目次

2.6.6　毒性試験の概要文 4
2.6.6.1　まとめ 4
2.6.6.2　単回投与毒性試験 12
2.6.6.2.1　ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験） 12
2.6.6.2.2　カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験） 14
2.6.6.3　反復投与毒性試験 15
2.6.6.3.1　ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験 15
2.6.6.3.2　ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験 19
2.6.6.3.3　ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験） 22
2.6.6.3.4　カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験） 24
2.6.6.4　遺伝毒性試験 27
2.6.6.4.1　細菌を用いた復帰突然変異試験（AB12SY.503.BTL 試験） 27
2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（AB12SY.341.BTL 試験） 27
2.6.6.4.3　ICR マウスを用いた小核試験（AC10VW.123.BTL 試験）重要な試験 28
2.6.6.5　がん原性試験 29
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 30
2.6.6.6.1　生殖発生毒性試験：用量設定試験 30
2.6.6.6.2　生殖発生毒性試験 32
2.6.6.7　幼若動物を用いる安全性試験 37
2.6.6.8　局所刺激性試験 37
2.6.6.8.1　眼における刺激性 37
2.6.6.8.2　静脈内投与部位における刺激性 38
2.6.6.9　その他の毒性試験 38
2.6.6.10　考察及び結論 38
2.6.6.11　図表 43
2.6.6.12　参考文献 43

表

表 2.6.6- 1　毒性試験一覧 9
表 2.6.6- 2　ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験の群構成 16
表 2.6.6- 3　ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験の群構成.....19
表 2.6.6- 4　ICR マウスを用いた小核試験の群構成 29
表 2.6.6- 5　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験の群構成.....31
表 2.6.6- 6　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験の群構成.....32
表 2.6.6- 7　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の群構成 33
表 2.6.6- 8　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の群構成 35
表 2.6.6- 9　毒性試験及び安全性薬理試験における NOAEL での全身曝露量とヒトの全身曝露量との比較.....40

略語及び用語の一覧

略語及び用語	定義
A/G	albumin/globulin：アルブミン/グロブリン
ALT	alanine transaminase：アラニントランスアミナーゼ
AMD	age-related macular degeneration：加齢性黄斑変性
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC_{24}	area under the concentration-time curve over the last 24-h dosing interval：投与後 0 時間から投与後 24 時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve to the last quantifiable time-point：投与後最終定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\tau}$	area under the concentration-time curve from the time of dosing to the start of the next dosing interval at multiple dose conditions：反復投与条件での投与時から次の投与間隔の開始までの濃度－時間曲線下面積
C_0	back-extrapolated concentration at time 0：投与直後の濃度
C5	complement component 5：補体第 5 成分
C_{max}	maximum concentration：最高濃度
EFD	embryo-fetal development：胚・胎児発生
F	female：雌
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GA	geographic atrophy：地図状萎縮
GD	gestation day：妊娠日
GGT	gamma-glutamyl transferase：γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPBL	human peripheral blood lymphocytes：ヒト末梢血リンパ球
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research
M	male：雄
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocytes：小核を有する多染性赤血球
MRHD	maximum recommended human dose：ヒト推奨最大用量
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect-Level：無毒性量
NOEL	No-Observed-Effect-Level：無作用量
NZW	New Zealand White
PCE	polychromatic erythrocytes：多染性赤血球
PEG	polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
PD	pharmacodynamic：ファーマコダイナミクス
PK	pharmacokinetic：ファーマコキネティクス
SD	Sprague Dawley
$t_{1/2}$	half-life：血漿中濃度半減期
t_{max}	time to peak plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
TD	toxicodynamics：トキシコダイナミクス
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

アバシンカプタド　ペゴルナトリウム（ARC1905，以下，アバシンカプタド　ペゴル）の毒性プロファイルを明らかにするために，ICH ガイドライン M3（R2）（医薬品の臨床試験及び製造販売承認のための非臨床安全性試験の実施に関するガイダンス），ICH S2（R1）（医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス）及び ICH S5（R3）（医薬品の生殖発生毒性評価に係るガイドライン）に準拠して，非臨床毒性試験を実施した。すべての主要な毒性試験は，GLP に準拠して実施した。なお，当初，アバシンカプタド　ペゴルは異なる投与経路（静脈内投与）で開発されていたため，多くの非臨床毒性試験は静脈内投与で実施したが，重要な反復投与毒性試験は，硝子体内投与で実施した。

SD ラット及びカニクイザルを用いて，GLP に準拠した静脈内単回投与毒性試験（2.6.6.2 単回投与毒性試験）及び反復投与毒性試験（2.6.6.3 反復投与毒性試験）を実施した。また，NZW ウサギ（2.6.6.3.1 ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験）及びビーグル犬（2.6.6.3.2 ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験）を用いて硝子体内単回及び反復投与毒性試験を実施した。これらの試験では，アバシンカプタド　ペゴルの眼の局所刺激性も評価した。遺伝毒性は，GLP に準拠した，細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（AB12SY.503.BTL 試験）），ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（AB12SY.341.BTL 試験））及び ICR マウスを用いた小核試験（2.6.6.4.3 ICR マウスを用いた小核試験（AC10VW.123.BTL 試験））で評価した。また，生殖発生毒性試験として，GLP に準拠した妊娠 SD ラット（2.6.6.6.2.2.1 ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験（20334075 試験）重要な試験）及び妊娠 NZW ウサギ（2.6.6.6.2.2.2 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験（20332454 試験）重要な試験）を用いた EFD 試験を実施した。これら 2 つの EFD 試験に先立ち，妊娠 SD ラット（2.6.6.6.1.1 ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（20334072 試験））及び妊娠 NZW ウサギ（2.6.6.6.1.2 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（20332453 試験））を用いた 2 つの非 GLP 予備試験を実施した。

非臨床毒性試験の一覧を表 2.6.6- 1 及び［2.6.7.1 毒性試験：一覧表］に示す。

全ての毒性試験に，被験物質として臨床試験で使用されたものと同じアバシンカプタド　ペゴルを用いており，本申請で市販品として提案されているものと同規格である。異なるロットのアバシンカプタド　ペゴルの純度を［2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧］に示す。別途毒性評価を行った不純物はなかった。不純物については，［3.2.S.3.2 Impurities］に記載した。なお，アバシンカプタド　ペゴルの濃度及び用量は，特に明記しない限り PEG を除いたオリゴヌクレオチド含量として表記した。

