総エビナクマブの曝露が認められたため、ADA の存在が安全性評価に影響を及ぼすことはなかった。PK パラメータと ADA 反応を Table 31 に要約する。

Table 31: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Weekly Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab for 10 Weeks in the Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg/week)		
			30 (SC)	100 (SC)	100 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	145	475	1120
		10	409	1560	3570
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	4.82	4.75	11.2
		10	13.6	15.6	35.7
C_{trough}	µg/mL	1	73.5	206	357
		10	329	1310	1260
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	732	2230	3540
		10	2620	9620	13200
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	24.4	22.3	35.4
		10	87.3	96.2	132
ADA	NA	Overall[b]	0/18	1/18	2/18

[a] AUC_{tau} reflects the AUC over the 7-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration. The overall sum reflects the number of animals with ADA-positive samples post dose.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours post dose; IV, Intravenous; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous

試験中、5 匹が死亡した状態で発見された。死亡前の観察及び所見を Table 32 に要約する。死因が一致していないこと及び用量反応関係がないことから、いずれの死亡もエビナクマブに起因するものではないと考えられた。

Table 32: Summary of Early Deaths in the Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094)

Dose Level (mg/kg) Route	Sex	Day Found Dead	Findings/Observations
0 SC	Female	PND 35	• No clinical observations or effects on body weight • Dark red areas in the lungs and thymus noted at necropsy
30 SC	Male	PND 49	• No clinical observations or effects on body weight • Dark red areas in the lungs noted at necropsy
30 SC	Female	PND 72	• Pale body on day of death • Moderate erosion/ulceration of stomach; determined to be the cause of death
100 SC	Male	PND 64	• No clinical observation or effects on body weight

PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous

エビナクマブ曝露の忍容性は良好であり、有害作用はみられなかった。エビナクマブに関連した意図される薬理作用と一致した影響は、血清中 TG と HDL-C 値の低下（30 mg/kg 以上 SC 投与及び

100 mg/kg IV 投与）、血清中 LDL-C 値の一過性の上昇（すべての投与群）及び平均コレステロール値の低下（30 mg/kg を SC 投与した雌、及び 100 mg/kg を SC 又は IV 投与した雌雄）であった。回復期間終了時には、血清中脂質パラメータの変化は全般的に可逆的であった。100 mg/kg 投与群では、総タンパク質の上昇（雄）、グロブリンの上昇及び平均 A/G 比の低下（雌雄）もエビナクマブ曝露に関連があると判断された。これらの所見は大量のタンパク質を投与したことに関連があるアーチファクトであり、エビナクマブの有害な薬理作用を反映するものではないと判断された。

主要剖検でエビナクマブに関連した顕微鏡所見は、SC 注射部位の混合細胞浸潤物、線維症及び出血であった。これらの所見は重症度がかなり低く、回復期間終了時には完全に消失したため、有害ではないと判断された。

注目すべき所見を Table 33 に要約する。

Table 33: Noteworthy Findings from the 10-Week Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile Sprague Dawley Rat (R1500-TX-17094)

Study Number/Study Duration/GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/week) (administration route)	Noteworthy Findings
R1500-TX-17094 10 weeks (total of 10 doses) GLP	Sprague Dawley rat	0, 30, or 100 (SC) or 100 (IV)	• No adverse effects, including no effects on developmental or neurobehavioral parameters at any dose level • Consistent with the intended pharmacology, decreases in triglycerides, HDL-C, and total cholesterol, and transiently increased LDL-C levels, were generally observed in all dose groups • Reversible, non-adverse, evinacumab-related microscopic findings of mixed cell infiltrate, fibrosis, and hemorrhage at the SC injection sites • NOAEL is 100 mg/kg/dose (IV and SC), the highest doses evaluated

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C; High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous

要約すると、幼若ラットに 100 mg/kg 以下のエビナクマブを IV 注射又は SC 注射で週 1 回、10 週間投与したとき、忍容性は良好であった。臨床化学に対するエビナクマブに関連する影響は、用量に依存しない血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロールの低下であり、これらの変化は可逆的で、意図された薬理作用と一致していた。SC 注射部位に、エビナクマブに関連したごくわずかで可逆的な所見があったが、有害ではないと判断された。総エビナクマブの継続曝露は、動物の大多数で投与期間を通して維持された。有害所見がなかったため、NOAEL は IV 投与でも SC 投与でも、評価した最高用量である 100 mg/kg/dose である。

7.2. 幼若ニュージーランドホワイトウサギを用いた試験

7.2.1. 幼若ニュージーランドホワイトウサギに静脈内注射又は皮下注射した非ピボタル毒性試験（R1500-TX-18035）

本試験では、幼若ニュージーランドホワイトウサギ（各群雄 6 匹雌 6 匹）に PND 21 から PND 96 まで、5 日毎に、0、30、100 又は 300 mg/kg を皮下投与した（合計 16 回投与）。別の群には、300 mg/kg を IV 低速ボーラス注射で投与した（Module 2.6.7 Table 2.6.7.13）。動物は PND 99 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを投与期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化などの臨床評価、臨床検査（血液、凝固及び血清中脂質）及び解剖学的病理検査（脳の重量、肉眼所見及び顕微鏡所見）。試験を通して血液試料を採取し、TK 評価と ADA 解析を行った。

2 匹を除くすべての動物で、総エビナクマブの継続曝露が投与期間を通して維持された。総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、すべての用量で初回投与後、用量比例的に増加した。100 mg/kg 以上の投与では反復投与後、C_{max} 及び AUC_{tau} 平均値は用量比例的に増加したが、30 mg/kg 群では曝露は用量比例よりも少なく、この群では濃度に対する ADA の影響が大きいためと考えられた。投与期間を通して全般的に薬物の蓄積が観察された。

エビナクマブを投与した動物 48 匹中 1 匹は、投与後に ADA 反応陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.2）。しかし、濃度-時間プロファイルの視覚的解析では、ADA 反応と一致した濃度の急激な低下は ADA 反応が陰性であった 15 匹でも観察され、影響は主に 30 mg/kg SC 群でみられた。PK パラメータ（ADA の影響を受けたデータを除く）及び ADA 反応を Table 34 に要約する。

Table 34: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Subcutaneous or Intravenous Injections of Evinacumab (Total of 16 Doses) in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg)			
			30 (SC)	100 (SC)	300 (SC)	300 (IV)
C_{max}	µg/mL	1	198	751	2230	4100
		6	153	1290	4040	8580
		11	228	1620	4620	11700
		16	461	2850	7370	13700
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	6.61	7.51	7.43	13.7
		6	5.09	12.9	13.5	28.6
		11	7.61	16.2	15.4	38.9
		16	15.4	28.5	24.6	45.7
C_{trough}	µg/mL	1	151	588	1390	1400
		6	75.1	896	2680	3220
		11	199	1460	4030	4970
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	792	2910	8610	10500
		6	591	5500	17100	24200
		11	994	7410	20800	32600
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	26.4	29.1	28.7	35.0
		6	19.7	55.0	57.0	80.7
		11	33.1	74.1	69.3	109
ADA	NA	Overall[b]	1/12	0/12	0/12	0/12

[a] AUC_{tau} reflects the AUC over the 5-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the entire study duration. The overall sum reflects the number of animals with ADA-positive samples post dose
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Last concentration in a dosing interval (120 hours after dose); IV, Intravenous; NA; Not applicable; SC, Subcutaneous
Note: Concentration values considered to be outliers were excluded from data analysis.

300 mg/kg SC 群の雄 1 匹が PND 33 に死亡しているのが確認された。その他に 30 mg/kg SC 群と 300 mg/kg IV 群で各雄 1 匹、及び 300 mg/kg IV 群で雌 2 匹を瀕死状態のため安楽死させた（Table 35）。300 mg/kg SC 群で死亡が確認された雄及び 300 mg/kg IV 群で死亡した雌 1 匹の死因は決定されず、被験動物の数が少なかったことと完全な組織病理学検査を行わなかったことから、死亡／瀕死状態とエビナクマブの関係を決定することはできなかった。死因及び用量制限毒性に一貫性がないこと、並びに投与に関連した肉眼所見もなかったことから、これらの死亡はいずれもエビナクマブが原因ではないと考えられた。

Table 35: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices in the Nonpivotal Intravenous or Subcutaneous Injection Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035)

Sex	Dose Level (mg/kg)/ Admin. Route	Day Found Dead or Euthanized	Findings/Observations
Found Dead			
M	300 SC	PND 33	• Brown material on anogenital area on day prior to death • Lost 12.4% (78 g) of body weight during PND 31-32 • White area noted in the kidney (not considered cause of death) • Relationship of the moribund condition to evinacumab could not be determined due to the small sample size in this study and the lack of full histopathology
Euthanized in Extremis			
M	30 SC	PND 55	• Impaired use of right hindlimb • At necropsy, fractured right femur noted
M	300 SC	PND 23	• Decreased respiration rate and pale extremities • 3 blood collections occurred between PND 21 and PND 23 • Only 1 g of body weight gained during PND 21-22 • Pale liver noted at necropsy • Moribund condition likely due to the multiple blood collections following the first dose on PND 21
M	300 IV	PND 21	• Difficulty during dosing; dark red area at the injection site was noted at necropsy
F	300 IV	PND 75	• 20.9% body weight loss from PND 63-71 • Minimal food consumption during PND 63-75 • Noted as thin and having decreased defecation and brown material on limbs, tail, and anogenital area up to 8 days prior to euthanasia • At necropsy, white areas noted in the liver, dark red content in the sternohyoid muscle, small thymus gland, cystic oviducts, and an accessory spleen (none of which were considered the cause of death) • Relationship of the moribund condition to evinacumab could not be determined due to the small sample size in this study and the lack of full histopathology
F	300 IV	PND 76	• Impaired use of hindlimbs • Vertebral fracture was noted at necropsy, likely due to restraint procedures during dosing

F, Female; IV, Intravenous; M, Male; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous

試験中に観察されたエビナクマブに関連する影響は、血清中総タンパク質の値の軽度な上昇（300 mg/kg SC 及び IV）、血清中 HDL-C 及び総コレステロール値の軽度から著明な低下（いずれも用量依存的であることが多い）、及び LDL-C の低下（30 mg/kg 以上の SC 及び 300 mg/kg IV）であった（Module 2.6.7 Table 2.6.7.13）。これらの所見は、エビナクマブについて意図される薬理作用と一致しており、有害ではないと判断された。注目すべき所見を Table 36 に要約する。

Table 36: Noteworthy Findings from the Nonpivotal Repeat-Dose Toxicology Study of Evinacumab in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-18035)

Study Number/Study Duration/GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
R1500-TX-18035 Dosed PND 21 through PND 96 (total of 16 doses) GLP	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, or 300 (SC) or 300 (IV)	• No adverse effects • Consistent with the intended pharmacology, decreases in triglycerides, HDL-C, LDL-C, and total cholesterol were generally observed at all dose levels • Dosages of 30, 100, and 300 mg/kg/dose IV were selected for the definitive juvenile toxicology study

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; PND, Postnatal Day; SC, Subcutaneous

要約すると、幼若ウサギに 30～300 mg/kg の用量でエビナクマブを投与したとき、忍容性は良好であった。エビナクマブに関連する影響は血清中 TG、HDL-C、LDL-C、総コレステロールの低下のみであり、これらの変化は意図された薬理作用と一致していた。動物の大多数で総エビナクマブの継続曝露が投与期間を通して維持された。用量制限毒性がなかったため、幼若動物を用いた毒性試験の本試験用量として、30、100 及び 300 mg/kg の IV 投与を選択した（Section 7.2.2, R1500-TX-17093）。

7.2.2. 幼若ニュージーランドホワイトウサギを用いた静脈内注射毒性本試験（R1500-TX-17093）

本試験では、幼若ニュージーランドホワイトウサギにエビナクマブ 0、30、100 又は 300 mg/kg を PND 21 から PND 141 まで 5 日毎に IV（低速ボーラス）注射で投与した（合計 25 回投与）（Module 2.6.7 Table 2.6.7.14.B）。主試験群では各群雄 20 匹雌 20 匹を割り当て、生殖段階では各群に雌 20 匹を割り当てた。主試験の一部の動物（各群雄 14 匹雌 14 匹）を PND 146 に安楽死させ、主試験の残りの動物は PND 364 まで飼育した。生殖段階に割り当てた雌は、未投与雄と交配した時点で約 330 日齢であり、GD 29 に安楽死させた。

毒性について、以下のパラメータを主試験の投与前、投与期間中及び／又は回復期間中に評価した：病的状態及び生存状態、一般状態、定性的摂餌量、体重及び体重の変化、眼検査などの臨床評価；発生ランドマーク（亀頭包皮分離又は膣開口）、機能観察バッテリー評価及び条件付き瞬目反射、臨床検査（血液、凝固、血清化学及び脂質分析）及び解剖学的病理検査（臓器重量、肉眼所見、顕微鏡所見及び神経病理）、脳室の立体解析学的評価。血液試料を投与期間及び回復期間を通して採取し、TK 評価及び ADA 解析を行った。

生殖段階での毒性は、体重及び体重の変化、定性的摂餌量、臨床検査（血液、血清化学）、解剖学的病理検査（腹式子宮摘出術及び肉眼検査）、卵巣／子宮と同腹仔の検査、胎仔の評価（胎仔の体重、外表、内臓及び骨格の異常）に基づいて評価した。

95%の動物で投与期間を通して総エビナクマブの継続曝露が維持された。30、100 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ 29 匹中 0 匹、29 匹中 1 匹、26 匹中 4 匹に、回復期間の最終試料採取時点（PND 336）まで総エビナクマブが検出可能な濃度で認められた。総エビナクマブ濃度に性差はなかった。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、1 回目投与後も 25 回目投与後もすべての用量で用量比例的に増加した。すべての投与群で薬物が蓄積した。一過性の ADA による影響のため定常状態はやや遅れたが、全般的に 25 回目の投与までに達成された。

エビナクマブを投与した動物の 10%（178 匹中 18 匹）で ADA 反応が陽性となった（Module 2.6.4 Section 7.2）。しかし、平均濃度の解析からもノンコンパートメント解析からも除外したエビナクマブ濃度値はなかった。PK パラメータと ADA 反応を Table 37 に要約する。

Table 37: Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab and ADA Responses in Serum Following Once Every 5 Days Intravenous Injections of Evinacumab (Total of 25 Doses) in the Juvenile New Zealand White Rabbit (R1500-TX-17093)

Parameter	Units	Dose	Evinacumab Dose (mg/kg) IV		
			30	100	300
C_{max}	µg/mL	1	222	799	2390
		25	1160	4790	11000
C_{max}/Dose	(µg/mL)/(mg/kg)	1	7.41	7.99	7.97
		25	38.8	47.9	36.6
C_{trough}	µg/mL	1	124	446	1330
		25	803	3480	7930
AUC_{tau}[a]	day•(µg/mL)	1	904	3350	9800
		25	4770	20000	45800
AUC_{tau}/Dose[a]	day•(µg/mL)/(mg/kg)	1	30.1	33.5	32.7
		25	159	200	153
ADA	NA	Overall[b]	8/60	8/60	2/58

[a] AUC_{tau} reflects the AUC over the 5-day dosing interval.
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the treatment period.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 120 hours following each dose; IV, Intravenous; NA; Not applicable
Notes: All animals received 25 doses, except for those animals with unscheduled sacrifice. Last collection time point was taken 120 hours following the 25th dose on postnatal day 141.