単回投与毒性試験

当初，SD ラット及びカニクイザルをげっ歯類及び非げっ歯類動物種として選択して，別の適応症での静脈内投与経路におけるアバシンカプタド　ペゴルの毒性評価を行った。

SD ラットは，アバシンカプタド　ペゴルは薬理活性を示さないものの，毒性評価に適した種（及び系統）であると考えられた。これは，ラットがアンチセンスオリゴヌクレオチドで報告されている非特異的な凝固阻害作用（APTT の延長）や，標的臓器におけるオリゴヌクレオチド関連物質の蓄積に対して感受性を有する可能性が高いためであり［Farman & Kornbrust, 2003］，アバシンカプタド　ペゴルの非特異的な TD（TD の結果の考察については［2.6.2 薬理試験の概要文］を参照）と毒性の評価が可能な動物種であると考えられた。

アバシンカプタド　ペゴルは，ヒトと比べて作用が弱いものの，カニクイザルの C5 活性化を阻害することが in vitro 又は ex vivo において示されているため，カニクイザルは非臨床評価に適した動物種と考えられた。さらに，カニクイザルはアンチセンスオリゴヌクレオチドで報告されている非特異的な凝固阻害作用（APTT の延長）や標的臓器におけるオリゴヌクレオチド関連物質の蓄積に対して感受性を有することが示されており［Farman & Kornbrust, 2003］，アバシンカプタド　ペゴルの PD や TD（PD や TD の結果の考察については［2.6.2 薬理試験の概要文］を参照）及び毒性の評価が可能である動物種と考えられた。また，両動物種ともに他のオリゴヌクレオチドを基にした製品（アンチセンス）の評価に広く用いられている。

アバシンカプタド　ペゴルを単回投与した際の毒性は，SD ラットとカニクイザルを用いて静脈内投与によって評価した（2.6.6.2 単回投与毒性試験）。ラット単回静脈内投与の最高投与量は 800 mg/kg とした（2.6.6.2.1 ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験））。NOEL は 26 mg/kg であったが，NOAEL は 260 mg/kg であった。260 mg/kg では，GGT，コレステロール，蛋白，アルブミン，グロブリンの低値及び脾臓，リンパ節，胸腺，脳の脈絡叢，その他の組織におけるマクロファージの空胞化が認められた。NOAEL における AUC_{last} は，雄及び雌でそれぞれ 18574 及び 17279 μg·h/mL，C_{max} はそれぞれ 2465 及び 2205 μg/mL であった。

カニクイザルでは，単回静脈内投与した後，24 時間の持続静脈内投与（総投与量として最高 287 mg/kg）を行った（2.6.6.2.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験））。その結果，可逆的な網状赤血球数，単球数，赤血球数，血色素量，ヘマトクリット，血小板数，コレステロール，GGT，蛋白，アルブミン，グロブリン，無機リンの低値及びリンパ球数，平均血小板容積の高値並びに肝臓，脾臓，リンパ節及び他の組織におけるマクロファージの空胞化が認められた。NOEL 及び NOAEL ともに 28.7 mg/kg であり，その際の AUC_{last} は雄及び雌でそれぞれ 3569 及び 3869 μg·h/mL，C_{max} はそれぞれ 215 及び 202 μg/mL であった。

反復投与毒性試験

NZW ウサギ及びビーグル犬は，眼毒性試験に一般的に使用される動物種であり，炎症誘発作用にも反応することから，硝子体内投与によるアバシンカプタド　ペゴルの主要な反復投与毒性を評価するための動物種として選択した。

反復投与毒性試験に NZW ウサギとビーグル犬を選択した理由は他にもある。とりわけ，投与に使用できるアバシンカプタド　ペゴルの濃度には制限があった。具体的には，投与液濃度の上昇に伴い粘度が上昇するため，細い注射針を用いての硝子体内投与ができなくなる。アバシンカプタド　ペゴルの場合，投与限界の粘度を示すオリゴヌクレオチド濃度は約 30 mg/mL であり，アバシンカプタド　ペゴル濃度としてはその 5 倍の約 150 mg/mL となる。また，毒性試験における硝子体への 1 回投与容量にも制限があり，非げっ歯類の場合，過剰な投与容量により眼圧の上昇が起こるため，限界量は 50 から 100 µL 以内である。したがって，動物で硝子体内投与できるオリゴヌクレオチドの最大投与量は，1 眼当たり約 1.5～3 mg となる。動物種間の硝子体容積の違いで補正すると，この投与量は臨床曝露量の数倍の曝露を達成できると考えられた。また，仮により高い投与量が投与できたとしても，硝子体内投与用に開発されたオリゴヌクレオチドを基盤とした製品は様々な程度の非特異的免疫刺激を反映した炎症反応（細胞浸潤など）を誘発することが知られているため，3 mg／眼を超える投与量は過剰な炎症反応が発現する可能性があり評価を困難にさせる。したがって，サルにおいてアバシンカプタド　ペゴルの活性が比較的低いこと（ヒトにおける C5 活性阻害の 10 分の 1 程度［2.6.2.2.1.2.4 ヒト，カニクイザル及び SD ラットにおける抗補体活性（C5-PHARM-005-05 試験）］）を考慮すると，カニクイザルの硝子体内投与試験で投与できる最高投与量でも，過度の薬理活性を引き起こすには十分な量とはならない。以上のことから，アバシンカプタド　ペゴルの過剰な C5 阻害作用に基づく毒性を適切に評価できる動物種は存在しない。