生存状態にエビナクマブに関連する影響はなかった。PND 26～144 の間に、100 mg/kg 投与群の雄 2 匹、300 mg/kg 投与群の雄 3 匹、並びに 30、100 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ雌 3 匹が死亡しているのが確認されたか瀕死状態のため安楽死させた。回復期間中の PND 142～352 の間に、

100 mg/kg 群の雄 1 匹、30 mg/kg 群の雌 1 匹、300 mg/kg の雌 3 匹が死亡しているのが確認されたか瀕死状態のため安楽死させた。生殖段階では GD 19～29 の間に、30、100 及び 300 mg/kg 群でそれぞれ雌 1 匹、雌 2 匹及び雌 4 匹が死亡しているのが確認されたか瀕死状態のため安楽死させた。注目すべき一般状態及び肉眼所見を Table 38 に要約する。肉眼所見、顕微鏡所見、及び／又はいずれの用量でも毒性の徴候がみられなかったことに基づき、死亡と瀕死状態は薬剤に関連するとは判断されなかった。また、対照群でも PND 26～144 の間に雄 3 匹と雌 2 匹が死亡しているのが確認されたか瀕死状態のため安楽死させた。

Table 38: Summary of Early Deaths and Unscheduled Sacrifices During the Dosing Phase of the Intravenous Injection Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17093)

Dosage Level (mg/kg/dose)	Sex	Day Disposition	Noteworthy Clinical Observations/ Macroscopic Findings	Cause of Death
Dosing Period				
0	M	PND 144/FD	NA	Mucoid enteropathy suspected
0	M	PND 146/FD	Daily: decreased defecation, soft feces, hypoactivity, and decreased respiration on PND 146. Macroscopic: NA	Skeletal muscle degeneration and mineralization; kidney cast and tubular dilation
0	M	PND 26/FD	N/A	Undetermined
0	F	PND 138/FD	Daily: NA Macroscopic: small gallbladder	Undetermined
0	F	PND 28/EE	Daily: impaired use of left forelimb and brown material on anogenital area on PND 28. Macroscopic: thickened and fractured humerus bone	Bone fracture
30	F	PND 144/FD	Daily: NA Macroscopic: cystic oviducts, red areas on thymus	Mucoid enteropathy suspected
30	F	PND 96/FD	Daily: NA Macroscopic: cystic oviducts, red discoloration of skeletal muscle	Mucoid enteropathy suspected
30	F	PND 143/FD	N/A	Undetermined
100	M	PND 81/FD	Daily: NA Macroscopic: red discoloration of the lungs; red areas on the stomach	Undetermined
100	M	PND 144/EE	Daily: decreased defecation and hypoactivity on PND 144 Macroscopic: nodules on the pancreas	Pancreatitis
100	F	PND 97/FD	NA	Mucoid enteropathy suspected
100	F	PND 96/EE	Daily: NA Macroscopic: small adrenal glands, accessory spleen	Undetermined
100	F	PND 95/FD	NA	Undetermined
300	M	PND 141/FD	Daily: gasping on PND 141 Macroscopic: red areas on the stomach; red	Undetermined

Dosage Level (mg/kg/dose)	Sex	Day Disposition	Noteworthy Clinical Observations/ Macroscopic Findings	Cause of Death
			skeletal muscle	
300	M	PND 62/FD	Daily: red material around nose on PND 62 Macroscopic: NA	Undetermined
300	M	PND 76/EE	Daily: NA Macroscopic: red discoloration of lungs, red areas on stomach	Undetermined
300	F	PND 26/EE	Daily: impaired use of forelimb on PND 26 Macroscopic: red discoloration of skeletal muscle, fractured ulna and radius	Bone fracture
300	F	PND 51/FD	Daily: NA Macroscopic: small gallbladder, red discoloration of skeletal muscle, hemorrhage in the trachea	Undetermined
300	F	PND 40/FD	NA	Undetermined
Recovery Period				
0	M	PND 352/EE	Daily: red material on cage floor on PND 352 Macroscopic: NA	Liver: vacuolation, hepatocellular Hepatic lipidosis
30	F	PND 194/EE	Daily: labored respiration, cyanotic, and dilated pupils on PND 194 Macroscopic: dark red vaginal contents	Lung: inflammation, mixed cell Pneumonia
100	M	PND 146/FD	Daily: decreased defecation on PND 145 Macroscopic: approximately 24.6 mL red fluid in thoracic cavity	Undetermined
300	F	PND 142/FD	Daily: decreased defection on PND 141 Macroscopic: NA	Undetermined
300	F	PND 148/FD	No significant findings	Undetermined
300	F	PND 157/EE	Daily: hypoactivity on PND 157 Macroscopic: dark red gallbladder contents, dark red areas on stomach, and cystic oviducts	Gall bladder infarct
Reproductive Phase				
0	F	GD 29/FD	Daily: decreased defecation on GD 24, 25, 27, and 28 Macroscopic: no remarkable internal findings; 9 dead fetuses and 1 late resorption in utero	Undetermined; no microscopic evaluation
0	F	GD 27/FD	Daily: unkempt appearance on GD 22 and 23; decreased defecation on GD 22, 23, 25, and 26; and red material on cage floor on GD 26 Macroscopic: no remarkable internal findings; 8 dead fetuses and 3 late resorptions in utero	Undetermined; no microscopic evaluation
30	F	GD 19/EE	Daily: unkempt appearance on GD 10, 12, and 19; decreased defection on GD 12-16 and 19; and red material on cage floor on GD 19 Macroscopic: dark red vaginal contents and 9 early resorptions	Metritis, suspected
100	F	GD 27/FD	Daily: decreased defection on GD 23, 25, and 27 Macroscopic: no remarkable internal findings, 1 aborted dead fetus and 9 dead fetuses and 1 late resorption in utero	Undetermined
100	F	GD 28/FD	Daily: decreased defection on GD 20, 21, and 23-27; red material on cage floor on GD 24; and	Pregnancy toxemia suspected

Dosage Level (mg/kg/dose)	Sex	Day Disposition	Noteworthy Clinical Observations/ Macroscopic Findings	Cause of Death
			unkempt appearance on GD 25 Macroscopic: cystic oviducts and 9 dead fetuses and 1 early resorption in utero	
300	F	GD 25/FD	Daily: decreased defecation on GD 18 and 20-24 Macroscopic: no internal findings, 12 late resorptions in utero	Undetermined; no microscopic evaluation
300	F	GD 25/FD	Daily: decreased defecation on GD 19-24 Macroscopic: no internal findings, 12 late resorptions in utero	Undetermined; no microscopic evaluation
300	F	GD 29/FD	Daily: decreased defecation on GD 22, 23, 25, 26, and 28; unkempt appearance on GD 22 and 24-28; cool touch, decreased activity, shallow breathing, and laying on side on GD 29 Macroscopic: no internal findings; 9 late resorptions and 2 early resorptions in utero	Undetermined; no microscopic evaluation
300	F	GD 26/FD	Daily: unkempt appearance on GD 18, 19, and 24-26 and decreased defecation on GD 18-25 Macroscopic: no internal findings, 9 late resorptions in utero	Undetermined; no microscopic evaluation

EE, Euthanized in extremis; F, Female; FD, Found dead; GD, Gestation day; M, Male; PND, Postnatal day; NA, Not applicable

試験中に観察されたエビナクマブに関連する影響は、すべての用量で血清中コレステロール、TG、HDL-C 及び LDL-C のごくわずかから著明な低下のみであった（Module 2.6.7 Table 2.6.7.14B）。脂質に関連した所見はいずれも、薬物が消失した後に可逆的であった。これらの所見は意図される薬理作用と一致しており、有害ではないと判断された。さらに、100 mg/kg 以上の用量でエビナクマブに関連した有害ではない変化として、ごくわずかから軽度のグロブリン増加とこれに伴うアルブミン：グロブリン比の低下、及び 300 mg/kg でごくわずかから軽度の総タンパク質増加などがみられたが、完全に消失した。グロブリン増加及びこの結果の総タンパク質の増加とアルブミン：グロブリン比の低下は、エビナクマブ（免疫グロブリン［抗体］）の投与自体に関連がある可能性があった。

生殖段階の雌では、雌の生殖性能（交尾、受胎能及び受胎指数）、子宮内の成長と生存、又は胎仔の形態にエビナクマブに関連する影響はなかった。

注目すべき所見を Table 39 に要約する。

Table 39: Noteworthy Findings from the Dosing Period of the Intravenous Injection Toxicology Study of Evinacumab in Juvenile New Zealand White Rabbits (R1500-TX-17093)

Study Number/Study Duration/GLP Compliance	Species	Evinacumab Dose (mg/kg/dose) (administration route)	Noteworthy Findings
R1500-TX-17093 Dosed PND 21 through PND 141 (total of 25 doses) GLP	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, or 300 (IV)	• No adverse effects • Consistent with the intended pharmacology, decreases in triglycerides, HDL-C, LDL-C, and total cholesterol were observed at all dose levels • NOAEL is considered to be 300 mg/kg

GLP, Good Laboratory Practice; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; PND, Postnatal Day

要約すると、幼若ウサギに 300 mg/kg 以下のエビナクマブを PND 21 から PND 141 まで IV 注射又は SC 注射で 5 日毎に投与したとき、忍容性は良好であった。エビナクマブに関連する影響は、血清中 TG、HDL-C、LDL-C 及び総コレステロールの低下のみであり、これらの変化は可逆的で、意図された薬理作用と一致していた。動物の大多数で総エビナクマブの継続曝露が投与期間を通して維持された。有害作用がなかったため、NOAEL は評価した最高用量の 300 mg/kg/dose と考えられる。300 mg/kg/dose の IV 投与による AUC_{tau}（25 回目の投与後）は 45800 day•(µg/mL)であった。

8. 局所刺激性試験

エビナクマブを IV 投与又は SC 投与したときの局所刺激性は、ラット、サル及びウサギを用いた GLP 反復投与毒性試験の一部として評価されており、エビナクマブに関連した有害な肉眼所見も顕微鏡所見もなかった。

9. その他の毒性試験

9.1. 正常なヒト、カニクイザル及びラットの組織を用いたエビナクマブの組織交差反応性試験（REGN1500-TX-11074）

正常なヒト、カニクイザル及び Sprague Dawley ラットの組織（各動物種で 30～34 組織）の凍結切片を用いて ex vivo 組織交差反応性試験を行い、エビナクマブの結合能を測定した。

エビナクマブ（濃度 1.0 µg/mL と 10.0µg/mL）を 3 動物種（各動物種につき 3 個体由来）の完全組織パネルの凍結切片に適用し、ビオチン化マウス抗ヒト IgG4 二次抗体を使用して免疫組織化学的に検出した。結合は、ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ複合体及びジアミノベンジジン色素原基質で視覚化した。組織切片は抗 CD31（PECAM-1）抗体で染色し、免疫組織化学的に適格であった。セファロースビーズに結合した組換えヒト ANGPTL3 は陽性対照として使用し、すべての実験でエビナクマブ 1.0 µg/mL と 10.0 µg/mL への結合が陽性であったため、使用した方法が適切であることが確認された。セファロースビーズに結合した組換えヒトデルタ様タンパク質 4（DLL4）は陰性対照として使用し、すべての実験でいずれの濃度でもエビナクマブで染色されなかった。さらに、エビナクマブの代わりにヒト IgG4κで染色した連続切片では、特異的な結合はみられなかった。

陽性対照ビーズとエビナクマブとの間で特異的な反応がみられたこと、陰性対照ビーズとの間では特異的な反応性はなかったこと、及び対照物質との反応性もなかったことから、このアッセイの感度と特異性が示された。抗体の潜在的な交差反応性を検出するために、このアッセイをエビナクマブについて特異的に最適化した。

エビナクマブは評価したヒト、カニクイザル及びラットのいずれの組織も染色しなかった。

9.2. 免疫毒性

サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験で、末梢血の免疫表現型検査を行った（Section 3.2.2, REGN1500-TX-12061 試験）。フローサイトメトリーで測定したところ、B リンパ球、T リンパ球、ヘルパーT リンパ球、細胞障害性 T リンパ球、ナチュラルキラー細胞、及び単球にエビナクマブに関連する変化はなかった。

ラット、サル及びウサギを用いた反復投与毒性試験では血液パラメータを評価し、標準的な病理組織学的検査を行った（Section 3.1，Section 3.2，Section 7.2）。エビナクマブに関連した血液学的変化はなかった。さらに、ラットでは最長 13 週間、サルでは最長 26 週間の反復投与毒性試験の間、いずれの動物種でも骨髄、胸腺、脾臓、リンパ節及び肝臓に肉眼所見又は顕微鏡所見はなかった。

9.3. 薬物乱用性の評価

エビナクマブについては、依存性又は乱用性を示唆する生物学的性質はなく、動物を用いた毒性試験又は薬理試験で依存性や乱用性のエビデンスもない。そのため、薬物乱用性を評価するための試験は実施しなかった。理由を以下に述べる。

エビナクマブは ANGPTL3 に特異的に結合する組換えヒト $IgG4^P$ 抗体である。エビナクマブの分子量は約 150 kDa であり、有意な程度に血液脳関門を通過する可能性はない。血液脳関門は血液から脳への薬剤の移動を防ぐ。一般的に、治療用分子は油溶性で分子量が 400～600 Da 未満でなければ、脳への浸透は限られる（Jones, 2007）。したがって、同様のモノクローナル抗体に関する文献データに基づき、脳脊髄液中のエビナクマブ濃度は非常に低いと予想され（血漿中濃度の 1000 分の 1 未満と推定される）、乱用性は非常に限られると判断される（Tabrizi, 2010）。モノクローナル抗体には活性代謝物がなく、規制薬物の前駆物質でもない。モノクローナル抗体は代謝されて小ペプチドと個別のアミノ酸に分解され、内因性に異化されると一般に認識されており、これらの小ペプチドとアミノ酸が有意な生物活性を有する可能性は低い。このように、エビナクマブの代謝経路から、薬物依存性や乱用性が低いことが示唆される。

CNS で発現して薬理活性を発揮する、乱用性と関連のある受容体やトランスポーター（オピエート、ドパミン系、ノルアドレナリン系、セロトニン系、NMDA 系、シグマ、及び GABA 系）とエビナクマブが結合するエビデンスはない。ヒト、サル及びラットの組織を用いた組織交差反応性試験では、CNS 組織の膜染色のエビデンスはなかった。

10. 考察及び結論

Sprague Dawley ラットとカニクイザルに最高で 100 mg/kg までを IV 投与又は SC 投与した反復投与毒性試験、及びラットとウサギに最高で 300 mg/kg までを投与した幼若動物毒性試験で、エビナクマブの安全性プロファイルを評価した。ヒト、サル及びラットの組織の凍結切片パネルに対するエビナクマブの結合能を ex vivo 組織交差反応性試験で評価した。

ラットとサルを用いたいずれの試験でも、最高で 100 mg/kg までを IV 注射（低速ボーラス）又は SC 注射で週 1 回投与したときの忍容性は良好であった。いずれの動物種でもエビナクマブに関連する影響は、血清中 TG、HDL-C、及び総コレステロール値の低下のみであり、エビナクマブが ANGPTL3 とリポタンパクリパーゼ及び血管内皮リパーゼとの相互作用を遮断する能力と一致していた。回復期間中にはこれらの影響の部分的な可逆性が観察され、投与中止後に血清中エビナクマブの値が低下することと一致した。サルを用いた 26 週間試験の最終安楽死時点では、すべての用量で顕微鏡所見として SC 注射部位の皮下組織にごくわずかから軽度のリンパ球浸潤物がみられたが、これらの所見は軽度で可逆的であったため、有害ではないと判断された。各毒性試験での NOAEL は、ラットとサルに投与した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 及び SC）と決定された。

反復投与毒性試験のデータ及び ANGPTL3 について得られている文献は、エビナクマブを慢性的に投与してもがんのリスクが上昇することはないと示している。

ラットを用いた胚・胎仔発生試験では、母動物に対するエビナクマブ関連の影響は 10 mg/kg 以上の投与でみられた TG の軽度から中等度の低下のみであった。この影響は意図される薬理作用と一致しており、有害ではないと判断された。30 mg/kg 以上を投与した F_0 雌から生まれた F_1 仔では、エビナクマブに関連して血清中 TG、HDL-C、LDL-C 及び総コレステロールが低下した。投与した最高用量である 100 mg/kg まで、いずれの用量でも胎仔の外表、内臓及び骨格にエビナクマブに関連した奇形はなかった。したがって、ラットの胚・胎仔毒性の NOAEL は 100 mg/kg/dose SC である。

雄ウサギを用いた受胎能試験では、エビナクマブに関連する影響は、100 mg/kg 以上の投与でみられた軽度から中等度の血清中脂質の低下のみであった。この影響は意図される薬理作用と一致しており、有害ではないと考えられる。心臓重量の統計的に有意な減少についてはエビナクマブとの関連は不明であり、これに対応する組織学的所見がなかったため、有害ではないと判断された。この試験で投与した動物の心臓重量は、同年齢のウサギの既存対照及びウサギを用いた以前の試験と一致していた。さらに、同様の用量のエビナクマブをより長く投与した他の動物種（ラットとサル）では、心臓に対してエビナクマブに関連する影響はみられなかった。肝臓の病理組織学的所見として小葉中心空胞化がみられたが、程度は低く、これに伴う肝臓壊死、肝臓の炎症又は肝逸脱酵素の変化はなかったため、有害ではないと判断された。ウサギや他の動物種を使用して以前に実施された試験で同様の肝臓所見はなく、ベースライン時の脂質の値が低かったことにより示されたため、ウサギ動物種に特有のリポタンパクの長期にわたる非存在に対する代謝適応反応である可能性がある。ウサギではリポタンパクが存在しないと肝細胞からの脂質動員が阻害され、脂肪滴が蓄積する

（Perla, 2017; Tarugi, 2011）。ラットとサルにエビナクマブを投与しても、リポタンパクがそのような低値まで低下することはない。エビナクマブに関連する早期の死亡及び腎臓の顕微鏡所見は、ヒト抗体に対する重度の ADA 関連炎症反応と関連があり、エビナクマブの薬理作用の特性に関連するものではない。雄の精液にはエビナクマブが存在していたが、これらの雄と交尾させた雌では血清中に検出可能なレベルのエビナクマブは認められず、血清中の脂質の値に検出可能な低下も生じなかった。300 mg/kg を投与した雄と交尾させた未投与雌の胎仔では、第 15 尾椎の未骨化が統計的に有意に増加した。尾椎の未骨化は生存に有害な影響はなく、一般的にみられる多様性である（DeSesso, 2018）。特に、透明化した胎仔ウサギ試料の残遺骨格をアリザリンレッド染色して評価したところ、すべての動物で第 15 尾椎の位置の下に骨前駆体（軟骨モデリング）が存在しており、上記の所見は骨化の遅延であり奇形ではないことが示された。この試験で仔に催奇形性作用はなかった。ウサギを用いた胚・胎仔発生試験では、1～100 mg/kg の用量範囲で母動物に毒性がみられた。早期死亡、早産及び／又は流産、並びに一般状態及び母動物の体重増加と平均摂餌量に対する影響などがみられた。5 mg/kg 以上の投与では催奇形性がみられ、胚-胎仔の生存率低下、胎仔の外表及び／又は軟組織の奇形と多様性（ドーム頭、脳側室の拡張など）が生じた。1 mg/kg という低用量でも、TG、HDL-C 及び／又はコレステロールが低下した。これらの結果に基づき、母動物の NOAEL は決定できず、発生 NOAEL は 1 mg/kg/dose と考えられる。母動物に対する毒性がない用量では、胚・胎仔毒性もみられなかった。ウサギはヒトに比べてベースラインでの脂質の値が有意に低いため（Yin, 2012）、ウサギにおける所見がヒトの臨床において持つ意味は不明であり、ウサギは妊娠中にエビナクマブの脂質低下作用を特異的に受けやすい可能性がある（Zilversmit, 1972）。注目すべきは、ウサギよりベースラインの脂質の値が高いラットでは（Table 40）、エビナクマブ曝露後の催奇形性アウトカムはなかったことである。