アバシンカプタド　ペゴルを硝子体内経路で反復投与した際の毒性は，ラニビズマブ（ルセンティス®）の硝子体内併用投与による評価も含めて，NZW ウサギ及びビーグル犬を用いた 9 カ月間（10 回投与）毒性試験（2.6.6.3.1 ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験及び 2.6.6.3.2 ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験）で検討した。ウサギでは，アバシンカプタド　ペゴルに関連した唯一の所見は，最高投与量（1.5 mg／眼）における網膜の空胞化であり，この所見は休薬期間後に回復した。NOAEL は 1.5 mg／眼と考えられた。同様にビーグル犬では，0.3，1.0，3.0 mg／眼の 9 カ月間（10 回投与）の反復投与後に，網膜の空胞化が認められた。さらに，3.0 mg／眼では，脳の視索の空胞化が認められた。この変化は網膜に認められた変化の二次的な反応と考えられた。いずれの試験においても，アバシンカプタド　ペゴルに起因する他の眼の変化は認められなかった。3.0 mg／眼の脳の視索の空胞化については，眼科学的検査で変化が認められなかったことから重篤な毒性とは考えなかったものの，NOAEL としては 1.0 mg／眼とした。

アバシンカプタド　ペゴルを反復投与した際の毒性は，SD ラット及びカニクイザルを用いた 7 日間反復静脈内投与（単回静脈内投与後の持続投与）試験でも検討した（2.6.6.3.3 ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験）及び 2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験））。ラットでは，NOAEL は得られなかった。アバシンカプタド　ペゴル投与により，種々の臨床検査パラメータの変化及び病理組織学的変化（マクロファー

ジの空胞化，好塩基性空胞化，肥大／増生）が投与量依存的に認められた。これらの変化は，休薬期間の後に完全に又は部分的に回復しており，回復性があると判断された。カニクイザルでもNOAEL は得られず，MTD は 423 mg/kg であった。最高投与量の 1410 mg/kg で用量制限毒性である凝固不全に伴う心肺不全，血小板減少症，貧血，低蛋白血症，浮腫，出血が認められ，その際の AUC_{last} は雄及び雌でそれぞれ 158457 及び 154110 µg·h/mL，C_{max} はそれぞれ 1510 及び 1523 µg/mL であった。

遺伝毒性試験

アバシンカプタド　ペゴルは，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及び雌雄 ICR マウスを用いた小核試験（2.6.6.4 遺伝毒性試験）を実施し，全ての試験で結果は陰性であった。また，同様の化学修飾が施されたオリゴヌクレオチドやアバシンカプタド　ペゴルの構成成分に遺伝毒性を示唆する情報は見当たらなかった。よって，アバシンカプタド　ペゴルは変異原性及び染色体異常誘発性を示さないものと判断した。

がん原性試験

2.6.6.5 がん原性試験に述べたように，硝子体内投与時の全身曝露は極めて低いこと，遺伝毒性試験及び慢性毒性試験で発がんのリスクを示唆する結果は認められなかったこと，同効あるいは同様の物理化学的特性を有する上市品で発がんのリスクが上昇する報告がされていないことから，アバシンカプタド　ペゴルが発がん性を有していないと考えられた。さらに，局所投与によるげっ歯類のがん原性試験の実施は困難と考えられる。よって，アバシンカプタド　ペゴルのがん原性試験は不要と考えて実施しなかった。

生殖発生毒性試験

SD ラット及び NZW ウサギを胚・胎児発生毒性試験の動物種として選択した。これらの 2 種は，EFD 試験で通常用いられる動物種であり，発生毒性物質に感受性があることが実証されていることから，適切であると考えられた。カニクイザルにおけるアバシンカプタド　ペゴルの活性はヒトにおける活性の 10 分の 1 程度［2.6.2.2.1.2.4 ヒト，カニクイザル及び SD ラットにおける抗補体活性（C5-PHARM-005-05 試験）］であるため，カニクイザルを用いた胚・胎児発生試験を実施したとしても，胎児の発生に対する過剰な薬理作用の影響を確認するために非常に高い用量が必要である。しかし，そのような非常に高い用量は流産を引き起こし，試験結果の解釈を困難にさせる可能性がある。よって，ヒト以外の霊長類を選択することは不適切と考えられた。また，カニクイザルの単回及び反復静脈内投与試験では，最高用量（287 mg/kg 及び 1410 mg/kg）まで生殖器官への影響は認められなかった。

雌 SD ラット及び雌 NZW ウサギを用いた一連の生殖発生毒性試験は，静脈内投与により実施した（2.6.6.6 生殖発生毒性試験）。胚・胎児発生に関する試験は，雌ラットに 0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg/day，雌 NZW ウサギに 0.12，0.4 及び 1.2 mg/kg/day の投与量で静脈内投与して実施した。ラットでは，1.2 mg/kg/day まで母動物に対する毒性は認められなかったが，骨格変異である胸腰部短小過剰肋骨が用量依存的に認められた。この所見は，アバシンカプタド　ペゴルに関連した他の骨格所見が認められなかったことや，胎児の子宮内発育にも影響が認められなかったこ

とから毒性ではない（生後の長期生存に影響を及ぼすことはない）と判断された。この所見は，単に正常な発達過程における軽微な変異であり，発達の後期に椎骨に吸収される可能性がある。ウサギでは，1.2 mg/kg/day までの投与量で母動物又は胎児の評価項目に変化は認められなかった（2.6.6.6.2.2 胚・胎児発生）。

2.6.6.6.2 生殖発生毒性試験 に述べたように，硝子体内投与後のアバシンカプタド　ペゴルの極めて低い全身曝露及びこれまで実施した毒性試験の結果から，アバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与が患者の生殖能に影響を及ぼす可能性は低く，また，投与後に妊娠に至ったとしても出生児に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。さらに，アバシンカプタド　ペゴルの適応疾患とその発症時期からアバシンカプタド　ペゴルが妊娠可能な女性に投与される可能性が低いことを考慮し，アバシンカプタド　ペゴルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は不要と考えて実施しなかった。

幼若動物を用いる試験

アバシンカプタド　ペゴルの適応症は，加齢に伴う疾患であることから，幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

局所刺激性試験

眼の局所に対する刺激性は，NZW ウサギ及びビーグル犬を用いた主要な硝子体内反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験及び 2.6.6.3.2 ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験）で評価した。眼球の組織学的な変化は，ウサギ（1.5 mg／眼）とビーグル犬（0.3，1.0 及び 3.0 mg／眼）で観察された網膜の空胞化と，ビーグル犬（3.0 mg／眼）で観察された脳の視索の空胞化のみであった。眼科学的検査の結果から眼の機能への影響は認められなかった。