Table 40: Lipid Profiles in Untreated Pregnant Sprague Dawley Rats and New Zealand White Rabbits from the Evinacumab Early Embryonic Studies Compared with Human Lipid Profiles During Pregnancy

Parameters	Species	Lipid Parameter (mg/dL)		
		Baseline[a]	End of Gestation[b]	Gestation % Change from Baseline
Triglycerides (mg/dL)	Rat[c]	52 ± 17	839 ± 408	1500
	Human[d]	40-159	131-453	228
	Rabbit[e]	46 ± 20	42 ± 8	-9
	Rabbit[f]	59 ± 14; 61 ± 31	47 ± 8; 50 ± 14	-20; -18
	Rabbit[g]	39 ± 8	40 ± 9	2.6
Total Cholesterol (mg/dL)	Rat[c]	75 ± 13	104 ± 19	39
	Human[d]	141-210	219-349	55.3
	Rabbit[e]	66 ± 19	20 ± 25	-70
	Rabbit[f]	62 ± 14; 53 ± 17	14 ± 14; 11 ± 6	-77; -79
	Rabbit[g]	33 ± 5	BLQ	NA
HDL-C (mg/dL)	Rat[c]	54 ± 9	26 ± 9	-52
	Human[d]	40-78	48-87	20
	Rabbit[e]	25 ± 8	13 ± 18	-48
	Rabbit[f]	25 ± 6; 27 ± 7	6 ± 5; 4 ± 2	-76; -85
	Rabbit[g]	24 ± 4	7.2	-70
LDL-C (mg/dL)	Rat[c]	9 ± 3	7 ± 3	-22
	Human[d]	60-153	101-224	68
	Rabbit[e]	32 ± 17	3 ± 4	-91
	Rabbit[f]	22 ± 9; 21 ± 12	4 ± 6; 3 ± 2	-82; -86
	Rabbit[g]	9 ± 2	BLQ	NA

[a] In rats, baseline corresponds to Gestation Day (GD) 6 in rats. In rabbits, baseline corresponds to GD6 (REGN1500-TX-14016), prior to or on GD 7 (REGN1500-TX-14092), or GD 2 (R1500-TX-17095). In humans, baseline corresponds to in the first trimester in humans.
[b] End of gestation corresponds to GD 21 in rats, GD 29 in rabbits, and the third trimester in humans.
[c] Rat lipid parameter values are from the evinacumab embryo-fetal development study REGN1500-TX-14016.
[d] Human lipid parameter values were obtained from Abbassi-Ghanavati, 2009. Percent change from baseline was calculated using the lower value for each time point.
[e] Rabbit lipid parameter values are from the evinacumab nonpivotal dose range-finding embryo-fetal development study REGN1500-TX-14092.
[f] Rabbit lipid parameter values are from the evinacumab embryo-fetal development study REGN1500-TX-14092. Data are presented from both the initial study and the extension study (initial study; extension study).
[g] Rabbit lipid parameter values are from pregnant female rabbits in the evinacumab Seg I male fertility study R1500-TX-17095.
BLQ, Below the limit of quantitation (total cholesterol < 15 mg/dL; LDL-C < 6 mg/dL); HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, Low-density lipoprotein cholesterol; NA, Not applicable

幼若サル、ラット及びウサギでは、エビナクマブ曝露の忍容性は良好で、神経病理学的所見を含め、有害作用はみられなかった。意図される薬理作用と一致して、血清中 TG、HDL-C 及び／又は総コレステロール値がすべての用量でエビナクマブに関連して低下し（サルとラットでは 100 mg/kg 以下、ウサギでは 300 mg/kg 以下）、この低下は可逆的であった。幼若ウサギを用いた試験の生殖段階では、雌の受胎能、子宮内での成長及び生存、胎仔の形態に、エビナクマブに関連する影響はなかった。これらの結果に基づき、NOAEL は投与した最高用量である幼若ラットで

100 mg/kg/dose、幼若ウサギで 300 mg/kg/dose と考えられる。胚・胎仔発生試験と同じ用量を投与した幼若ウサギでは、脳室の病理組織学的／立体解析学的評価及び瞬目検査の結果で、CNS の奇形や学習と記憶の障害はみられなかった。このことは、出生後の幼若ウサギがエビナクマブに曝露しても CNS に有害所見はないことを示唆する。

Ex vivo 組織交差反応性試験では、エビナクマブは評価したヒト、カニクイザル及びラットの組織を染色しなかった。

10.1. 全体的な要約

要約すると、ラットとサルがエビナクマブへ曝露したとき、忍容性は良好であり、薬剤に関連する有害作用はみられなかった。これらの動物種におけるエビナクマブに関連する影響は、血清中 TG、HDL-C 及び総コレステロール値の低下のみであり、意図される薬理作用と一致していた。したがって、ラットとサルの試験では、NOAEL は投与した最高用量である 100 mg/kg/dose（IV 又は SC）と決定された。

ラットで胚・胎仔又は受胎能／出生後発生にエビナクマブに関連する有害作用はみられなかったため、ラットの胚・胎仔／発生毒性の NOAEL は投与した最高用量の 100 mg/kg/dose である。

ウサギを用いた胚・胎仔発生試験では、すべての用量（1 mg/kg の低用量を含む）で母動物に対する毒性がみられた。5 mg/kg 以上で催奇形性がみられ、胚・胎仔生存率低下、胎仔の外表及び／又は軟組織の奇形と多様性が生じた。母動物の NOAEL は決定できず、発生の NOAEL は 1 mg/kg/dose と考えられる。ウサギを用いた Seg I 雄のみの受胎能試験では、ADA 関連の炎症反応により、エビナクマブに関連した早期の死亡が 6 件生じた。受胎能には 300 mg/kg まで影響がなかった。エビナクマブ未投与の雌から生まれた仔には、有害ではない尾椎の骨化の減少が生じたが、催奇形性はなかった。受胎能評価項目に影響がなかったため、この試験での雄受胎能に対する NOAEL は 300 m/kg と考えられる。幼若ラットとウサギ及び性成熟期前後のサルでは、エビナクマブ曝露の忍容性は良好で、薬剤に関連した有害作用はなかった。エビナクマブに関連する影響は血清中 TG、HDL-C 及び／又はコレステロールの低下のみであった。これらの結果に基づき、NOAEL は投与した最高用量である幼若ラットで 100 mg/kg/dose、幼若ウサギで 300 mg/kg/dose と考えられる。

Ex vivo 組織交差反応性試験では、エビナクマブは評価したヒト、サル又はラットのいずれの組織も染色しなかった。

結論として、毒性プログラムの結果に基づき、エビナクマブは毒性試験に用いたすべての動物種において、予想される薬理作用である脂質の変化を示し、動物の年齢にかかわらず安全であると考えられる。薬剤に関連する催奇形性がウサギではみられたがラットではみられなかった。これらのデータにより、エビナクマブの登録に向けた臨床評価の継続が支持される。

11. 参考文献

Abbassi-Ghanavati M, Greer LG, and Cunningham FG. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. Obstet Gynecol. 2009 Dec;114(6):1326-31.

DeSesso JM and Scialli AR. Bone Development in Laboratory Mammals Used in Developmental Toxicity Studies. Birth Defects Res. 2018 Sep 1; 110(15):1157-1187.

EMA guideline. ICH guideline S6(R1) – preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. 2011. EMA/CHMP/ICH/731268/1998.

Ghio A, Bertolotto A, Resi V, Volpe L, and Di Cianni G. Triglyceride metabolism in pregnancy. Adv Clin Chem. 2011;55:133-53.

Jones AR and Shusta EV. Blood-brain barrier transport of therapeutics via receptor mediation. Pharm Rs. 2007; 24:1759-71.

Liberati TA, Sansone SR, and Feustn MH. Hematology and clincial chemistry values in pregnant Wistar Hannover rats compared with nonmated controls. Vet Clin Pathol. 2004;33(2):68-73.

Perla FH, Prelati M, Lovarato M, Visicchio D, and Anania C. The Role of Lipid and Lipoprotein Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Children (Basel). 2017 Jun 6;4(6).

Tabrizi M, Bornstein GG, and Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. AAPS J. 2010; 12:33-43.

Tarugi P and Averna M. Hypobetalipoproteinemia: Genetics, Biochemistry, and Clinical Spectrum. Adv Clin Chem. 2011;54:81-107.

Yin W, Carballo-Jane E, McLaren DG, Mendoza VH, Gagen K, Geoghagen NS, et al. Plasma lipid profiling across species for the identification of optimal animal models of human dyslipidemia. J Lipid Res. 2012 Jan; 53(1):51-65.

Zilversmit DB, Hughes LB, and Remington M. Hypolipidemic effect of pregnancy in the rabbit. J Lipid Res. 1972 Nov;13(6):750-56.

目次

2.6.7.1. 毒性試験 2
2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 4
2.6.7.4. 製剤 5
2.6.7.5. 単回投与毒性試験 6
2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 6
2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：重要な試験 7
2.6.7.7.B 反復投与毒性試験：重要な試験 9
2.6.7.7.C 反復投与毒性試験：重要な試験 13
2.6.7.7.D 反復投与毒性試験：重要な試験 16
2.6.7.7.E 反復投与毒性試験：重要な試験 20
2.6.7.8. 遺伝毒性試験 25
2.6.7.9. がん原性試験 25
2.6.7.10. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 26
2.6.7.11.A 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 27
2.6.7.11.B 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 36
2.6.7.12.A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 46
2.6.7.12.B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 50
2.6.7.13 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験 56
2.6.7.14.A 幼若動物を用いた試験：重要な試験 56
2.6.7.14.B 幼若動物を用いた試験：重要な試験 64
2.6.7.15 局所刺激性試験 71
2.6.7.16 その他の毒性試験：組織交差反応性 71

2.6.7.1. 毒性試験

Overview					**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Type of Study	**Species and Strain**	**Frequency (Duration of Dosing)**	**Doses (mg/kg) (Method of Administration)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**
Repeat-dose toxicology	Sprague Dawley rat	Once weekly for 5 weeks (total of 5 doses)	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (IV); 100 (SC)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-TX-11073
	Sprague Dawley rat	Once weekly for 13 weeks (total of 13 doses)	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-TX-12062
	Cynomolgus monkey	Once weekly for 5 weeks (total of 5 doses)	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (IV); 100 (SC)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-TX-11072
	Cynomolgus monkey	Once weekly for 13 weeks (total of 13 doses)	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-TX-12061
	Cynomolgus monkey	Once weekly for 26 weeks (total of 26 doses)	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	Covance Laboratories Inc. Madison, WI	REGN1500-TX-14006
Reproductive and developmental toxicology	Sprague Dawley rat	Once every 3 days (2 weeks prior to pairing through LD 21 or GD 21)[b]	0, 30, and 100 (SC)	GLP	Covance Laboratories Inc. Greenfield, IN	R1500-TX-17096
	Sprague Dawley rat	Once every 3 days (GD 6 through GD 18; total of 5 doses)	0, 5, 10, 30, and 100[c] (SC)	GLP	Covance Laboratories Inc. Greenfield, IN	REGN1500-TX-14149
	New Zealand White rabbit	Once every 5 days (total of 16 doses)	0, 100, and 300[d] (IV)	GLP	Covance Laboratories Inc. Greenfield, IN	R1500-TX-17095
	New Zealand White rabbit	Once every 5 days (GD 7 through GD 17; total of 3 doses)	0 (IV/SC), 10, 30, and 100 (SC) 100 (IV)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Horsham, PA	REGN1500-TX-14016
	New Zealand White rabbit	Once every 3 days (GD 7 through GD 19; total of 5 doses)	0, 1[e], 5, 10, and 30 (SC)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Horsham, PA	REGN1500-TX-14092

Overview					**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Type of Study	**Species and Strain**	**Frequency (Duration of Dosing)**	**Doses (mg/kg) (Method of Administration)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**
Juvenile animal toxicology	Sprague Dawley rat	Once weekly (PND 21 through PND 84; total of 10 doses)	0, 30, and <u>100</u> (SC) <u>100</u> (IV)	GLP	Charles River Laboratories Ashland, LLC Ashland, OH	R1500-TX-17094
	New Zealand White rabbit	Once every 5 days (PND 21 through PND 96; total of 16 doses)	0, 30, 100, and 300 (SC) 300 (IV)	Non-GLP	Charles River Laboratories Ashland, LLC Ashland, OH	R1500-TX-18035
	New Zealand White rabbit	Once every 5 days (PND 21 through PND 141; total of 25 doses)	0, 30, 100, and <u>300</u> (IV)	GLP	Charles River Laboratories Ashland, LLC Ashland, OH	R1500-TX-17093
Other toxicity studies	Human, cynomolgus monkey, and Sprague Dawley rat	NA	1.0 and 10.0 µg/mL (ex vivo)	GLP	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-TX-11074

[a] The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is underlined, where applicable.
[b] Animals in the F0 safety and toxicokinetic cohorts were dosed through LD 21 (total of 25 doses), while animals in the embryo-fetal development cohort were dosed through GD 21 (total of 17 doses).
[c] NOAEL for maternal toxicity is considered to be 30 mg/kg; NOAEL for embryo-fetal toxicity is considered to be 100 mg/kg.
[d] NOAEL for males could not be determined; mating and fertility NOAEL is 300 mg/kg.
[e] Developmental NOAEL is 1 mg/kg; a maternal NOAEL could not be determined.
GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; LD, Lactation day; PND, Postnatal day; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous
Notes: Cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). IV doses were administered as a bolus injection.

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Overview of Toxicokinetics Studies			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**		
Type of Study	**Species and Strain**	**Doses (mg/kg) (Route of Administration)**	**GLP Compliance**	**Study Number**	**eCTD Table**
Repeat-dose toxicology	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC); 10, 30, and 100 (IV); 100 (SC)	GLP	REGN1500-TX-11073	2.6.7.7.A
	Sprague Dawley rat	0 (IV/SC); 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	REGN1500-TX-12062	2.6.7.7.B
	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC); 10, 30, and 100 (IV); 100 (SC)	GLP	REGN1500-TX-11072	2.6.7.7.C
	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC); 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	REGN1500-TX-12061	2.6.7.7.D
	Cynomolgus monkey	0 (IV/SC); 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	REGN1500-TX-14006	2.6.7.7.E
Reproductive and developmental toxicology	Sprague Dawley rat	0, 30, and 100 (SC)	GLP	R1500-TX-17096	2.6.7.11.A
	Sprague Dawley rat	0, 5, 10, 30, and 100 (SC)	GLP	REGN1500-TX-14149	2.6.7.12.A
	New Zealand White rabbit	0, 100, and 300 (IV)	GLP	R1500-TX-17095	2.6.7.11.B
	New Zealand White rabbit	0 (IV/SC), 10, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	REGN1500-TX-14016	2.6.7.10
	New Zealand White rabbit	0, 1, 5, 10, and 30 (SC)	GLP	REGN1500-TX-14092	2.6.7.12.B
Juvenile animal toxicology	Sprague Dawley rat	0, 30, and 100 (SC); 100 (IV)	GLP	R1500-TX-17094	2.6.7.14.A
	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, and 300 (SC); 300 (IV)	Non-GLP	R1500-TX-18035	2.6.7.13
	New Zealand White rabbit	0, 30, 100, and 300 (IV)	GLP	R1500-TX-17093	2.6.7.14.B

GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; SC, Subcutaneous
Note: IV doses were administered as a bolus injection.

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

上記の Section 2.6.7.2 に示すように、各試験のトキシコキネティクス試験成績はそれぞれの試験の概要表に含まれている。

2.6.7.4. 製剤

Test Article: evinacumab (REGN1500)									
Batch Number	**Process Impurities**				**Purity (%)[a]**	**Endotoxin (EU/mg)**	**Potency (%)**	**Study Number**	**Type of Study**
	CHO Protein (ppm)	**CHO DNA (pg/mg)**	**Insulin (ppm)**	**Protein A (ppm)**					
Proposed Specification	**For Information Only**								
9010900004[b]	8	< 0.052	< 0.16	< 0.03	99.6	< 0.01	104	REGN1500-TX-11072	Repeat dose
9010900002[b]					99.7	0.01	91	REGN1500-TX-11073	Repeat dose
9010900007[c]	1	< 0.1	Not analyzed	< 0.5	97.9	< 0.01	110	REGN1500-TX-12061	Repeat dose
								REGN1500-TX-12062	
9010900011[c]					97.0	< 0.001	114	REGN1500-TX-14006	Repeat dose
9010900013[c]					97.1	< 0.001	114	REGN1500-TX-14006	Repeat dose
								REGN1500-TX-14016	Nonpivotal reproductive
9010900015[d]	2; 1	< 0.06; < 0.1	Not analyzed	< 0.5; < 0.5	97.2	< 0.001	101	REGN1500-TX-14092	Embryo-fetal development
								REGN1500-TX-14149	
9030700001[e]	6	< 0.04	Not analyzed	Not analyzed	98.7	< 0.0003	94	R1500-TX-17093	Juvenile repeat dose
								R1500-TX-17094	
								R1500-TX-17095	Fertility and early embryonic development
								R1500-TX-17096	
								R1500-TX-18035	Nonpivotal juvenile repeat dose
9030700002[e]					97.9[f]	< 0.0003[f]	85[f]	R1500-TX-17093	Juvenile repeat dose
9030700003[g]	8.26	< 0.078	Not analyzed	Not analyzed	99.0	< 0.0003	108	R1500-TX-17096	Fertility and early embryonic development
9030700004[g]					99.0	< 0.0003	105		

[a] Purity was determined by size-exclusion-HPLC (lots 9010900004, 9010900002, 9010900007, and 9010900011) or size-exclusion-UPLC (lots 9010900013, 9010900015, 9030700001, 9030700002, 9030700003, and 9030700004) and is reported as percent main peak.