SD ラット（2.6.6.2.1 ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験）及び 2.6.6.3.3 ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験））及びカニクイザル（2.6.6.2.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）及び 2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験））における単回及び反復静脈内投与試験で，静脈内投与部位における局所刺激性を評価した。投与部位に局所刺激性を示唆する所見は認められなかった。

結論として，実施した非臨床毒性試験の結果は，MRHD である月 1 回 2 mg の硝子体内投与でのヒトにおけるアバシンカプタド　ペゴルの使用を支持するものであった。

表 2.6.6- 1　　毒性試験一覧

Type of study	Species /Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	GLP	Study Report Number / CTD Number
Single-Dose Toxicity					
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics[a]	SD rats	iv	Single iv bolus injection	Yes	KSH00038 / 4.2.3.1-1 (参)
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics[a]	Cynomolgus monkeys	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours	Yes	KSH00033 / 4.2.3.1-2 (参)
Repeated-Dose Toxicity					
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[a]	NZW rabbits	Intravitreal injection	One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	Yes	XGL00005 / 4.2.3.2-1
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[a]	Beagle dogs	Intravitreal injection	One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	Yes	XGL00006 / 4.2.3.2-2
Repeated-dose toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study[a]	SD rats	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Yes	501280 / 4.2.3.2-3 (参)
Repeated-dose toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics study[a]	Cynomolgus monkeys	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Yes	KSH00040 / 4.2.3.2-4 (参)
Genotoxicity					
In vitro mammalian chromosome aberration test	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro* ± S9	NA	Yes	AB12SY.341.BTL / 4.2.3.3.1-2 (参)

Type of study	Species /Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	GLP	Study Report Number / CTD Number
Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium* strains TA98, TA100, TA1535, and TA1537; *Escherichia coli* strain WP2*uvr*A	*In vitro* ± S9	NA	Yes	AB12SY.503.BTL / 4.2.3.3.1-1 (参)
In vivo micronucleus assay	ICR mice	iv	Single iv injection	Yes	AC10VW.123.BTL / 4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity					
Not conducted.					
Reproductive and Developmental Toxicity					
Fertility and early embryonic development					
Not conducted.					
Embryo-fetal development					
Tolerability study	Pregnant SD rats	iv	13 days	No	20334072 / 4.2.3.5.2-1 (参)
Tolerability study	Pregnant NZW rabbits	iv	13 days	No	20332453 / 4.2.3.5.2-2 (参)
Embryo-fetal development	Pregnant SD rats	iv	12 days	Yes	20334075 / 4.2.3.5.2-3
Embryo-fetal development	Pregnant NZW rabbits	iv	13 days	Yes	20332454 / 4.2.3.5.2-4
Prenatal and postnatal development, including maternal function					
Not conducted.					
Studies in Juvenile Animals					
Not conducted.					
Local Tolerance[b]					
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[a]	NZW rabbits	Intravitreal injection	One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	Yes	XGL00005 / 4.2.3.2-1
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[a]	Beagle dogs	Intravitreal injection	One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	Yes	XGL00006 / 4.2.3.2-2

Type of study	Species /Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	GLP	Study Report Number / CTD Number
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics[a]	SD rats	iv	Single iv bolus injection	Yes	KSH00038 / 4.2.3.1-1 (参)
Repeated-dose toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study[a]	SD rats	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Yes	501280 / 4.2.3.2-3 (参)
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics[a]	Cynomolgus monkeys	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours	Yes	KSH00033 / 4.2.3.1-2 (参)
Repeated-dose toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics study[a]	Cynomolgus monkeys	iv	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Yes	KSH00040 / 4.2.3.2-4 (参)
Other Toxicity Studies					
Not conducted.					

GLP: Good Laboratory Practice; ICR: Institute of Cancer Research; iv: intravenous; NA: not applicable; NZW: New Zealand White; SD: Sprague-Dawley; S9: 9000 g supernatant microsomal fraction of liver homogenate from rats exposed to Aroclor 1254

a: The study appears in multiple places as it contains pertinent data for different sections of the nonclinical toxicology module.

b: Local tolerance was assessed in all GLP compliant single and repeat dose general toxicology studies.

2.6.6.2　単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験）

添付資料 4.2.3.1-1 (参)

目的

本試験の目的は，SD ラットに単回静脈内投与した時の全身毒性，TK 及び TD を評価し，投与翌日，投与 7 日又は 14 日後における回復性を検討することであった。静脈内投与は，アバシンカプタド　ペゴルの予定臨床投与経路ではないが，試験の結果は，アバシンカプタド　ペゴルの全身毒性の理解の一助となるものである。TD（抗凝固作用）の結果については，［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照のこと。

試験デザイン

雌雄 SD ラットにアバシンカプタド　ペゴルを 0（生理食塩水対照），10，26，54，100，260，540 及び 800 mg/kg の用量で尾静脈内投与した（各群，雄 9 例，雌 7～9 例）。投与 1，7，14 日後に相当する投与 2，8，15 日目に剖検（雌雄各 3 例）した。

一般症状，体重，臨床検査（血液学，凝固系及び血液生化学検査と尿検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組織学的検査）を実施した。また，TD パラメータ及び血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度について評価した。

結果

一般症状，臓器重量，肉眼的観察に，アバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。

死亡

投与後約 1 時間以内に，540 mg/kg 群では 18 例中 3 例，800 mg/kg 群では 16 例中 5 例が死亡した。540 mg/kg 以上の群では，不規則呼吸，嗜眠，横臥及び後肢の振戦が認められた。800 mg/kg 群では腹腔内で出血を示唆する変化が認められた。死因の特定はできなかった。10 及び 260 mg/kg 群でも投与後約 1 時間以内に各群 18 例中 1 例が死亡した。10 及び 260 mg/kg 群を含め，病理検査でうっ血及び出血が認められたことから，死亡は CO_2 麻酔及び眼窩採血に関連していると考えられた。これらのことから，10 及び 260 mg/kg 群での死亡の原因は麻酔，採血等の手技的な要因によると判断した。540 及び 800 mg/kg 群の死亡原因は，手技的な要因に加えて，アバシンカプタド　ペゴル投与による影響も加わっていると考えられた。

体重

540 及び 800 mg/kg 群の雄の体重が，対照群に比べて投与 7 日目（-12%及び-16%）及び 15 日目（-9%及び-14%）でわずかに低値を示した。

臨床検査

投与翌日に，260 mg/kg 以上の群において GGT，コレステロール，血清蛋白，アルブミン及びグロブリンの軽度低値が，540 mg/kg 以上の群において赤血球数，ヘマトクリット，血色素量及び血小板数の軽度低値，白血球数，好中球数，リンパ球数及び単球数の高値並びにトリグリセリド及び A/G 比の軽度低値が，また 800 mg/kg 群において AST 及び ALT の軽度高値及び網状赤血球数の軽度低値（雌のみ）が認められた。これらの変化は投与 8 日又は 15 日目に回復した。540 mg/kg 以上の群では，尿検査で投与 2 日及び 8 日目に尿潜血の程度及び頻度の軽度上昇が認められたが，投与 15 日目にはすべて尿潜血陰性であった。

病理検査

肉眼的観察では，投与部位の赤色あるいは暗紫色化が認められたが，これらの所見は，静脈内投与用カテーテルの留置に関連した変化であり，アバシンカプタド　ペゴル投与の影響ではないと判断した。

病理組織学検査では，54 mg/kg 以上の群で多臓器において常在又は浸潤マクロファージの細胞質空胞化が用量依存的に認められた。800 mg/kg 群では，近位尿細管上皮の好塩基性顆粒，雌では骨髄で細胞数減少が認められた。800 mg/kg 群での骨髄の細胞数減少は，赤血球及び網状赤血球数の減少と相関していた。マクロファージの空胞化及び尿細管の好塩基性顆粒は，投与に起因した変化と考えられたが，変性あるいは炎症性変化を伴うものではなく，毒性変化ではないと考えられた。マクロファージの空胞化は，脾臓，肝臓，リンパ節，骨髄及び脳の脈絡叢で顕著であった。好塩基性顆粒と骨髄細胞数減少は投与 8 日目では認められなかった。一方，マクロファージの空胞化は，投与 8 日後でも認められ，投与翌日と比べて，より低用量で観察され，頻度，程度とも増加し，投与翌日では観察されなかった臓器においても認められるようになった。投与 15 日目にも同等の所見が認められたことから，14 日間では回復性がないことが示唆された。

TK

10，26，54，100，260，540 及び 800 mg/kg 投与時の C_{max} はそれぞれ 171，362，622，1057，2263，3352 及び 6095 μg/mL であった。血中アバシンカプタド　ペゴルは，10，26，54 及び 100 mg/kg では投与 3 日目まで，260 mg/kg では投与 8 日目まで，540 及び 800 mg/kg 投与時ではともに投与 15 日目まで検出された（投与 15 日目の血漿中濃度は 540 mg/kg 群で 1.3 μg/mL 及び 800 mg/kg 群で 1.1 μg/mL）。

C_{max} 及び AUC_{last} は，投与量の増加に伴って増加した。また，明らかな性差は認められなかった。

結論

SD ラットにおけるアバシンカプタド　ペゴルの NOEL は 26 mg/kg であり，C_{max} は雄で 364 μg/mL，雌で 397 μg/mL，AUC_{last} は雄で 2658 μg·h/mL，雌で 1933 μg·h/mL であった。NOAEL は 260 mg/kg であり，この用量では，GGT，コレステロール，血清蛋白，アルブミン，グロブリンの軽度低下と，脾臓，リンパ節，胸腺，脳の脈絡叢，その他の組織における軽微なマクロファージの空胞化が認められた。NOAEL における C_{max} は雄で 2465 μg/mL，雌で 2205 μg/mL，AUC_{last} は，雄で 18574 μg·h/mL，雌で 17279 μg·h/mL であった。

2.6.6.2.2　カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）

添付資料 4.2.3.1-2 (参)

目的

本試験の目的は，カニクイザルに単回静脈内投与した後の全身毒性，TK，PD 及び TD を評価し，投与 14 日後の回復性を検討することであった。静脈内投与は，アバシンカプタド　ペゴルの予定臨床投与経路ではないが，試験の結果は，アバシンカプタド　ペゴルの全身毒性の理解の一助となるものである。PD の結果については，［2.6.2.2.2.1.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験)］を，TD の結果については［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照のこと。

試験デザイン

カニクイザル 12 例（雌雄各 1 例／群）にアバシンカプタド　ペゴルを 0（生理食塩水），1，3，10，30 及び 100 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，その後投与速度 0，0.0013，0.0039，0.013，0.039 又は 0.13 mg/kg/min で 24 時間連続静脈内投与（オリゴヌクレオチドとしての総投与量は 0，2.9，8.6，28.7，86.2 又は 287 mg/kg）し，投与 14 日後に剖検した。

一般症状，体重，摂餌量，詳細な症状観察，眼検査並びに臨床検査（血液学，凝固系及び血液生化学検査と尿検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組織学的検査）を実施した。また，PD パラメータ及び TD パラメータ並びに血漿アバシンカプタド　ペゴル濃度の評価を行った。

結果

死亡は認められず，詳細な症状観察を含めた一般症状，体重，摂餌量，眼検査，尿検査，臓器重量及び肉眼的観察に，アバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。

臨床検査

投与翌日に 86.2 mg/kg 以上の群で単球数の低値及びリンパ球数の高値，投与 2 日及び 4 日後に 86.2 mg/kg 以上の群で網状赤血球数の低値，287 mg/kg 群で赤血球数，血色素量及びヘマトクリットの低値，血小板数の低値，平均血小板容積の高値が認められた。また，投与 2 日及び 4 日

後に，287 mg/kg 群でコレステロール，GGT，血清蛋白，アルブミン，グロブリン及び無機リンの低値が認められた。これらの変化は投与 14 日後には概ね回復した。

病理検査

肉眼的観察では，対照群を含めて投与部位の肥厚及び結節等が認められたが，これらの所見は静脈内投与用カテーテルの留置に関連した変化であり，アバシンカプタド　ペゴル投与の影響ではないと判断した。