[b] Process impurities were evaluated for drug substance lot 9010700001, which was used to manufacture drug product lots 9010900004 and 9010900002
[c] Process impurities were evaluated for drug substance lot 8087400004, which was used to manufacture drug product lots 9010900007, 9010900011, and 9010900013.
[d] Drug product lot 9010900015 was produced by combined 2 drug substance lots. Process impurities for both drug substance lots (lots 8087400006 and 8087400004, respectively) are presented
[e] Process impurities were evaluated for formulated drug substance lot 8216600005, which was used to manufacture drug product lots 9030700001 and 9030700002.
[f] Purity, potency, and endotoxin values are from analysis of the parent formulated drug substance lot 8216600005.
[g] Process impurities were evaluated for formulated drug substance lot 8216600009, which was used to manufacture drug product lots 9030700003 and 9030700004.
CHO, Chinese hamster ovary cell line

2.6.7.5. 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の反復投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：重要な試験

Report Title: A 5-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 10-Week Recovery Period							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		**Duration of Dosing: 5 weeks (5 doses)**					**Study No. REGN1500-TX-11073**		
Initial Age: 10 weeks		**Duration of Recovery Period: 10 weeks**					**GLP Compliance: GLP**		
Date of First Dose: 07Dec2011		**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**							
Special Features: Anti-drug antibody (ADA); bone marrow cytology		**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**							
		No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose (IV)							
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)[a]**		**10 (IV)**		**30 (IV)**		**100 (IV)**		**100 (SC)**	
Number of Animals:										
Main[b]	**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**
Toxicokinetic	**M:3**	**F:3**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**
Toxicokinetics:										
C_{max} (µg/mL)[c]										
after the First Injection	BLQ[e]		268		974		3150		448	
after the Fifth Injection	BLQ[e]		298		1110		4280		873	
C_{trough} (µg/mL)[d]										
prior to Second Injection	BLQ[e]		32.4		162		694		NC	
prior to Fifth Injection	BLQ[e]		59.2		352		1410		NC	
AUC_{tau} (day•(µg/mL))										
after the First Injection	BLQ[e]		538		1950		7380		2670	
after the Fifth Injection	BLQe		783		3780		15700		3440	
ADA positive responses[f]										
Number of Animals Positive	0	0	0	0	1[g]	1	0	0	4	1
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed moribund[h]										
Toxicokinetic group	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0
Main group	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations (cageside and detailed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 5-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 10-Week Recovery Period										**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley			**Duration of Dosing: 5 weeks (5 doses)**							**Study No. REGN1500-TX-11073**
Initial Age: 10 weeks			**Duration of Recovery Period: 10 weeks**							**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 07Dec2011			**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**							
Special Features: Anti-drug antibody (ADA); bone marrow cytology			**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**							
			No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose (IV)							
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)[a]**		**10 (IV)**		**30 (IV)**		**100 (IV)**		**100 (SC)**	
Number of Animals:										
Main[b]	**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**
Toxicokinetic	**M:3**	**F:3**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic examinations (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observation Battery (FOB)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal Necropsy (Number of Animals Evaluated)	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow cytology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post dose observations:										
Number of Animals Evaluated	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Noteworthy findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] The toxicokinetic animals received IV/SC on Day 1 and IV only on remaining dose days.

[b] Main study animals were euthanized on Day 36. Recovery and toxicokinetic animals were euthanized on Day 106. Toxicokinetic animals were euthanized without examination or necropsy, and no tissues were collected.

[c] Animals that showed a positive ADA response were excluded from the toxicokinetic evaluation. The C_{max} was observed at the t_{max} of 0.083 hours after IV administration and at the t_{max} of 72 hours after SC administration

[d] The C_{trough} values represent the 168-hour time point after dose administration

[e] Serum levels of functional evinacumab were below the limit of quantitation (BLQ), < 0.078 µg/mL (Day 1, 5 minutes post dose).
[f] Number of animals positive for ADA; predose through Day 70. All study animals were negative for ADA through Day 29 (except for one animal prior to dosing).
[g] One male (animal no. 8006) [had] a predose positive ADA response and did not show any positive titers following dosing.
[h] All main study and recovery animals survived until scheduled necropsy. Two toxicokinetic females died (10 mg/kg/dose, IV and 100 mg/kg/dose, IV), and one female was euthanized (100 mg/kg/dose, IV) for reasons unrelated to the administration of evinacumab.
-, No noteworthy finding; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the 7-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Trough concentration; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; M, Male; NC, Not calculated; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous; t_{max}, Time to C_{max}

2.6.7.7.B 反復投与毒性試験：重要な試験

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 13-Week Recovery Period										
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**						**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Initial Age: Approximately 8-9 weeks	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**						**Study No.: REGN1500-TX-12062**			
Date of First Dose: 15Aug2012	**Vehicle/Formulation: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**						**GLP Compliance: GLP**			
							Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly			
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology; ANGPTL3 protein analysis										
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg IV and SC										
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals:[a]										
Toxicity	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Toxicokinetics	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Toxicokinetics:[b]										
C_{max} (µg/mL)										
Day 1 (Dose 1)	**BLQ**		53.4		166		**480**		**2880**	
Day 43 (Dose 7)	**BLQ**		216		**423**		**843**		**4020**	
Day 85 (Dose 13)	**BLQ**		98.6		**371**		**1120**		**4060**	
C_{trough} (µg/mL)										
Day 1 (Dose 1)	**BLQ**		**38.9**		**119**		**373**		**699**	

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 13-Week Recovery Period		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**	**Study No.: REGN1500-TX-12062**
Initial Age: Approximately 8-9 weeks	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Vehicle/Formulation: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology; ANGPTL3 protein analysis		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg IV and SC		

Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals:[a]										
Toxicity	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Toxicokinetics	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Day 43 (Dose 7)	**BLQ**		**78.6**		**131**		**432**		**1270**	
Day 85 (Dose 13)	**BLQ**		**6.00**		**140**		**358**		**744**	
AUC_{tau} (day•(µg/mL))										
Day 1 (Dose 1)	**BLQ**		**297**		**829**		**2630**		**6750**	
Day 43 (Dose 7)	**BLQ**		**954**		**1630**		**4330**		**13900**	
Day 85 (Dose 13)	**BLQ**		**370**		**1780**		**3630**		**11700**	
ADA positive responses[c]	0/6		3/18		2/18		5/18		3/18	
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund										
Toxicity	0	0	0	0	1[d]	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1[d]
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations (cage side and detailed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 13-Week Recovery Period		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**	**Study No.: REGN1500-TX-12062**
Initial Age: Approximately 8-9 weeks	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Vehicle/Formulation: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology; ANGPTL3 protein analysis		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg IV and SC		

Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals:[a]										
Toxicity	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Toxicokinetics	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry, Day 92										
Number Evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10
Triglycerides (mg/dL)	68.4	48.4	-	-	58.4	33.2*	55.6	40.2	57.0	33.4*
ANGPTL3 Protein (ng/mL), Day 92[e]	89.02	20.25	138.92	52.65	305.73	188.62	183.49	225.90	NE	NE
Number Evaluated, Terminal Necropsy	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Sprague Dawley Rats with a 13-Week Recovery Period											**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**										**Study No.: REGN1500-TX-12062**
Initial Age: Approximately 8-9 weeks	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**										**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Vehicle/Formulation: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**										**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology; ANGPTL3 protein analysis											
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg IV and SC											
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**		
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	
Number of Animals:[a]											
Toxicity	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	
Toxicokinetics	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	
Bone Marrow Cytology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Number Evaluated, Histopathology Post Dose	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	
Noteworthy findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

*ANOVA with Dunnett's/Dunn's ($p \leq 0.05$), statistically significant

[a] Number of animals includes those scheduled for euthanasia on Day 92 (end of dosing period) and Day 183 (approximately 13 weeks post dose), and toxicokinetics animals which were used solely for the purpose of blood sample collections. The toxicokinetics animals were euthanized without necropsy on Day 183

[b] All data impacted from a positive ADA response were excluded (13 positive ADA responses). Six additional animals (1 or 2 from each of the dose groups) were also excluded from the calculations. These 6 animals tested ADA negative but were observed to have concentration-time profiles typical of a positive ADA response.

[c] Number of animals immunopositive for ADA per number evaluated (prestudy through terminal or recovery necropsy).

[d] One recovery male (30 mg/kg SC) and 1 toxicokinetic female (100 mg/kg IV) were euthanized early and found dead, respectively, for reasons unrelated to the administration of evinacumab.

[e] Five animals evaluated per group.

-, No noteworthy findings; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the 7-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hrs following each dose; IV, Intravenous; M, Male, F, Female; NE, Not evaluated; SC, Subcutaneous

2.6.7.7.C 反復投与毒性試験：重要な試験

Report Title: A 5-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 10-Week Recovery Period							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Duration of Dosing: 5 weeks (5 doses)**					**Study No. REGN1500-TX-11072**			
Initial Age: Males: 2.6 to 3.9 years; Females: 2.6 to 4.9 years		**Duration of Recovery Period: 10 weeks**					**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 03Jan2012		**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**								
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology		**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV and SC										
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (IV)**		**30 (IV)**		**100 (IV)**		**100 (SC)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Toxicokinetics:[a]										
C_{max} (µg/mL)										
after the First Injection	BLQ		290		822		2660		1150	
after the Fifth Injection	BLQ		615		1770		5240		3180	
C_{trough} (µg/mL)[b]										
prior to Second Injection	BLQ		105		334		1070		NC	
prior to Fifth Injection	BLQ		285		899		2700		NC	
AUC_{tau} (day•(µg/mL))										
after the First Injection	BLQ		1030		3030		9500		6710	
after the Fifth Injection	BLQ		2830		8250		24300		19800	
ADA positive responses[c]										
Number of Animals Positive	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 5-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 10-Week Recovery Period							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Duration of Dosing: 5 weeks (5 doses)**					**Study No. REGN1500-TX-11072**			
Initial Age: Males: 2.6 to 3.9 years; Females: 2.6 to 4.9 years		**Duration of Recovery Period: 10 weeks**					**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 03Jan2012		**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**								
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology		**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV and SC										
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (IV)**		**30 (IV)**		**100 (IV)**		**100 (SC)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Clinical observations (cageside and detailed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic examinations (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neurological Assessments	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pulse Oximetry (hemoglobin oxygen saturation)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood pressure, Heart Rate, and Respiratory Rate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry, Week 5										
Triglycerides (mg/dL)	55.0	54.3	32.3*	33.0*	27.8*	25.8*	26.8*	27.5*	22.7*	29.0*
Cholesterol (mg/dL)	125.2	107.2	78.5*	84.7	79.7*	88.3	70.3*	65.5*	63.8*	66.7*
HDL Cholesterol (mg/dL)	64.67	56.50	32.83*	38.33*	33.33*	29.83*	27.83*	30.33*	22.67*	29.67*
LDL Cholesterol (mg/dL)	49.17	41.83	47.33	45.83	45.50	61.50	43.50	33.50	43.00	36.67
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal Necropsy										

Report Title: A 5-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 10-Week Recovery Period										**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Duration of Dosing: 5 weeks (5 doses)**								**Study No. REGN1500-TX-11072**
Initial Age: Males: 2.6 to 3.9 years; Females: 2.6 to 4.9 years		**Duration of Recovery Period: 10 weeks**								**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 03Jan2012		**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**								
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology		**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV and SC										
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (IV)**		**30 (IV)**		**100 (IV)**		**100 (SC)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow cytology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post dose Evaluation:										
Clinical chemistry, Week 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Necropsy (Week 15)										
Triglycerides (mg/dL)	55.5	70.0	42.5	49.5	47.5	42.5	37.0	44.0	39.5	51.5
Cholesterol (mg/dL)	110.0	134.5	107.0	95.0	93.0	137.5	85.0	67.0	89.5	95.5
HDL Cholesterol (mg/dL)	61.50	72.50	55.50	46.00	43.00	41.00	39.50	33.50	31.50	34.50
LDL Cholesterol (mg/dL)	33.00	44.00	42.00	44.00	45.00	101.00	41.50	30.50	56.00	59.00

*ANOVA with Dunnett's/Dunn's ($p \leq 0.05$). Groups with $n < 3$ were excluded from statistical analysis.

[a] Serum concentration of evinacumab from some animals were not used in TK analysis because they were either ADA-positive or exhibited an ADA-like response. The following serum concentrations were excluded: data from Day 1, 5 minutes to Day 18, 168 hours post dosing for one female (#4501, 100 mg/kg IV); data after Day 22, predose for 3 females (#4501, #4504, 100 mg/kg IV, and #5503, 100 mg/kg SC). The C_{max} was observed at the t_{max} of 0.083 hours after IV administration and at a mean t_{max} ranging from 48 to 66 hours after SC administration.

[b] The C_{trough} values represent the 168-hour time point after dose administration.

[c] Number of animals immunopositive for ADA prestudy through terminal or recovery necropsy. Two additional animals were considered ADA-like responders; one animal that was ADA negative showed a profile that was consistent with ADA-impacting toxicokinetics, a second animal showed a profile consistent with misdosing. All ADA positive or ADA-like animals were excluded from toxicokinetic evaluations.

-, No noteworthy finding; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration -time curve calculated during the 7-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; HDL, High-density lipoprotein; IV, Intravenous; LDL, Low-density lipoprotein; M, Male; NC, Not calculated; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic; t_{max}, Time to C_{max}

2.6.7.7.D 反復投与毒性試験：重要な試験

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Period		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**	**Study No.: REGN1500-TX-12061**
Initial Age: 2.4 to 4.4 years	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/ sucrose, pH 6.0**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology, flow cytometry (immunophenotyping), Electrocardiology via JET-3ETA[a]		
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg (IV and SC)		

Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Toxicokinetics:										
C_{max} (µg/mL)										
Day 1 (Dose 1)	BLQ[b]		133		354		1040		2630	
Day 43 (Dose 7)	BLQ[b]		384		1020		3270		5510	
Day 85 (Dose 13)	BLQ[b]		619		1330		4010		6720	
C_{trough} (µg/mL)										
Day 1 (Dose 1)	BLQ[b]		102		294		849		1000	
Day 43 (Dose 7)	BLQ[b]		282		838		2680		3230	
Day 85 (Dose 13)	BLQ[b]		414		937		3220		3750	

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Period		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**	**Study No.: REGN1500-TX-12061**
Initial Age: 2.4 to 4.4 years	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/ sucrose, pH 6.0**

Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology, flow cytometry (immunophenotyping), Electrocardiology via JET-3ETA[a]

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg (IV and SC)

Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
AUC_{last} (day•(µg/mL))										
Day 1 (Dose 1)	BLQ[b]		763		2100		6080		9080	
Day 43 (Dose 7)	BLQ[b]		2260		6500		21000		27300	
Day 85 (Dose 13)	BLQ[b]		3390		7750		25300		32500	
Anti-drug antibody (ADA)[c]	0/12		2/12		0/12		0/12		0/12	
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations (cage side and detailed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption (qualitative)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations (slit lamp and indirect)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology, qualitative[d]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology, quantitative[d]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Period											**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**									**Study No.: REGN1500-TX-12061**
Initial Age: 2.4 to 4.4 years		**Duration of Recovery Period: 13 weeks**									**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012		**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**									**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/ sucrose, pH 6.0**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology, flow cytometry (immunophenotyping), Electrocardiology via JET-3ETA[a]											
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg (IV and SC)											
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Neurological Assessments	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure, Heart Rate, Respiratory Rate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pulse Oximetry (hemoglobin oxygen saturation)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Day 90)										
Triglycerides (mg/dL)	36.2	43.0	15.0 C	28.7	16.0 C	16.8 D	11.8 C	14.5 E	13.0 C	13.3 E
Cholesterol (mg/dL)	132.7	127.0	86.5 A	95.2 A	79.0 B	83.5 B	87.5 A	66.5 C	76.5 B	70.2 C
HDL Cholesterol (mg/dL)	69.2	61.3	37.3 B	38.5 B	33.0 C	35.7 C	35.0 C	23.5 C	30.5 C	28.0 C
LDL Cholesterol (mg/dL)	51.5	50.5	46.3	54.0	45.3	47.0	52.0	44.8	45.5	43.3
Flow Cytometry (Immunophenotyping)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated, Terminal Necropsy	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Study Title: A 13-Week Intravenous and Subcutaneous Toxicity Study with REGN1500 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Period		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing: 13 weeks (13 doses)**	**Study No.: REGN1500-TX-12061**
Initial Age: 2.4 to 4.4 years	**Duration of Recovery Period: 13 weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 15Aug2012	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection once weekly**	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/ sucrose, pH 6.0**
Special Features: Anti-drug antibody (ADA), bone marrow cytology, flow cytometry (immunophenotyping), Electrocardiology via JET-3ETA[a]		
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg (IV and SC)		

Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC/IV)**		**10 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals:										
Main	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
Recovery	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Marrow Cytology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Post Dose Evaluation										
Number Evaluated	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2
Electrocardiology[d]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Day 181)										
Triglycerides (mg/dL)	37.5	44.5	-	-	22.5	29.5	24.0	31.0	16.0	21.5
Cholesterol (mg/dL)	125.5	153.0	112.5	120.0	101.5	141.5	122.0	68.0	101.0	82.0
HDL Cholesterol (mg/dL)	78.0	85.5	56.0	60.0	54.5	72.0	49.5	26.0	43.0	34.5
LDL Cholesterol (mg/dL)	34.5	48.5	46.0	47.0	41.5	59.5	68.5	41.5	56.5	45.5

[a] ECG waveforms were collected utilizing Jacketed External Telemetry™ (JET-3ETA).
[b] Serum levels of functional evinacumab were below the limit of quantitation (BLQ), < 0.078 µg/mL.
[c] Number of animals immunopositive for Anti-drug antibody (ADA) prestudy through terminal or recovery necropsy.
[d] Electrocardiology evaluations included evaluation of rhythm and waveform morphology and quantitative evaluations of heart rate (RR interval) and the PR, QRS intervals and the raw QT interval and rate-corrected QTca interval

-, No noteworthy findings; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{last}, Area under the concentration-time curve calculated from time zero to the last observation; BLQ, Below the limit of quantitation; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours post dose; ECG, Electrocardiography; F, Female; HDL, High-density lipoprotein; IV, Intravenous; LDL; Low-density lipoprotein; M, Male; SC, Subcutaneous
Note: Significantly different from control group (group 1) value: A, $P \leq 0.05$; B, $P \leq 0.01$; C, $P \leq 0.001$ (Dunnett); D, $P \leq 0.05$; E, $P \leq 0.01$ (Dunn)

2.6.7.7.E 反復投与毒性試験：重要な試験

Report Title: REGN1500: 26-Week Subcutaneous and/or Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study with REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase **REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase**		**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Study No. REGN1500-TX-14006**
Duration of Dosing: 26 Weeks	**Dosing Frequency: Once Weekly**	**Total Number of Doses: 26**
Initial Age: 4 to 8 years	**Duration of Recovery Period: 13 Weeks**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 14Apr2014	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection**	
Special Features: None	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**	

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV or SC

Administration Route	**SC and IV**		**SC**						**IV**	
Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Mid)**		**100 (High)**		**100 (High)**	
Number of Animals	**M:6**[a]	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
for Primary Necropsy	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
for Recovery Necropsy	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Toxicokinetics:										
C_{max} (µg/mL)										
after the First Dose (Dose 1)	BLQ	BLQ	119	116	356	344	1030	1150	2250	2080
after the Last Dose (Dose 26)	BLQ	BLQ	534	372	1920	1260	5810	4540	7900	6250
C_{trough} (µg/mL)										
after the First Dose (Dose 1)	BLQ	BLQ	105	95	337	284	932	879	888	743
after the Last Dose (Dose 26)	BLQ	BLQ	447	287	1620	1020	5250	3610	5440	3720
AUC_{tau} (day•(µg/mL))										
after First Dose (Dose 1)	BLQ	BLQ	683	662	2050	2030	6250	6580	8450	7600
after Last Dose (Dose 26)	BLQ	BLQ	3300	2340	12100	7980	37100	28600	43400	32000

Report Title: REGN1500: 26-Week Subcutaneous and/or Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study with REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase **REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase**							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus							**Study No. REGN1500-TX-14006**			
Duration of Dosing: 26 Weeks	**Dosing Frequency: Once Weekly**						**Total Number of Doses: 26**			
Initial Age: 4 to 8 years	**Duration of Recovery Period: 13 Weeks**						**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 14Apr2014	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection**									
Special Features: None	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**									
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV or SC										
Administration Route	**SC and IV**		**SC**						**IV**	
Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Mid)**		**100 (High)**		**100 (High)**	
Number of Animals	**M:6**[a]	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
for Primary Necropsy	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
for Recovery Necropsy	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
ADA results (Number of ADA-positive animals)	3	0	2	3	0	0	0	0	0	0
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Body Weight	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Neurologic Assessment	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Vital Signs	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Pressure	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiograms	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Reproductive Assessment	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Chemistry (%)[b]										
Total Cholesterol (mg/dL)										

Report Title: REGN1500: 26-Week Subcutaneous and/or Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study with REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase **REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase**							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus							**Study No. REGN1500-TX-14006**			
Duration of Dosing: 26 Weeks	**Dosing Frequency: Once Weekly**						**Total Number of Doses: 26**			
Initial Age: 4 to 8 years	**Duration of Recovery Period: 13 Weeks**						**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 14Apr2014	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection**									
Special Features: None	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**									
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV or SC										
Administration Route	**SC and IV**		**SC**						**IV**	
Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Mid)**		**100 (High)**		**100 (High)**	
Number of Animals	**M:6**[a]	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
for Primary Necropsy	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
for Recovery Necropsy	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Pretest Day 37M/29F	124	153	+1.6 %	-7.2 %	+0.8 %	-6.5 %	+16.1 %	-18.3 %	-7.3 %	0.0 %
Dosing Day 26M/25F	124	155	-27.4 %	-40.6 %*	-32.3 %*	-38.7 %*	-20.2 %	-45.8 %*	-39.5 %*	-36.1 %*
Dosing Day 54M/53F	114	164	-14.9%	-26.2 %*	-23.7 %	-34.8 %*	-15.8 %	-43.9 %*	-42.1 %	-32.9 %*
Dosing Day 183	107	162	-3.7 %	-28.4 %*	-16.8 %	-44.4 %*	-15.9 %	-46.9 %*	-34.6 %	-34.0 %*
Recovery Day 92	107	143	+9.3 %	+11.2 %	-10.3 %	-8.4 %	+3.7 %	-34.3 %	-55.1 %	-5.6 %
HDL Cholesterol (mg/dL)										
Pretest Day 37M/29F	74	79	-16.2 %	-1.3 %	-4.1 %	-3.8 %	+12.2 %	-15.2 %	-9.5 %	+3.8 %
Dosing Day 26M/25F	69	88	-58.0 %*	-50.0 %*	-50.7 %*	-55.7 %*	-40.6 %	-55.7 %*	-62.3 %*	-52.3 %*
Dosing Day 54M/53F	69	88	-39.1 %	-33.0 %*	-44.9 %	-50.0 %*	-37.7 %	-53.4 %*	-60.9 %*	-50.0 %*
Dosing Day 183	70	89	-37.1 %	-30.3 %*	-38.6 %	-53.9 %*	-37.1 %	-50.6 %*	-57.1 %	-39.3 %*
Recovery Day 92	89	97	-33.7 %	+3.1 %	-32.6 %	-3.1 %	-28.1 %	-43.3 %	-62.9 %	-11.3 %
Triglycerides (mg/dL)										
Pretest Day 37M/29F	30	42	+83.3 %	-11.9 %	+3.3 %	+11.9 %	+3.3 %	+11.9 %	+3.3 %	0.0 %
Dosing Day 26M/25F	42	48	-19.0 %	-41.7 %*	-40.5 %	-52.1 %*	-35.7 %	-54.2 %*	-33.3 %	-50.0 %*

Report Title: REGN1500: 26-Week Subcutaneous and/or Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study with REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase **REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase**							**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus							**Study No. REGN1500-TX-14006**			
Duration of Dosing: 26 Weeks	**Dosing Frequency: Once Weekly**						**Total Number of Doses: 26**			
Initial Age: 4 to 8 years	**Duration of Recovery Period: 13 Weeks**						**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 14Apr2014	**Method of Administration: IV bolus injection or SC injection**									
Special Features: None	**Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0**									
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV or SC										
Administration Route	**SC and IV**		**SC**						**IV**	
Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Mid)**		**100 (High)**		**100 (High)**	
Number of Animals	**M:6**[a]	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
for Primary Necropsy	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
for Recovery Necropsy	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Dosing Day 54M/53F	31	50	-35.5 %	-24.0 %	-35.5 %[c]	-42.0 %	-48.4 %	-46.0 %	-48.4 %	-48.0 %
Dosing Day 183	32	45	-3.1 %	-37.8 %*	-62.5 %*	-46.7 %*	-62.5 %*	-44.4 %*	-43.8 %	-48.9 %*
Recovery Day 92	33	40	+87.9 %	+40.0 %	-39.4 %	-35.0 %	-66.7 %	-10.0 %	-81.8 %	-20.0 %
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weights	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Macroscopic	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Microscopic										
Subcutaneous Injection Site, A[d]	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Infiltrate, lymphocytes, subcutis										
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0	NA	NA
Slight	0	0	1	0	0	0	0	0	NA	NA
Subcutaneous Injection Site, B[d]	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Infiltrate, lymphocytes, subcutis										
Minimal	0	0	1	1	1	1	3	1	NA	NA

Report Title: REGN1500: 26-Week Subcutaneous and/or Intravenous Toxicity and Toxicokinetic Study with REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase REGN1500 in Sexually-Mature Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery Phase										Test Article: evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus										Study No. REGN1500-TX-14006
Duration of Dosing: 26 Weeks	Dosing Frequency: Once Weekly									Total Number of Doses: 26
Initial Age: 4 to 8 years	Duration of Recovery Period: 13 Weeks									GLP Compliance: GLP
Date of First Dose: 14Apr2014	Method of Administration: IV bolus injection or SC injection									
Special Features: None	Vehicle: 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0									
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg IV or SC										
Administration Route	**SC and IV**		**SC**						**IV**	
Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Mid)**		**100 (High)**		**100 (High)**	
Number of Animals	**M:6**[a]	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
for Primary Necropsy	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**	**M:4**	**F:4**
for Recovery Necropsy	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**	**M:2**	**F:2**
Slight	0	0	1	0	0	0	0	0	NA	NA
Subcutaneous Injection Site, C[d]	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Infiltrate, lymphocytes, subcutis										
Minimal	0	0	3	2	2	0	0	0	NA	NA
Subcutaneous Injection Site, D[d]	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
Infiltrate, lymphocytes, subcutis										
Minimal	0	0	2	0	3	0	2	0	NA	NA

[a] Bioanalytical results indicated positive exposure for control male Animal No. I01814 during the profile collected based on Day 29 of the dosing phase, subsequently supported by positive anti-drug antibody results. Sample results were negative predose on Day 15 of the dosing phase (last prior collection point) and were with roughly equivalent concentrations predose and 5 minutes post dose on Day 29 of the dosing phase, suggesting that the cause of exposure did not occur on Day 29. Positive results were continuous throughout all sample collected from Day 29 of the dosing phase (through 168 hours post dose) and displaying evidence of elimination. These data force a conclusion that the animal was legitimately exposed to test article. Based on available exposure routes for an antibody and known handling information for the test article, the exposure was deemed likely to occur during dosing on Days 15 or 22 of the dosing phase. Review of the actual concentrations of the samples suggested a small subcutaneous dose (potentially lower than that given to the 10 mg/kg/dose group) on Day 15 of the dosing phase. Investigation into study data yielded no obvious explanation for the results, but the conclusion is that the animal was in error dosed with test article. No other dosing errors are apparent based on available data for this and other animals. In response to this issue, Animal No. I01814 is excluded from study evaluation and summary data tabulation. All individual data for the animal are reported, but these data are not being considered as control results for robust interpretation of potential test article effects in the following sections. Based on review of the data there is no impact to assessment of study validity or endpoints. As this animal had been assigned to recovery, male control animal assessments during the recovery phase have limited power; however as described in the following sections the data collected during that phase was generally unremarkable. Therefore, this issue is not considered to have significant impact on study evaluation

[b] For control groups, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not percent differences).
[c] The triglyceride value for the group 3 males on dosing Day 54 was < 20; however a value of 20 was used to calculate the percent difference from the controls.
[d] Number of animals examined
-, No noteworthy finding; * $p \leq 0.05$; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration -time curve calculated during the 7-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hrs following each dose; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; HDL, High-density lipoprotein; IV, Intravenous; M, Male; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous

2.6.7.8. 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.9. がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。しかしエビナクマブのがん原性については、動物を用いた毒性試験及び関連する文献に基づいた科学的根拠の重要度評価が行われた（Module 4.2.3.4.3 Carcinogenicity Risk Assessment of Evinacumab）。

2.6.7.10. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Nonpivotal Studies				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**		
Species/ Strain	**Route of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period and Frequency**	**Doses (mg/kg)**	**No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
New Zealand White rabbit	SC or IV injection (10mM histidine, 0.1% [w/v] polysorbate 80, 5.0% [w/v] sucrose, pH 6.0)	GD 7, 12, and 17	0 (IV/SC) 10, 30, and 100 (SC) 100 (IV)	6F/group	• Increased post implantation loss observed in the 10, 30, and 100 mg/kg SC groups with associated increases in mean number of late resorptions/litter and decreases in mean litter size and live fetuses • Reduced mean fetal weights observed at all dose levels • Evinacumab-related increased incidence of domed heads, corresponding to increased incidence of slight to extreme dilation of the lateral ventricles in the brain at all dose levels • Evinacumab-related increased litter incidence of flexed forepaws in all SC dose groups; low incidence of short trunk, short limbs, and small lung in the 30 and/or 100 mg/kg SC dose groups • Consistent with the intended pharmacology, evinacumab-related decreases in triglyceride, HDL-C, and total cholesterol values in all dose groups	REGN1500-TX-14016

F, Female; GD, Gestation day; HDL-C, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; SC, Subcutaneous

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

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.			**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21		**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0		**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.		
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0		
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day			
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
F_0 Females:	20	20	20
Toxicokinetics:[a]			
F_0 Females:			
AUC_{tau} (day•(µg/mL))			
Dose 1 (PM)	NA	362	1160
Dose 13 (GD)	NA	1520	2560
Dose 20 (LD)	NA	900	3530
Dose 25 (LD)	NA	1020	3980
C_{max} (µg/mL)			
Dose 1 (PM)	NA	168	534
Dose 13 (GD)	NA	760	1070
Dose 20 (LD)	NA	428	1320
Dose 25 (LD)	NA	431	2020
C_{trough} (µg/mL)			
Dose 1 (PM)	NA	159	522
Dose 13 (GD)	NA	489	913
Dose 20 (LD)	NA	193	1150

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Dose 25 (LD)	NA	182	2020
ADA (anti-human IgG4)			
F_0 Toxicokinetic Animals			
Study Duration[b]	1/9	0/9	2/9
F_0 Embryo-Fetal Toxicokinetic Animals (Maternal Administration):			
GD 21[b]	0/4	0/4	0/4
F_1 Toxicokinetic Animals (Maternal Administration):			
Mean Concentration of Total Evinacumab (µg/mL)			
LD 7	BLQ	250	985
LD 14	BLQ	489	117
LD 21	BLQ	380	18.0
MD 0	BLQ	125	5.30
MD 32	BLQ	0.736	0.456
MD 63	BLQ	BLQ	BLQ
ADA (anti-human IgG4)			
Study Duration[b]	1/17	1/14	8/8
F_0 Females			
No. Pregnant	19	20	18

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-
Body Weight	-	-	-
Food Consumption PM 3 to 6 (%)[c]	52.7	+4.7	+9.1*H
Food Consumption GD 12 to 15 (%)[c]	74.3	+1.7	+8.1*H
Food Consumption LD 6 to 9 (%)[c]	150.4	-8.8+H	-2.8
Food Consumption LD 9 to 12 (%)[c]	164.9	-10.1+H	-4.5
Mean Duration of Gestation (days)	23.7	23.5	23.5
Abnormal Parturition	-	-	-
Clinical Chemistry (%)[c]			
Total cholesterol (mg/dL)			
LD 6	103.1	-20.9+H	-18.9*H
LD 15	107.6	-24.3#H	-30.0#H
High density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			
LD 6	83.2	-21.3#r	-22.8#r
LD 15	78.1	-19.3+H	-27.4#H
Low density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
LD 15	18.7	-22.5*H	-24.6*H
Triglycerides (mg/dL)			
GD 6	144.0	-76.9#r	-64.0#r
GD 12	184.7	-77.7#H	-70.0#H
LD 6	51.2	-61.1#H	-57.0#H
LD 15	39.1	-44.5#H	-51.7#H
LD 27	158.5	-75.1#r	-72.0#r
F_1 Litters (Pre-Weaning):			
No. Litters Evaluated	19	20	18
Mean No. of Implantation Sites	14.68	15.85	16.22
Mean No. Pups Born	14	15	13.89
Mean No. Pups Alive Day 0	12.26	13.32	14.00
Mean No. Pups Alive Day 4 (Before Cull)	12.00	12.50	11.93
Mean No. Pups Alive Day 4 (After Cull)	8.00	7.83	7.67
Mean No. Pups Alive Day 21	5.94	5.78	5.53
No. of Total Litter Deaths	2	2	2
Pup Body Weights (%)[c]			
Day 14 Males	34	-11.1+H	-5.8

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.			**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21		**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0		**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.		
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0		
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day			
Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Day 14 Female	33.5	-11.2+H	-7.4
Day 21 Males	60.93	-12.7#H	-7.7*H
Day 21 Female	60.68	-11.9+H	-9.2*H
Mean % Male Pups Day 0	50	49	48
Pup Clinical Observations	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-
F_1 Males (Maturation):			
No. Evaluated Maturation	40	40	38
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-
Organ Weights	-	-	-
Body Weight Gain (%)	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-
Mean Age of Balanopreputial Separation (days)	45.5	44.2	45.2
Functional Observation Battery			
Mean Numbers of Rears	10	10	15*
Sperm Assessments			