病理組織学的検査では，86.2 mg/kg 以上の群で，軽微から中等度のマクロファージの空胞化が，脾臓，肝臓，リンパ節（腸間膜，下顎，膝窩），胸腺，骨髄，脈絡叢及び副腎で認められた。この空胞化は，変性又は炎症性の変化を伴うものではなく，毒性変化ではないと考えられた。

TK

1，3，10，30 及び 100 mg/kg 投与後 0.5 時間のアバシンカプタド　ペゴル濃度は，それぞれ 20.4，71.9，209，585 及び 1494 µg/mL で，投与量の増加に伴って増加した。アバシンカプタド　ペゴル濃度は，24 時間の持続投与終了時には 9.7，32.6，73，332 及び 759 µg/mL に低下した。投与後，アバシンカプタド　ペゴル濃度は徐々に低下し，2.9 及び 8.6 mg/kg では投与後 8 日まで，28.7 mg/kg では投与後 9 日まで，86.2 及び 287 mg/kg では投与後 10 日まで検出された。

C_{max}，AUC_{last} 及び AUC_{∞}は，投与量の増加に伴って増加し，明らかな性差は認められなかった。

結論

カニクイザルにおけるアバシンカプタド　ペゴルの NOEL 及び NOAEL はともに 28.7 mg/kg であり，C_{max} は雄で 215 µg/mL，雌で 202 µg/mL，AUC_{last} は雄で 3569 µg·h/mL，雌で 3869 µg·h/mL であった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験

添付資料 4.2.3.2-1

目的

本試験は，ラニビズマブの併用又は非併用投与で NZW ウサギに単回硝子体内投与又は 9 カ月間硝子体内投与（10 回投与）した際の局所及び全身に対する毒性を評価する目的で実施した。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 2 に示した。

表 2.6.6- 2　　ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験の群構成

Group Number	Number/ Sex/ Group	Treatment	Dose Level (mg/eye)	Week of Necropsy (Number Euthanized/Sex/Group)			
				1[f]	5[g]	37[h]	41
1	9	Vehicle control[a]	0	2	2	3	2
2	2	Vehicle control[a]	0			2	
3	5	Avacincaptad pegol[b]	0.15[d]	2		3	
4	5	Avacincaptad pegol[b]	0.5[d]	2		3	
5	9	Avacincaptad pegol[b]	1.5[d]	2	2	3	2
6	7	Avacincaptad pegol + Ranibizumab[c]	1.5 + 0.3[e]	2	2	3	
7[i]	3 males	Avacincaptad pegol + Vehicle control	1.5 + 0[j]				

a: Doses of vehicle control were given at the same dosing volume and schedule as avacincaptad pegol. For Group 2, two doses of vehicle control article (PBS) were given on each dosing day in a manner analogous to Group 6, to control for the effects of two consecutive intravitreal injections on each dosing day.

b: Avacincaptad pegol was administered every 4 weeks (i.e., Weeks 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, and 37).

c: Ranibizumab was administered approximately 1 hour (± 10 minutes) after the injection of avacincaptad pegol.

d: Avacincaptad pegol doses shown are expressed in terms of the oligonucleotide content. However, the total weight of the test article was approximately 5.1 times that of the oligonucleotide component, and a correction factor of 5.32 was applied for this.

e: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

f: Animals terminated three days after the first dose.

g: Animals terminated four weeks after the first dose (no second dose).

h: Animals terminated three days after the last dose.

i: These animals were used for a non-GLP assessment of the effect of the concurrent dosing (which was applied to Groups 2 and 6) on intraocular pressure, prior to commencement of the main part of the study. This assessment was limited to dosing and intraocular pressure measurements and was documented in the study records. This investigation was completed prior to initiation of Groups 1 through 6, and the animals were removed from study without necropsy.

j: The second injection for Group 7 was 30 µL of PBS.

Source: Study XGL00005

生死，一般症状，体重，摂餌状態，眼科検査，眼刺激性評価，眼圧検査，網膜電図検査，臨床検査（血液学，凝固系［TD 結果の考察については，［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照］及び血液生化学検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組織学的検査）を実施した。病理組織学的検査は，試験 1 週（初回投与の 3 日後）に剖検した 1 群，5 群及び 6 群と，試験 37 週（最終［10 回目］投与の 3 日後）に剖検した 1 群，2 群，5 群及び 6 群の全例の眼を含む全組織及び試験 1 週と 37 週に剖検した 3 群及び 4 群の眼について実施した。また，1 回目，3 回目及び 10 回目（試験 1 日，57 日及び 253 日［雄］／256 日［雌］）の投与後 0.5，3，8，24，72 及び 144 時間に血液を採取し，アバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度を測定した。

結果

病理組織学的な所見を除き，ラニビズマブの併用投与を含め，アバシンカプタド　ペゴル投与の影響は認められなかった。

死亡

3 群の雄 1 例（動物番号 4447）が初回投与の 24 日後（試験 25 日）に，4 群の雌 1 例（動物番号 4460）が 8 回目の投与前（試験 197 日）に死亡しているのが発見された。これらの死亡はいずれも試験操作のために麻酔を実施した日に起こったことから，死因は麻酔に関連したものと考えられた。また，5 群の雌 1 例（動物番号 4480）は，試験 170 日（7 回目投与）の投与過誤のため，その後のデータは評価より除外し，試験 235 日（9 回目の投与 10 日後）に検査せずに安楽死した。

眼科検査

アバシンカプタド　ペゴル投与に関連した刺激性や他の眼の変化は認められなかった。結膜における所見の一部は投与操作に起因するものであった。6 群（アバシンカプタド　ペゴル及びラニビズマブの併用投与群）では，硝子体を主とする眼の炎症反応が認められたが，ヒト蛋白質であるラニビズマブに対する免疫学的反応に起因するものと考えられた。この 6 群で認められた網膜の神経伝達に対する影響（主に網膜電図の暗所刺激に対する反応の振幅及び潜時の変化）は，上記炎症反応の二次的変化と考えられた。