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
Sperm Motility	-	-	-
Caudal Epididymal Weight	-	-	-
Mean Sperm Concentration (%)[c]	506.6	-14.8	-40.6***
No. of Males that Mated	34	33	33
No. of Fertile Males	33	31	32
F_1 Males (Maturation):			
Clinical Chemistry (%)[c]			
Total cholesterol (mg/dL)			
PND 14	165.8	-5.7	-11.7**
PND 21	122	-12.0*	-11.9*
High density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			
PND 21	78.9	-10.0*	-8.9*
Low density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			
PND 14	81.8	-5.7	-14.2*
Triglycerides (mg/dL)			
PND 14	171.8	-48.5***	-57.4***
PND 21	100.2	-65.3***	-61.4***
PND 35	98.2	-58.8***	-67.2***

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
F_1 Females (Maturation):			
No. Evaluated Maturation	40	40	40
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-
Body Weight Gain (%)ᶜ MD42-MD45	7.5	-48***	+12
Food Consumption (%)	-	-	-
Mean Age of Vaginal Opening (days)	31.9	33.6**	32.1
Functional Observation Battery			
Mean Numbers of Rears	15	12	9**
Mean Body Temperature	38.0	38.3*	38.0
Mean Forelimb Grip Strength	792	787	695*
Estrous Cycles	-	-	-
No. of Females with Confirmation of Mating	39	38	38
No. of Pregnant Females	37	36	37
Mean No. Corpora Lutea	16.9	16.3	16.3.
Mean No. Implantation Sites	15.4	15.4	15.3
Mean % Pre-implantation Loss	8.47	5.21	6.36

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study Combined with Prenatal and Postnatal Development in Rats.		**Test Article:** evinacumab (REGN1500)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** PM 0 to LD 21 or GD 21	**Study No.:** R1500-TX-17096
Initial Age: 12 weeks at dosing	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 29Jan2019	**Method of Administration:** Subcutaneous injection once every 3 days.	
Special Features: Clinical Pathology for F_0 and F_1	**Vehicle/Formulation:** Preformulated10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0	
No Observed Adverse-Effect Levels: F_0: 100 mg/kg/day and F_1: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**
F_2 Litters:			
Mean No. Early Resorptions	1.0	1.7	1.1
Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	6.24	10.61	7.39
Mean No. Live Fetuses	14.3	13.8	14.2
F_1 Females (Maturation):			
Clinical Chemistry (%)[c]			
Total cholesterol (mg/dL)			
PND 21	124.8	-10.0*	-16.0**
High density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			
PND 21	79.5	-7.7	-10.9*
Low density lipoprotein cholesterol (mg/dL)			
PND 21	40.0	-9.0	-19.8*
Triglycerides (mg/dL)			
PND 14	203.9	-57.6***	-61.9***
PND 21	98.0	-64.1***	-57.8***
PND 35	96.4	-49.9***	-60.8***

[a] Pharmacokinetic parameters are derived from a composite sampling scheme (n = 3 rats/time point).
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the time point sampled. The overall sum reflects the number of animals with ADA-positive samples post dose.
[c] 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).
-, No noteworthy findings; ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, AUC calculated during the dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Last concentration in a dosing interval; GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; LD, Lactation day; MD, Maturation day (also referred to as MA in the study report); PM, Pre-mating day; PND, Postnatal day
*H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.05 level; +H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.01 level; #H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.001 level; #r = Wilcoxon rank Sum Test Significant at 0.001 level; * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$

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

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26	**Dosing Frequency: Once every 5 days**		**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males	**Duration of Recovery Period: Not applicable**		**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019	**Method of Administration: Intravenous Injection**		
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
Males:			
No. of Animals	**20**	**20**	**20**
Toxicokinetics:[a]			
AUC_{tau} (day•(µg/mL))			
Dose 1 (PM)	NA	6800	20600
Dose 15 (PP)	NA	20700	55100
Dose 16 (PP)	NA	NC	NC
C_{max} (µg/mL)			
Dose 1 (PM)	NA	3010	7830
Dose 15 (PP)	NA	4830	14800
Dose 16 (PP)	NA	5000	11100
C_{trough} (µg/mL)			
Dose 1 (PM)	NA	948	2830
Dose 15 (PP)	NA	3240	8250
Mean Concentration of Total Evinacumab (µg/mL)			
PP Day 12 (seminal plasma)	0.0176	31.5	34.3
ADA results			

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26	**Dosing Frequency: Once every 5 days**		**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males	**Duration of Recovery Period: Not applicable**		**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019	**Method of Administration: Intravenous Injection**		
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
Study Duration[b]	17/18	5/20	3/19
Sacrificed Moribund	0	3	3
Clinical Observations			
Abnormal eye color, pale/purple	0	2	0
Ear, purple discoloration	0	2	2
Testes/Scrotum, black discoloration	0	2	0
Gait, barrel roll	0	1	0
Convulsion	0	1	0
Paddling behavior	0	1	0
Posture, lateral recumbency	0	2	0
respiration, irregular/labored	0	1	1
Body Weight (%)[c]	No evinacumab-related effects.		
PM 0-20	17477.5	-0.4	-8.5#H
Predose 8	3355.6	+0.1	-8.2#H
PM 25	3654.4	-2.1	-10.1#r
PM 30	3648.4	-1.4	-8.0#H
PM 35	3679.5	-0.5	-7.5+H
PM 40	3686.4	-0.6	-7.7+H
PR 2	3692.4	-0.4	-8.1#H

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26	**Dosing Frequency: Once every 5 days**		**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males	**Duration of Recovery Period: Not applicable**		**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019	**Method of Administration: Intravenous Injection**		
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
PP 1	3698.5	-0.4	-8.2#H
PP 6	3739.4	-0.6	-8.0+H
PP 11	3746.7	-0.4	-8.0+H
PP 16	3782.6	-0.4	-8.4#H
PP 21	3782.8	-0.1	-8.3+H
PP 26	3741.1	-0.2	-8.7#H
Body Weight Gain (%)[c]	No evinacumab-related effects		
PM 0-5	86.3	-22.0	-44.1*H
PM 0-PP 26	376.4	-8.7	-22.1
Food Consumption (%)[c]			
PM 0-1	137.0	-8.8	-15.6+H
PM 1-2	138.1	-8.0	-17.9#H
PM 2-3	144.8	-5.0	-17.0#r
PM 3-4	141.4	-9.2	-18.0#H
PM 4-5	141.8	-9.3	-16.4#r
PM 5-6	145.9	-8.4*r	-18.0#r
PM 6-7	146.5	-8.4+r	-15.6#r
PM 7-8	143.9	-11.2+r	-20.8#r
PM 8-9	141.4	-9.8	-17.2#H

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26		**Dosing Frequency: Once every 5 days**	**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males		**Duration of Recovery Period: Not applicable**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019		**Method of Administration: Intravenous Injection**	
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			

Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
PM 9-10	145.8	-11.9*r	-18.5#r
PM 10-11	146.4	-11.1+r	-15.0#r
PM 11-12	144.7	-14.7+r	-22.5#r
PM 12-13	136.2	-13.9	-22.5+H
PM 15-16	127.7	-12.1	-21.1*H
PM 16-17	131.2	-8.2	-18.7*H
PM 21-22	138.7	-7.9	-19.7+H
PM 22-23	137.3	-8.7	-24.7#H
PM 24-25	140.6	-7.3	-17.7*H
PM 31-32	138.5	-0.1	-11.3*H
PM 34-35	135.0	+1.9	-10.8*H
PM 38-39	135.8	+1.7	-9.9*H
Food Consumption (%)[c]			
PR 0-1	118.8	+3.7	-16.2*H
PR 4-5	135.1	+0.9	-10.9*H
PR 5-6	138.6	-2.2	-12.8+H
PP 13-14	140.5	+0.3	-10.0+r
PP 15-16	138.7	-1.8	-15.4#H
PP 16-17	142.1	-2.6	-13.8#r

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26	**Dosing Frequency: Once every 5 days**		**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males	**Duration of Recovery Period: Not applicable**		**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019	**Method of Administration: Intravenous Injection**		
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			
Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
PP 17-18	142.6	+2.0	-11.6+r
PP 18-19	136.8	+4.7	-8.8*r
PP 22-23	135.5	+2.7	-14.1#H
PP 23-24	139.8	+2.6	-10.3+r
PP 25-26	56.9	+7.0	-35.5#H
No. of Males Cohabitated	20	17	17
No. of Males that Mated	19	17	17
No. of Fertile Males	19	15	15
Sperm Assessments	No evinacumab-related effects.		
Hematology (%)	No evinacumab-related effects.		
Clinical Chemistry (%)[c]			
Triglyceride concentration (mg/dL)			
PM 20	37.1	-68.5	-100.0
PM 30	85.7	-65.6	-77.4
PM 40	40.3	-27.05	-50.87*H
PP 1	30.6	-3.9	-38.2
PP 11	40.8	-35.5	-55.1
PP 21	53.1	-59.5+H	-69.9+H
PP 26	43.1	-49.0#r	-57.8#r

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26		**Dosing Frequency: Once every 5 days**	**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males		**Duration of Recovery Period: Not applicable**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019		**Method of Administration: Intravenous Injection**	
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			

Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
Total Protein (g/dL)			
PP 1	5.99	+3.67	+16.36*H
PP 11	6.23	+8.50	+18.30
PP 21	6.29	+7.15	+16.38
PP 26	6.10	+8.85#H	+16.72#H
Globulin (g/dL)			
PM 20	1.57	+19.11*H	+20.30+H
PM 40	1.57	+67.52+H	+70.06+H
PP 1	1.47	+13.61	+81.63+H
PP 11	1.80	+16.67	+57.22*H
PP 21	1.77	+35.60+H	+63.84#H
PP 26	1.32	+38.64#H	+86.36#H
Albumin:Globulin ratio			
PM 20	2.80	-16.79*H	-23.93+H
PM 40	2.93	-38.57+H	-43.00+H
PP 1	3.10	-11.94	-46.13#H
PP 11	2.63	-13.69	-38.02*H
PP 21	2.60	-28.08#H	-41.2#H
PP 26	3.71	-28.6#H	-48.2#H

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26	**Dosing Frequency: Once every 5 days**		**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males	**Duration of Recovery Period: Not applicable**		**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019	**Method of Administration: Intravenous Injection**		
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			

Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
Coagulation (%)	No evinacumab-related effects.		
Urinalysis (%)	No evinacumab-related effects.		
Terminal Body Weight (%)[c]	3783.4	0	-9#H
Organ Weights (%)[a]			
Heart			
Absolute	12.6	-17.0*H	-26.9#H
Relative to Body Weight	0.3	-16.5*H	-19.7+H
Relative to Brain Weight	126.4	-15.6*H	-24.1+H
Macroscopic Findings	No evinacumab-related effects.		
Microscopic Findings			
No. Animals Examined	20	17	17
Kidney			
Basophilia/regeneration, tubule (minimal)	9	13	12
Dilatation, tubule (minimal)	0	3	2
Interstitial nephritis			
slight	0	1	0
moderate	0	0	1
Glomerulonephritis, mesangioproliferative			
minimal	0	1	0

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26		**Dosing Frequency: Once every 5 days**	**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males		**Duration of Recovery Period: Not applicable**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019		**Method of Administration: Intravenous Injection**	
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			

Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
moderate	0	1	0
Increased PAS stain without diastase positive			
minimal	6	11	5
moderate	0	0	1
Liver			
Glycogen, increased, hepatocytes			
minimal	0	1	2
slight	0	1	1
Vacuolation, hepatocyte, centrilobular			
minimal	0	0	2
slight	0	1	1
moderate	0	2	2
Group Designation	**Control**	**Group 2**	**Group 3**
Naïve Females:			
No. of Animals	**25**	**20**	**20**
Toxicokinetics:			
Mean Concentration Total Evinacumab (µg/mL)			
GD 2	BLQ	BLQ	BLQ
GD 14	BLQ	BLQ	BLQ

Report Title: REGN1500: An Intravenous Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation and Toxicokinetics Study in Pregnant Rabbits			**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Hra:(New Zealand White)SPF Rabbits			**Study No. R1500-TX-17095**
Duration of Dosing: PM 0 through Post Pairing Day 26		**Dosing Frequency: Once every 5 days**	**Total Number of Doses: 16**
Initial Age: 7 to 8 Months-Males		**Duration of Recovery Period: Not applicable**	**GLP Compliance: GLP**
Date of First Dose: 09May2019		**Method of Administration: Intravenous Injection**	
Special Features: None	**Vehicle: REGN1500, Placebo Product (10mM histidine, containing 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5% (w/v) sucrose, pH 6.0)**		
No Observed Adverse Effect Level: Males: unable to be determined; Mating and Fertility: 300 mg/kg/day			

Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**
GD 29	BLQ	BLQ	BLQ
No. Died or Sacrificed Moribund	0	1	0
Clinical Chemistry	No evinacumab-related effects.		
No. of Females Cohabitated	25	18	20
No. of Females with Positive Signs of Mating	21	18	17
No. of Pregnant Females	21	16	15
No. Aborted or with No Viable Fetuses	0	0	0
Fetal Anomalies			
External Observations	No evinacumab-related effects.		
Fresh Visceral Observations	No evinacumab-related effects.		
Skeletal Observations			
Unossified caudal vertebra (variation)[d]			
%Litter	0	7	33+
%fetal	0.00	1.19	4.74*r

-, No noteworthy findings; +, Fisher 1-tail Ascending Test significant at the 0.01 level; #H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.001 level; +H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.01 level; *H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.05 level; #r, Wilcoxon rank Sum Test Significant at 0.001 level; *r, Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level; +r, Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level.

[a] Pharmacokinetic values are calculated on composite concentrations in serum for each time point

[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed over the treatment period

[c] 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).

[d] The underlying bone precursor (cartilage modeling) was present in the terminal coccygeal vertebra of all affected animals

ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (<0.078 μg/mL); C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Last concentration in a dosing interval; GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; NA, Not applicable; NC, Not calculated; PAS, Periodic acid-Schiff; PM, Premating day; PP, Post pairing day; PR, Pairing day

2.6.7.12.A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Sprague-Dawley Rats (REGN1500-TX-14149)				**Test Article:** evinacumab	
Species/Strain: Rat/Crl:CD (Sprague Dawley)				**Study No.** REGN1500-TX-14149	
Duration of Dosing: Gestation Day (GD) 6-18	**Dosing Frequency:** Once every 3 days			**Total Number of Doses:** 5	
Initial Age: 10 to 12 weeks	**Duration of Recovery Period:** NA			**GLP Compliance:** GLP	
Date of First Dose: 18Jan2015	**Method of Administration:** SC				
Special Features: None	**Vehicle:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0				
No-Observed-Adverse-Effect Level: Based on two unexplained deaths at 100 mg/kg/day, the maternal NOAEL is 30 mg/kg/day and the NOAEL for embryo-fetal toxicity is 100 mg/kg/day.					
Administration Route	**SC**				
Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**10**	**30**	**100**
Number of Animals (females)	**22**	**22**	**22**	**22**	**22**
Toxicokinetics:					
C_{max} (µg/mL)					
After the First Dose	NA	28.1	67.5	212	690
After the Fifth Dose	NA	35.2	58.5	164	995
C_{trough} (µg/mL)					
After the First Dose	NA	28.1	67.5	134	690
After the Fifth Dose	NA	15.4	22.1	94.3	591
AUC_{tau} (day• (µg/mL))					
After First Dose	NA	68.3	148	399	1580
After Fifth Dose	NA	61.8	138	419	2370
ADA results ($C_{Fetal}/C_{Maternal}$)					
Main	NA	0.647	0.474	0.524	0.594
TK	NA	0.502	0.619	0.439	0.419

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Sprague-Dawley Rats (REGN1500-TX-14149)				**Test Article:** evinacumab	
Species/Strain: Rat/Crl:CD (Sprague Dawley)				**Study No.** REGN1500-TX-14149	
Duration of Dosing: Gestation Day (GD) 6-18	**Dosing Frequency:** Once every 3 days			**Total Number of Doses:** 5	
Initial Age: 10 to 12 weeks	**Duration of Recovery Period:** NA			**GLP Compliance:** GLP	
Date of First Dose: 18Jan2015	**Method of Administration:** SC				
Special Features: None	**Vehicle:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0				
No-Observed-Adverse-Effect Level: Based on two unexplained deaths at 100 mg/kg/day, the maternal NOAEL is 30 mg/kg/day and the NOAEL for embryo-fetal toxicity is 100 mg/kg/day.					
Administration Route	**SC**				
Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**10**	**30**	**100**
Number of Animals (females)	**22**	**22**	**22**	**22**	**22**
Clinical Chemistry (%)[a]					
Cholesterol (mg/dL)					
GD 6	75	78	79	76	75
GD 10	77	77	77	76	73
GD 21	104	104	110	102	101
HDL (mg/dL)					
GD 6	54	57	56	54	54
GD 10	57	57	56	57	55
GD 21	26	31	38*r	40+r	37*r
LDL (mg/dL)					
GD 6	9	11	11	10	10
GD 10	11	12	11	12	12
GD 21	7	8	9	7	8