病理検査

初回投与 3 日後（試験 4 日目）に剖検した動物では，投与に関連した病理組織学的変化は眼球でのみ認められた［2.6.7.7.1 ウサギを用いた反復硝子体内投与試験］。投与に関連した変化として，限局性の網膜の空胞化が，5 群（アバシンカプタド　ペゴル 1.5 mg／眼投与）の 8 眼のうち 6 眼で（軽微から中等度），6 群（アバシンカプタド　ペゴル 1.5 mg／眼及びラニビズマブ 0.3 mg／眼投与）では 8 眼のうち 3 眼（軽微から軽度）で認められた。この空胞化は，網膜の細胞への PEG 化オリゴヌクレオチドの取り込みを反映している可能性が高い。0.15 mg／眼及び 0.5 mg／眼（3 及び 4 群）では，投与に関連した眼球の病理組織学的所見は認められなかった。初回投与後 4 週間の休薬では，1 群，5 群，6 群に，投与に関連した病理組織学的所見は認められず，初回投与 3 日後に認められた網膜の空胞化は回復性があると判断された。

4 週間に 1 回の頻度で 10 回投与し，最終投与の 3 日後（37 週）に剖検した動物では，投与に関連した病理組織学的変化は主に眼球でのみ認められたが，6 群では脳の視索にも変化が認められた。初回投与 3 日後に認められた所見と同様，網膜の空胞化（軽度）が 5 群（アバシンカプタド　ペゴル 1.5 mg／眼投与）で認められた。6 群（アバシンカプタド　ペゴル 1.5 mg／眼及びラニビズマブ 0.3 mg／眼投与）では，眼球の慢性的な炎症状態を示唆する重度のびまん性網膜萎縮，前眼房及び後眼房の線維蓄積，白内障，脈絡膜の慢性炎症，重度の後眼房膿瘍や脳の視索の

空胞化など一連の所見が認められた。また 6 群では，びまん性の網膜萎縮が認められたため，他の網膜の病理組織学的な評価が困難になり，そのため，網膜の空胞化が検出されなかった。認められた眼球の所見が 5 群では軽度の限局性の網膜の空胞化に限られていたことから，6 群で認められたより重篤な眼球や脳の視索の変化は，ラニビズマブ併用投与に起因するものと考えられた。3 及び 4 群（アバシンカプタド　ペゴル 0.15 mg／眼及び 0.5 mg／眼投与）では，10 回の投与の後でも病理組織学的所見は認められなかった。最終投与（10 回）投与後 4 週間の休薬の後（41 週）に剖検した動物では，病理組織学的所見は認められなかった。

TK

投与 1 回目，3 回目及び最終 10 回目投与後のアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度は，全身曝露は低いものの，投与量の増加に伴って増加し，ほとんどが投与後 24 時間までに最大となった［2.6.7.3.3 NZW ウサギ及びビーグル犬の反復硝子体内投与試験での血漿中濃度及び 2.6.7.7.1 ウサギを用いた反復硝子体内投与試験］。反復投与による血漿中濃度に明らかな差は認められず，また，5 群と 6 群間にも明らかな差は認められなかったことから，血漿中アバシンカプタド　ペゴルの血中への移行性にラニビズマブ併用投与は影響を及ぼさないと考えられた。投与後 144 時間まで血漿中濃度が持続したことから，ウサギの硝子体内投与におけるアバシンカプタド　ペゴルの $t_{1/2}$ は少なくとも数日間であることが明らかになった。

結論

NZW ウサギは，1.5 mg／眼までアバシンカプタド　ペゴルの単回及び反復硝子体内投与において，ラニビズマブ併用の有無にかかわらず，良好な忍容性を示した。眼科学的評価（眼刺激性評価，網膜電図及び眼圧）において，アバシンカプタド　ペゴルに起因すると考えられる明らかな変化は認められず，全身毒性を示唆する変化も認められなかった。唯一アバシンカプタド　ペゴルに起因した変化は，1.5 mg／眼で認められた網膜の空胞化であった（1.5 mg／眼；5 及び 6 群）。この所見は投与 4 日（1 週，初回投与の 3 日後）及び投与 256/259 日（37 週，最終投与の 3 日後，6 群では網膜萎縮の為に検出できず）で認められたが，投与 29 日（初回投与の 4 週間後）と投与 281 日（最終投与の 4 週間後）では認められなかった。所見の程度は軽微から中等度であり，初回と 10 回目投与で反復投与による程度の増悪はなく，投与 4 週間後には回復すると考えられた。ラニビズマブ併用投与（6 群）では，眼の炎症性変化（眼科検査により検出）が増悪したが，これはヒト蛋白質の反復投与に対する免疫学的反応の結果と考えられた。さらに，6 群では，反復投与後（37 週）に，視索の病理組織所見（空胞変性）及び眼の病理組織所見（重度のびまん性網膜萎縮，前眼房及び後眼房の線維性蓄積，白内障，脈絡膜の炎症及び重度の後眼房膿瘍）が認められた。これらは眼の炎症による二次的変化と考えられた。以上のことから，アバシンカプタド　ペゴルの NOEL は単回及び反復投与で 0.5 mg／眼であったが，網膜の空胞化は毒性所見と判断しなかったことから，アバシンカプタド　ペゴルの NOAEL は 1.5 mg／眼と判断した。

2.6.6.3.2　ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験

添付資料 4.2.3.2-2

目的

本試験は，ラニビズマブとの併用又は非併用でビーグル犬に単回硝子体内投与又は 9 カ月間硝子体内投与（10 回投与）した時の，局所及び全身に対する毒性を評価する目的で実施した。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 3 に示した。

表 2.6.6- 3　　ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験の群構成

Group Number	Number/ Sex/ Group	Treatment	Dose Level (mg/eye)	Week of Necropsy (Number Euthanized/Sex/Group)			
				1[f]	5[g]	37[h]	41
1	9	Vehicle control[a]	0	2	2	3	2
2	2	Vehicle control[a]	0			2	
3	5	Avacincaptad pegol[b]	0.3 [d]	2		3	
4	5	Avacincaptad pegol[b]	1.0 [d]	2		3	
5	9	Avacincaptad pegol[b]	3.0[d]	2	2	3	2
6	7	Avacincaptad pegol + Ranibizumab[c]	3.0[d] + 0.5[e]	2	2	3	
7[i]	1 male 1 female	Avacincaptad pegol + Vehicle control	3.0[d] + 0[j]				

a: Doses of vehicle control were given at the same dosing volume and schedule as avacincaptad pegol. For Group 2, two doses of vehicle control article (PBS) were given on each dosing day in a manner analogous to Group 6, to control for the effects of two consecutive intravitreal injections on each dosing day.