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Sprague-Dawley Rats (REGN1500-TX-14149)				**Test Article:** evinacumab	
Species/Strain: Rat/Crl:CD (Sprague Dawley)				**Study No.** REGN1500-TX-14149	
Duration of Dosing: Gestation Day (GD) 6-18	**Dosing Frequency:** Once every 3 days			**Total Number of Doses:** 5	
Initial Age: 10 to 12 weeks	**Duration of Recovery Period:** NA			**GLP Compliance:** GLP	
Date of First Dose: 18Jan2015	**Method of Administration:** SC				
Special Features: None	**Vehicle:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0				
No-Observed-Adverse-Effect Level: Based on two unexplained deaths at 100 mg/kg/day, the maternal NOAEL is 30 mg/kg/day and the NOAEL for embryo-fetal toxicity is 100 mg/kg/day.					
Administration Route	**SC**				
Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**10**	**30**	**100**
Number of Animals (females)	**22**	**22**	**22**	**22**	**22**
Triglycerides (mg/dL)					
GD 6	52	54	50	51	49
GD 10	62	61	49+r	48+r	41#r
GD 21	839	707	591	515*H	480*H
Dams					
No. Pregnant	22	21	22	21	22
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	2[b]
No. Aborted	0	0	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea	-	-	-	-	-
Mean No. Implantations	-	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-	-
Litters					
Litters Evaluated	22	21	22	21	19
Live Fetuses	-	-	-	-	-
Dead Fetuses	-	-	-	-	-

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Sprague-Dawley Rats (REGN1500-TX-14149)					**Test Article:** evinacumab
Species/Strain: Rat/Crl:CD (Sprague Dawley)					**Study No.** REGN1500-TX-14149
Duration of Dosing: Gestation Day (GD) 6-18	**Dosing Frequency:** Once every 3 days				**Total Number of Doses:** 5
Initial Age: 10 to 12 weeks	**Duration of Recovery Period:** NA				**GLP Compliance:** GLP
Date of First Dose: 18Jan2015	**Method of Administration:** SC				
Special Features: None	**Vehicle:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0				
No-Observed-Adverse-Effect Level: Based on two unexplained deaths at 100 mg/kg/day, the maternal NOAEL is 30 mg/kg/day and the NOAEL for embryo-fetal toxicity is 100 mg/kg/day.					
Administration Route	**SC**				
Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**10**	**30**	**100**
Number of Animals (females)	**22**	**22**	**22**	**22**	**22**
Mean No. Resorptions	-	-	-	-	-
Mean % Post Implantation Loss	-	-	-	-	-
Mean Fetal Body Weight (g)	-	-	-	-	-
Fetal Sex Ratios (Live No. of M:F)	-	-	-	-	-
External Anomalies	None	None	None	None	None
Visceral Anomalies	-	-	-	-	-
Skeletal Anomalies					
V-thoracic centrum-bipartite ossification (%Litter/%Fetal)	0/0	5/0.68	5/0.76	10/1.75	21*/7.86

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

[b] Two animals, one each on GD 18 and GD 19, were found dead. No specific cause of death could be identified and related back to the administration of evinacumab

ADA, Anti-drug antibody; AUC_{tau}, Area under the concentration -time curve calculated during the 3-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 3 days (dose 1) or approximately 3 days (dose 5) following each dose; F, Female; GD, Gestation Day; GLP, Good Laboratory practice; HDL, High-density lipoprotein; LDL, Low-density lipoprotein; M, Male; NA, Not applicable; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic

*H, Dunnett Exact Homogeneous Test Significant at 0.05 level; *r, Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level; +r, Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level; #r, Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.001 level.

2.6.7.12.B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Rabbits (REGN1500-TX-14092)				**Test Article:** evinacumab (REGN1500)		
Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 19			**Study No.** REGN1500-TX-14092		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Crl:KBL(NZW)]	**Initial Age**: 4 to 6 months of age			**Frequency of Dosing:** Once every 3 days (DG 7, DG 10, DG 13, DG 16, and DG 19)		
Date of First Dose: 20Oct2014	**Day of Mating:** Day 0 of gestation			**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Lipid panel	**Day of C-Section:** Day 29 of gestation			**Method of Administration:** SC		
No-Observed-Adverse-Effect Level: F_0 Females: Not Determined F_1 Litters: 1 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0			**Diluent:** 0.9% sodium chloride injection, USP (1 mg/kg/day formulation only-extension)		
Dose (mg/kg)	**0 (Control)[a]**	**5[a]**	**10[a]**	**30[a]**	**0 (Control) [a]**	**1[a]**
Females						
Toxicokinetics (Mean±SD):						
Maternal AUC_{tau} (day•[µg/mL])						
GD 7	BLQ	28.0±13.8	122±32.6	501±139	BLQ	1.02±0.255
GD 19	BLQ	0.225±0.660	61.5±188	732±1150	BLQ	0.0156±0.0698
Maternal C_{max} (µg/mL)						
GD 7	BLQ	13.6±6.90	60.2±16.0	264±72.3	BLQ	0.448±0.108
GD 19	BLQ	0.201±0.578	23.1±66.7	297±407	BLQ	0.0128±0.0570
Maternal C_{trough} (µg/mL)						
GD 7	BLQ	11.6±6.84	59.8±16.4	264±72.3	BLQ	0.388±0.104
GD 19	BLQ	BLQ	BLQ	191±376	BLQ	BLQ
Fetal Exposure						
GD 29 Litters with Exposure/Litters Assessed	BLQ	0/18	3/16	7/10	BLQ	0/14
GD 29 Fetal Concentration Range (µg/mL)	BLQ	BLQ	1.44-73.5	0.132-228	BLQ	BLQ
Anti-drug Antibody Evaluation						
Animals Positive for Anti-evinacumab Antibodies[b]						
GD 7 Predose	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	1/20
GD 29 Terminal	4/20	20/20	18/20	13/19	0/20	19/20
Overall	4/20	20/20	18/20	13/20	0/20	19/20
Fetuses Positive for Anti-REGN1500 Antibodies[b]						
GD 29 Terminal	NC	186/186	121/149	43/89	NC	152/155
No. Pregnant	19	19	20	20	20	19

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Rabbits (REGN1500-TX-14092)				**Test Article:** evinacumab (REGN1500)		
Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 19			**Study No.** REGN1500-TX-14092		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Crl:KBL(NZW)]	**Initial Age**: 4 to 6 months of age			**Frequency of Dosing:** Once every 3 days (DG 7, DG 10, DG 13, DG 16, and DG 19)		
Date of First Dose: 20Oct2014	**Day of Mating:** Day 0 of gestation			**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Lipid panel	**Day of C-Section:** Day 29 of gestation			**Method of Administration:** SC		
No-Observed-Adverse-Effect Level: F_0 Females: Not Determined F_1 Litters: 1 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0			**Diluent:** 0.9% sodium chloride injection, USP (1 mg/kg/day formulation only-extension)		
Dose (mg/kg)	**0 (Control)[a]**	**5[a]**	**10[a]**	**30[a]**	**0 (Control) [a]**	**1[a]**
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[c]	0	0
No. Aborted	0	0	1[d]	4[d]**	0	3[e]
No. Delivered and Euthanized	0	1[f]	0	2[f]	0	0
Clinical Observations						
Scant feces	4/1	27/5	55/12**	83/16**	14/5	52/12**
Sparse hair coat (underside, limb[s], and/or neck)	12/1	11/4	78/8**	61/7**	0	0
Thin body condition	0/0	11/3	47/5	32/5	22/4	67/8
Ungroomed coat	3/2	15/3	22/4	29/5		
Red substance found on cage pan liner					0/0	3/1
Red substance in cage pan	0/0	2/1	3/2	9/5	0/0	2/1
Soft or liquid feces	1/1	1/1	2/2	4/2		
Cold to touch	0/0	0/0	4/1	3/2		
No feces in cage pan	0/0	1/1	1/1	1/1		
Light brown feces	0/0	0/0	0/0	2/1	0/0	5/1
Necropsy Observations	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change (%)[g]						
GD 7 through GD 28	+0.31	-35	-71	-119##	+0.30	-13
Body Weight (%)[g]						
GD 28	4.10	0	-7#	-7#		
Food Consumption (%)[g]						
GD 7 through GD 28	126.3	-11	-36##	-37##	104.2	+3
Clinical Chemistry[h]						
Cholesterol						
GD 10	69	0.80*	0.64*	0.67*		
Triglycerides						

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Rabbits (REGN1500-TX-14092)				**Test Article:** evinacumab (REGN1500)		
Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 19			**Study No.** REGN1500-TX-14092		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Crl:KBL(NZW)]	**Initial Age**: 4 to 6 months of age			**Frequency of Dosing:** Once every 3 days (DG 7, DG 10, DG 13, DG 16, and DG 19)		
Date of First Dose: 20Oct2014	**Day of Mating:** Day 0 of gestation			**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Lipid panel	**Day of C-Section:** Day 29 of gestation			**Method of Administration:** SC		
No-Observed-Adverse-Effect Level: F_0 Females: Not Determined F_1 Litters: 1 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0			**Diluent:** 0.9% sodium chloride injection, USP (1 mg/kg/day formulation only-extension)		
Dose (mg/kg)	**0 (Control)[a]**	**5[a]**	**10[a]**	**30[a]**	**0 (Control) [a]**	**1[a]**
GD 10	71	0.98	0.70*	0.56*		
LDL						
GD 29	4.4	1.20	1.73	2.45*		
HDL						
GD 10	25	0.44*	0.28*	0.28*		
GD 29					4	2.25
Litters						
Mean No. Corpora Lutea	11.5	12.0	10.9	12.0	10.7	11.1
Mean No. Implantations	10.7	11.3	10.0	11.0	10.4	10.9
Mean % Preimplantation Loss	7.8	5.3	10.4	7.7	3.6	1.6
No. Litters Evaluated	19	18	19	13	20	16
No. Live Fetuses	193	190	160	91	197	156
Mean No. Resorptions	0.5	0.7	1.5	3.9##	0.6	1.1
No. of Litters with Dead Fetuses	1	1	1	1	1	0
Mean % Post implantation Loss	5.1	6.5	20.0	39.8##	5.3	13.7
Mean Fetal Body Weight (g)	39.44	36.40	34.70#	35.67	39.00	38.51
Fetal Sex Ratios (% males)	45.0	42.2	46.2	41.5	53.3	47.2
Fetal Abnormalities:						
Gross External Abnormalities					-	-
Head: Domed						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (23.5)	6 (60.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.1)	18 (19.8)**		
Tongue: Small						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)		

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Rabbits (REGN1500-TX-14092)				**Test Article:** evinacumab (REGN1500)		
Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 19			**Study No.** REGN1500-TX-14092		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Crl:KBL(NZW)]	**Initial Age**: 4 to 6 months of age			**Frequency of Dosing:** Once every 3 days (DG 7, DG 10, DG 13, DG 16, and DG 19)		
Date of First Dose: 20Oct2014	**Day of Mating:** Day 0 of gestation			**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Lipid panel	**Day of C-Section:** Day 29 of gestation			**Method of Administration:** SC		
No-Observed-Adverse-Effect Level: F_0 Females: Not Determined F_1 Litters: 1 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0			**Diluent:** 0.9% sodium chloride injection, USP (1 mg/kg/day formulation only-extension)		
Dose (mg/kg)	**0 (Control)[a]**	**5[a]**	**10[a]**	**30[a]**	**0 (Control) [a]**	**1[a]**
Palate: Cleft						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	1 (10.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	3 (3.3)**		
Fore and/or Hindlimbs: Flexed						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	1 (5.6)	1 (5.9)	3 (30.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.2)	5 (5.5)**		
Scoliosis						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)		
Soft Tissue Abnormalities:					-	-
Brain: Moderate Ventricular Dilation						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	4 (40.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	5 (5.5)**		
Brain: Extreme Ventricular Dilation						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (23.5)*	4 (40.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.1)	16 (17.6)**		
Skeletal Abnormalities:					-	-
Skull: Parietal, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (11.8)	5 (50.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)	12 (13.2)**		
Skull: Parietal Contained a Hole						
Litter Incidence Number (%)	1 (5.3)	0 (0.0)	1 (5.9)	4 (40.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.6)	10 (11.0)**		
Skull: Interparietal, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	1 (5.3)	0 (0.0)	1 (5.9)	1 (10.0)		

Report Title: REGN1500: A Subcutaneous Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Rabbits (REGN1500-TX-14092)				**Test Article:** evinacumab (REGN1500)		
Design similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 19			**Study No.** REGN1500-TX-14092		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Crl:KBL(NZW)]	**Initial Age**: 4 to 6 months of age			**Frequency of Dosing:** Once every 3 days (DG 7, DG 10, DG 13, DG 16, and DG 19)		
Date of First Dose: 20Oct2014	**Day of Mating:** Day 0 of gestation			**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Lipid panel	**Day of C-Section:** Day 29 of gestation			**Method of Administration:** SC		
No-Observed-Adverse-Effect Level: F_0 Females: Not Determined F_1 Litters: 1 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 10mM histidine, 0.1% (w/v) polysorbate 80, 5.0% (w/v) sucrose, pH 6.0			**Diluent:** 0.9% sodium chloride injection, USP (1 mg/kg/day formulation only-extension)		
Dose (mg/kg)	**0 (Control)[a]**	**5[a]**	**10[a]**	**30[a]**	**0 (Control) [a]**	**1[a]**
Fetal Incidence Number (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.6)	1 (3.3)**		
Skull: Frontal, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (11.8)	4 (40.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)	9 (9.9)**		
Skull: Supraoccipital, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)		
Skull: Posterior Fontanelle, Large						
Litter Incidence Number (%)	1 (5.3)	0 (0.0)	1 (5.9)	4 (40.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.6)	16 (17.6)**		
Skull: Anterior Fontanelle, Large						
Litter Incidence Number (%)	1 (5.3)	0 (0.0)	2 (11.8)	5 (50.0)**		
Fetal Incidence Number (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.9)	19 (20.9)**		
Skull: Palate, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	1 (10.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)	3 (3.3)**		
Cervical Vertebrae: Arch, Incompletely Ossified						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (10.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.1)		
Spinal Column: Arches Misaligned						
Litter Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)		
Fetal Incidence Number (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)		
Total Number of Affected Fetuses (Litters)	18 (9)	11 (7)	11 (7)	25** (8)		
Ossification Site Averages					-	-
Metacarpals	4.99±0.02	4.93±0.13*	4.91±0.13*	4.86±0.25		

[a] Subcutaneous injections were administered approximately equally into 2 separate injection sites on each day of dose administration
[b] Ratios reflect the number of positive ADA animals/total animals assessed
[c] Female 4271 was found dead on GD 22.
[d] Female 4253 (10 mg/kg) and females 4263, 4269, 4275, and 4279 (30 mg/kg) aborted between GD 21 and 28 and were subsequently euthanized.
[e] Females 4929, 4930, and 4931 (1 mg/kg) aborted between GD 22 and 25 and were subsequently euthanized
[f] Female 4224 (5 mg/kg) and females 4272 and 4274 (30 mg/kg) delivered on GD 29 and were subsequently euthanized.
[g] 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).
[h] For controls, group means are shown. For treated groups, changes are expressed as X-fold from mean control value. Statistical significance is based on actual data (not on the fold change).
* Significantly different from the control group value ($p \leq 0.05$); Kruskal-Wallis/Dunn's
** Significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$); Kruskal-Wallis/Dunn's
# Significantly different from the control group value ($p \leq 0.05$); ANOVA/Dunnett's
Significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$); ANOVA/Dunnett's
-, No noteworthy findings; AUCtau, Area under the concentration time curve calculated during the 3-day dosing interval; BLQ, Below the limit of quantitation (< 0.078 µg/mL); Cmax, Peak concentration; Ctrough, Concentration at 3 days post dose; GD, Gestation Day; GLP, Good Laboratory Practice; HDL; High-density lipoprotein; LDL, Low-density lipoprotein; NC, Not calculated; SC, Subcutaneous; SD, Standard Deviation

2.6.7.13 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

Nonpivotal Studies					**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/ Strain	**Gender and No. Per Group**	**Doses (mg/kg)**	**Route of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
New Zealand White rabbits	6 animals/ sex/group	0, 30, 100, and 300 SC 300 IV	IV or SC injection (70mM arginine-HCL, 10mM histidine, 3% [w/v] proline, 0.1% [w/v] polysorbate 80, pH 6.0)	Once every 5 days (PND 21 through PND 96); total of 16 doses	• 1 male (300 mg/kg SC) was found dead; 3 males (30 and 300 mg/kg SC and 300 mg/kg IV) and 2 females (300 mg/kg IV) were euthanized in extremis; none of the deaths were attributed to evinacumab exposure • No adverse evinacumab-related effects, including no effects on mean brain weights • Consistent with the intended pharmacology, evinacumab-related decreases in triglyceride, HDL, LDL, and total cholesterol values in all dose groups • Based on lack of toxicity, dose levels of 30, 100, and 300 mg/kg/dose IV were selected for the definitive juvenile toxicity study	R1500-TX-18035

GD, Gestation day; HDL, High-density lipoprotein; IV, Intravenous; LDL, Low-density lipoprotein; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous

2.6.7.14.A 幼若動物を用いた試験：重要な試験

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)**			**Study No. R1500-TX-17094**			
Initial Age: 21 days	**Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days**			**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 05Feb2018	**Method of Administration: SC or IV injection**						
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution							
Special Features: Toxicokinetics							
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV							
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**
Toxicokinetics: AUC								
C_{max} (µg/mL)								

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)**			**Study No. R1500-TX-17094**			
Initial Age: 21 days	**Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days**			**GLP Compliance: GLP**			
Date of First Dose: 05Feb2018	**Method of Administration: SC or IV injection**						
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution							
Special Features: Toxicokinetics							
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV							
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**
PND 21	NA	NA	144	181	493	457	1220	1020
PND 84	NA	NA	328	489	1200	2030	4200	2950
C_{trough} (µg/mL)								
PND 21	NA	NA	68.5	78.4	197	215	458	257
PND 84	NA	NA	305	352	1110	1500	1190	1320
AUC_{tau} (day•µg/mL)								
PND 21	NA	NA	702	762	2180	2280	3860	3230
PND 84	NA	NA	2210	3030	7100	12,100	13,800	12,500
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[a]	0	1	1	1	1	0	0	0
Body Weight (%)[b]	483 g	274 g	1.7%	1.8%	-1.9%	2.2%	1.4%	4.4%
Food Consumption (%)[b]	24 g/day	16 g/day	+4.2%	+6.3%	+4.2%	+6.3%	+4.2%	+6.3%
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Post weaning								
Balanopreputial Separation (days)	43.3	NA	42.4	NA	42.6	NA	42.2	NA
Vaginal Patency (days)	NA	32.0	NA	31.9	NA	32.2	NA	32.2

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats					**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)**					**Study No. R1500-TX-17094**		
Initial Age: 21 days	**Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days**					**GLP Compliance: GLP**		
Date of First Dose: 05Feb2018	**Method of Administration: SC or IV injection**							
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution								
Special Features: Toxicokinetics								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV								
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**
Functional Observational Batteries	-	-	-	-	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory Startle Response	-	-	-	-	-	-	-	-
Learning and Memory Test	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry[c]								
PND 49								
Triglycerides (mg/dL)	151	101	39 (-74.2)**	28 (-72.3)**	23 (-84.8)**	20 (-80.2)**	23 (-84.8)**	16 (-84.2)**
Cholesterol (mg/dL)	68	75	68 (0.0)	69 (-8.0)*	62 (-8.8)	68 (-9.3)*	62 (-8.8)*	61 (-18.7)**
HDL (mg/dL)	23	25	21 (-8.7)	22 (-12.0)*	20 (-13.0)**	20 (-20.0)**	19 (-17.4)**	18 (-28.0)**
LDL (mg/dL)	14	15	19 (35.7)**	15 (0.0)	18 (28.6)**	16 (6.7)	18 (28.6)**	15 (0.0)
PND 85								
Triglycerides (mg/dL)	44	31	24 (-45.5)**	25 (-19.4)	25 (-43.2)**	22 (-29.0)**	23 (-47.7)**	20 (-35.5)**
Cholesterol (mg/dL)	57	74	57 (0.0)	67 (-9.5)	58 (1.8)	70 (-5.4)	56 (-1.8)	56 (-24.3)
Albumin (g/dL)	3.9	4.6	4.0 (2.6)	4.6 (0.0)	4.1 (5.1)*	4.6 (0.0)	4.1 (5.1)*	4.5 (-2.2)

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats					**Test Article: evinacumab (REGN1500)**			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)**					**Study No. R1500-TX-17094**		
Initial Age: 21 days	**Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days**					**GLP Compliance: GLP**		
Date of First Dose: 05Feb2018	**Method of Administration: SC or IV injection**							
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution								
Special Features: Toxicokinetics								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV								
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**
Total protein (g/dL)	6.4	7.3	6.5 (1.6)	7.5 (2.7)	6.8 (6.3)**	7.6 (4.1)	7.0 (9.4)**	7.5 (2.7)
Globulin (g/dL)	2.5	2.8	2.6 (4.0)	2.9 (3.6)	2.7 (8.0)*	3.0 (7.1)*	2.9 (16.0)**	3.0 (7.1)**
A/G ratio	1.56	1.67	1.56 (0.0)	1.64 (-1.8)	1.50 (-3.8)	1.57 (-6.0)	1.41 (-9.6)**	1.48 (-11.4)**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights & Measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								
Number Examined	10	10	9	10	10	10	10	10
Injection Site (upper scapular), dark red area	0	1	0	1	2	2	0	0
Histopathology								
Number Examined	10	10	9	10	10	10	10	10
Injection Site (upper scapular)								
Infiltrate, mixed cell	3	5	6	7	8	9	NA	NA
Minimal	3	5	3	7	1	7	NA	NA
Mild	0	0	1	0	5	2	NA	NA
Moderate	0	0	2	0	2	0	NA	NA

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats					Test Article: evinacumab (REGN1500)			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)				Study No. R1500-TX-17094			
Initial Age: 21 days	Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days				GLP Compliance: GLP			
Date of First Dose: 05Feb2018	Method of Administration: SC or IV injection							
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution								
Special Features: Toxicokinetics								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV								
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	**0 (SC)**		**30 (SC)**		**100 (SC)**		**100 (IV)**	
Number of Animals	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**	**M:30**	**F:30**
Hemorrhage	0	1	0	0	3	0	NA	NA
Minimal	-	1	-	-	3	-	NA	NA
Fibrosis	0	0	0	0	0	1	NA	NA
Minimal	-	-	-	-	-	1	NA	NA
Injection Site (lower scapular)								
Infiltrate, mixed cell	2	1	0	5	3	6	NA	NA
Minimal	2	1	-	4	1	2	NA	NA
Mild	-	0	-	1	2	3	NA	NA
Moderate	-	-	-	0	0	1	NA	NA
Fibrosis	0	0	0	1	0	3	NA	NA
Minimal	-	-	-	1	-	0	NA	NA
Mild	-	-	-	0	-	3	NA	NA
Hemorrhage	0	0	0	0	0	1	NA	NA
Minimal	-	-	-	-	-	1	NA	NA
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluation								
Body Weight (%)[d]	656 g	303 g	-2.9%	+6.3%	-4.0%	+6.3%	-0.6%	+7.3%

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats					Test Article: evinacumab (REGN1500)			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)				Study No. R1500-TX-17094			
Initial Age: 21 days	Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days				GLP Compliance: GLP			
Date of First Dose: 05Feb2018	Method of Administration: SC or IV injection							
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution								
Special Features: Toxicokinetics								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV								
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	0 (SC)		30 (SC)		100 (SC)		100 (IV)	
Number of Animals	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30
Food Consumption (%)[d]	26 g/day	15 g/day	-3.8%	0.0%	0.0%	+13.3%	-3.8%	+6.7%
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observational Batteries	-	-	-	-	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory Startle Response	-	-	-	-	-	-	-	-
Learning and Memory Test	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry[d]								
PND 112								
Triglycerides (mg/dL)	198	122	129 (-34.8)	45 (-63.1)**	50 (-74.7)**	58 (-52.5)**	43 (-78.3)**	24 (-80.3)**
LDL (mg/dL)	14	11	14 (0.0)	11 (0.0)	14 (0.0)	11 (0.0)	19 (35.7)*	11 (0.0)
PND 141	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights & Measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								

Report Title: R1500: A Subcutaneous or Intravenous (Bolus) Injection Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats					Test Article: evinacumab (REGN1500)			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: PND 21–84 (once weekly)				Study No. R1500-TX-17094			
Initial Age: 21 days	Duration of Recovery Period: Minimum of 56 days				GLP Compliance: GLP			
Date of First Dose: 05Feb2018	Method of Administration: SC or IV injection							
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP/Solution								
Special Features: Toxicokinetics								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/dose, SC or IV								
Dose Level: mg/kg/dose (Route)	0 (SC)		30 (SC)		100 (SC)		100 (IV)	
Number of Animals	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30
Number Examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Injection Site (upper scapular), dark red area	0	0	0	0	1	0	0	0
Injection Site (upper scapular), dark red discoloration	0	0	0	0	1	0	0	0
Injection Site (lower scapular), dark, red area	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology								
Number Examined	5	5	5	5	5	5	1	1
Injection Site (upper scapular)								
Infiltrate, mixed cell	1	2	2	1	2	2	NA	NA
Minimal	1	2	2	1	2	2	NA	NA
Hemorrhage	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Minimal	-	-	-	-	1	-	NA	NA
Injection Site (lower scapular)								
Infiltrate, mixed cell	0	0	0	0	1	1	NA	NA
Minimal	-	-	-	-	1	1	NA	NA
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] A total of 5 animals were found dead during the study; none of these deaths were attributed to evinacumab.
[b] At the end of the dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[d] At the end of the recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
-, No noteworthy findings; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 168 hours following each dose; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; HDL, High-density lipoprotein cholesterol; IV, Intravenous; LDL, Low-density lipoprotein cholesterol; M, Male; N/A, Not applicable; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous
Dunnett's Test *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$

2.6.7.14.B 幼若動物を用いた試験：重要な試験

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**			
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**			
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics				
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose				
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Toxicokinetics:[a]				
C_{max} (µg/mL)				
PND 21 (1st Dose)	NA	222	799	2390
PND 141 (25th Dose)	NA	1160	4790	11,000
C_{trough} (µg/mL)				
PND 21 (1st Dose)	NA	124	446	1330
PND 141 (25th Dose)	NA	803	3480	7930
t_{max} (h)				
PND 21 (1st Dose)	NA	24.8	29.6	31.2
PND 141 (25th Dose)	NA	29.3	36.0	27.2
AUC_{tau} (day·µg/mL)				
PND 21 (1st Dose)	NA	904	3350	9800
PND 141 (25th Dose)	NA	4770	20,000	45,800
Males (Dosing Period)				
No. Evaluated	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Died or Euthanized in Extremis[b]	3	0	2	3
Clinical Observations	-	-	-	-

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**	
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**	
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**				
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**				
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics					
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose					
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**	
Body Weight g (%)[c]	3415	3492 (2.3)	3395 (-0.6)	3431 (0.5)	
Food Consumption	-	-	-	-	
Mean Age at Preputial Separation (days)	70.4	70.6	70.9	72.0	
Functional Observation Battery	-	-	-	-	
Hematology	-	-	-	-	
Coagulation	-	-	-	-	
Serum Chemistry and Serum Lipid					
Cholesterol (mg/dL)					
PND 51	69	39**	25**	18**	
PND 81	52	26**	14**	10**	
PND 111	50	21**	14**	12**	
PND 130	42	17**	12**	12**	
PND 141	44	15**	14**	12	
PND 146	37	15**	14**	13**	
Triglycerides (mg/dL)					
PND 51	85	39**	21**	14**	
PND 81	95	35*	18**	47	
PND 111	124	28**	16**	16**	

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**	
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**	
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**				
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**				
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics					
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose					
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**	
PND 130	157	35**	24**	27**	
PND 141	200	24**	31**	17**	
PND 146	129	27**	22**	19**	
HDL (mg/dL)					
PND 51	34	19**	10**	6**	
PND 81	29	13**	4**	2**	
PND 111	26	11**	6**	6**	
PND 130	19	9*	6	6	
PND 141	17	7**	6**	5**	
LDL (mg/dL)					
PND 51	33	27	19**	16**	
PND 81	18	13	9**	5**	
PND 111	14	9*	7**	5**	
PND 130	11	7	5**	4*	
PND 141	11	7	6	4	
Total protein (g/dL)					
PND 81	5.6	5.6	5.8**	6.2**	
PND 111	5.6	5.6	5.9**	6.4**	

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**			
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**			
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics				
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose				
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
PND 130	5.6	5.7	6.0**	6.6**
PND 141	5.9	5.9	6.2*	6.7**
PND 146	5.6	5.6	5.8	6.4**
Serum Chemistry and Serum Lipid				
Globulin (g/dL)				
PND 146	1.3	1.3	1.5**	2.0**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-
Stereology	-	-	-	-
Females (Dosing Period)				
No. Evaluated	**40**	**40**	**40**	**40**
No. Died or Euthanized in Extremis[b]	2	3	3	3
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight g (%)[c]	3575	3741 (4.6)	3623 (1.3)	3509 (-1.8)
Food Consumption	-	-	-	-
Mean Age at Vaginal Patency (days)	42.4	37.5**	38.0**	38.6*
Functional Observational Battery	-	-	-	-

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**	
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**	
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**				
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**				
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics					
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose					
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**	
Hematology					
Red blood cell count (mil/µL)	6.32	6.34	6.08	5.79	
Hemoglobin (g/dL)	13.4	13.7	13.3	12.8	
Hematocrit (%)	41.7	42.5	41.9	40.2	
Reticulocyte (%)	4.8	4.4	5.2	7.6*	
Reticulocyte count (thous/µL)	299.8	277.0	308.4	423.1*	
Mean corpuscular volume (fL)	66.1	67.1	69.1*	69.5**	
Red cell distribution width (%)	13.2	13.2	13.9	14.8*	
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.20	2.29	2.44	2.72**	
Coagulation	-	-	-	-	
Serum Chemistry and Serum Lipid					
Cholesterol (mg/dL)					
PND 51	78	42**	21**	18**	
PND 81	79	40**	22**	17**	
PND 111	81	35**	21**	15**	
PND 130	74	29**	18**	14**	
PND 141	73	27**	19**	25**	
PND 146	67	23**	31**	26**	

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**	
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**	
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**				
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**				
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics					
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose					
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**	
Triglycerides (mg/dL)					
PND 51	72	40**	20**	14**	
PND 81	67	38**	18**	18**	
PND 111	49	27**	14**	12**	
PND 130	65	36**	24**	22**	
PND 141	56	24**	19**	30**	
PND 146	67	57	24	27	
HDL (mg/dL)					
PND 51	37	18**	7**	6**	
PND 81	44	19**	7**	5**	
PND 111	49	16**	8**	6**	
PND 130	46	13**	8**	6**	
PND 141	46	11**	8**	7**	
LDL (mg/dL)					
PND 51	41	28**	18**	15**	
PND 81	35	23**	17**	11**	
PND 111	31	20**	14**	9**	
PND 130	25	15**	10**	7**	

Study Title: R1500: An Intravenous (Slow Push) Injection Juvenile Toxicity Study in Rabbits				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**	
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:**	**M: Once every 5 days during PND 21–141**		**Study No.: R1500-TX-17093**	
		F: Once every 5 days during PND 21–141		**GLP Compliance: GLP**	
Initial Age: PND 21	**Method of Administration: Intravenous injection (slow push)**				
Date of First Dose: 03Dec2018	**Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection, USP**				
Special Features: Bioanalysis, anti-drug antibody analysis, and toxicokinetics					
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/dose					
Dose Level (mg/kg/dose)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**	
PND 141	24	15	11*	15	
Total protein (g/dL)					
PND 81	5.3	5.4	5.6**	5.8**	
PND 111	5.3	5.5**	5.8**	6.2**	
PND 130	5.5	5.6	5.9**	6.3**	
PND 141	5.6	5.9**	6.1**	6.5**	
PND 146	5.4	5.6	5.9**	6.3**	
Globulin (g/dL)					
PND 146	1.2	1.3	1.6**	2.2**	
Necropsy Observations	-	-	-	-	
Organ Weights	-	-	-	-	
Histopathology	-	-	-	-	
Stereology	-	-	-	-	

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test

[a] Toxicokinetic parameters are presented as combined male and female values (male N = 20/group; female N = 40/group).

[b] Two and 3 males in the 100 and 300 mg/kg dose groups, respectively, and 3 females in each of the 30, 100, and 300 mg/kg dose groups were found dead or euthanized in extremis during PND 26 through PND 144. The mortality and moribundity were not considered to be related to the administration of evinacumab.

[c] At end of dosing period. For all groups, means are shown. For drug-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

-, No noteworthy findings; AUC_{tau}, Area under the concentration-time curve calculated during the 5-day dosing interval; C_{max}, Peak concentration; C_{trough}, Concentration at 120 hours following each dose; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; HDL, High-density lipoprotein; LDL, Low-density lipoprotein; M, Male; NOAEL, No-observed-adverse-effect level; N, Number of animals; NA, Not applicable; PND, Postnatal day; t_{max}, Time to C_{max}

Note: This summary table presents dosing period data only.

2.6.7.15 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.7.16 その他の毒性試験：組織交差反応性

<table>
<tr><td colspan="2">Report Title: Tissue Cross-Reactivity of REGN1500 with Human, Cynomolgus Monkey, and Rat Tissues In Vitro</td><td>Test Article: evinacumab (REGN1500)
Study No. REGN1500-TX-11074</td></tr>
<tr><td>Test System: Tissue Cryosections</td><td>Immunochemistry Detection: Immunoperoxidase</td><td>GLP Compliance: GLP</td></tr>
<tr><td>Evinacumab concentrations: 1.0 or 10 µg/mL</td><td>Exposure Period: 30 minutes</td><td>Tissue Source: Commercial tissue banks (human tissues), and testing facility tissue banks (rat and monkey tissues)</td></tr>
<tr><td>No. of Tissues Evaluated: 30-34 per species</td><td>No. of Samples/Tissues Evaluated: 3 human donors or 3 animal donors per tissue</td><td rowspan="2">Notes: Specific staining of endothelial cells or megakaryocytes occurred in all tissues examined (except blood cells), qualifying the tissues for immunohistochemistry</td></tr>
<tr><td>Positive control:
Recombinant human AngPTL3 (REGN377) coupled to sepharose beads</td><td>Negative control:
Recombinant human DLL4 (REGN25) coupled to sepharose beads</td></tr>
<tr><td colspan="3">Tissue Elements/Tissues Where Cross-Reactivity was Detected</td></tr>
<tr><td>Human</td><td>Monkey</td><td>Rat</td></tr>
<tr><td>No staining with evinacumab was present in the human tissue panel examined</td><td>No staining with evinacumab was present in the cynomolgus monkey tissue panel examined</td><td>No staining with evinacumab was present in the Sprague Dawley rat tissue panel examined</td></tr>
</table>

AngPTL3, Angiopoietin-like 3; DLL4, Delta like ligand 4; GLP, Good Laboratory Practice