b: Avacincaptad pegol was administered every 4 weeks (i.e., Weeks 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33 and 37).

c: Ranibizumab was administered on the same day and after the injection of avacincaptad pegol.

d: Avacincaptad pegol doses shown are expressed in terms of the oligonucleotide content. However, the total weight of the test article was approximately five times that of the oligonucleotide component, and a correction factor of 5.32 was used for weighing and dispensing the test material.

e: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

f: Animals were terminated three days after the first dose.

g: Animals terminated four weeks after the first dose (no second dose).

h: Animals terminated three or four days after the last dose.

i: These animals were used for a non-GLP assessment of the effect of the concurrent dosing (which was applied to Groups 2 and 6) on intraocular pressure, prior to commencement of the main part of the study. This investigation was completed prior to initiation of Groups 1 through 6, and the animals were removed from study without necropsy.

j: The second injection for Group 7 was 50 µL of PBS.

Source: Study XGL00006

生死，一般症状，体重，摂餌状態，眼科検査，眼刺激性評価，眼圧検査，心電図検査，網膜電図検査，臨床検査（血液学，凝固系［TD 結果の考察については，［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照］及び血液生化学検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組

織学的検査）を実施した。病理組織学的検査は，投与 1 週（初回投与の 3 日後）に剖検した 1 群，5 群，6 群と，投与 37 週（最終投与の 3 あるいは 4 日後）に剖検した 1 群，2 群，5 群，6 群の全例の眼を含む全組織及び試験 1 週と 37 週に剖検した 3 群及び 4 群の眼について実施した。また，1 回目，3 回目及び 10 回目（試験 1 日，57 日及び 253 日［雄］／255 日［雌］）の投与後 0.5，3，8，24，72 及び 144 時間に血液を採取し，アバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度を測定した。

結果

全ての投与群（アバシンカプタド　ペゴル 0.3，1.0 及び 3.0 mg／眼並びにラニビズマブ併用）で，投与に関連すると考えられる死亡又は一般症状は認められず，体重，摂餌状態，眼のスコアリング，眼の状態（眼科検査での評価），網膜電図検査，心電図検査，眼圧，血液学的検査又は器官重量に変化は認められなかった。

死亡

投与と関連しない 3 例の死亡が認められた。4 群の雄 1 例（動物番号 4537）が投与 87 日に死亡しているのが認められた。死亡例では一般症状に変化はなかったが，剖検で胆嚢の暗色化が認められた。この死亡は，同日に実施した網膜電図検査の際の麻酔に起因したものと考えられた。1 群の雌 1 例（動物番号 4510）及び 4 群の雌 1 例（動物番号 4542）は投与 146 日に安楽死させた。このうち，1 群の雌では投与 116 日から左眼に感染症の兆候を認め，獣医師により初めに 1%クロラムフェニコール，引き続いて硫化ゲンタマイシン点眼液による治療が行われたが，146 日には疼痛と苦痛が認められ，安楽死させた。4 群の雌については投与 115 日から同様に右眼に感染症の兆候が認められ，獣医師による同様の治療が行われたが，投与 146 日に疼痛と苦痛が認められ，安楽死させた。これら 2 例は，対照群と中間投与量群であり，投与手技に関連している可能性が高いと考えられた。

眼科検査

アバシンカプタド　ペゴル投与に起因した明らかな眼刺激性の所見は認められなかった。結膜及び角膜におけるいくつかの所見は，投与手技に起因するものであり，アバシンカプタド　ペゴル投与に起因したものではないと判断した。眼科検査，眼圧検査，網膜電図検査において，アバシンカプタド　ペゴルに起因すると考えられる変化は認められなかった。

臨床検査

アバシンカプタド　ペゴル投与に関連した変化は，1）APTT の軽度な延長（TD 結果の考察については，［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］），2）4 回目投与でのナトリウム及び塩素の軽度な高値（ただし，それ以降高値は認められていない［2.6.7.7.2 ビーグル犬を用いた反復硝子体内投与試験］）に限られていた。これらの変化は，最終投与後の 1 カ月間の休薬期間終了

時（41 週）には認められなかった。変化の程度は軽度であり，毒性学的又は生理学的意義はないものと考えられた。

病理検査

いずれの投与群でもアバシンカプタド　ペゴルに関連すると考えられる剖検所見は認められなかった。投与に関連した病理組織学的変化は眼球と脳の視索にのみ認められた［2.6.7.7.2 ビーグル犬を用いた反復硝子体内投与試験］。3.0 mg／眼のアバシンカプタド　ペゴル単回投与（ラニビズマブ 0.5 mg／眼の併用/非併用［5 群／6 群］）では，投与 1 週に限局性の網膜の空胞化（軽微から中等度）が認められた。同様の網膜の空胞化（軽度）は，アバシンカプタド　ペゴル 1.0 mg／眼を投与した 1 例（4 群）でも認められた。この変化は，4 週間の休薬後（5 週）に回復した。アバシンカプタド　ペゴル 3.0 mg／眼の 10 回投与ではラニビズマブの併用投与の有無（5 群／6 群）に関わらず，限局性又はびまん性の網膜の空胞化（軽微から中等度）が認められ，5 群の 2 例では脳の視索の空胞化が認められた。また，アバシンカプタド　ペゴル単独の 0.3 あるいは 1.0 mg／眼では，限局性の網膜の空胞化（軽微から軽度）が投与 37 週に認められたことから，37 週の時点では網膜の空胞化の無影響量は求められなかった。5 群の動物では 1 カ月の回復期間の後でも空胞化（軽微から軽度）は回復しなかった。この空胞化は，網膜の細胞内への PEG 化オリゴヌクレオチドの取り込みを反映している可能性が高い。

TK

1 回目，3 回目及び最終 10 回目投与後のアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度は，全身曝露は低いものの投与量の増加に伴って増加し，投与後 8 から 24 時間に最大となった（［2.6.7.3.3 NZW ウサギ及びビーグル犬の反復硝子体内投与試験での血漿中濃度］及び 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］）。1 回目及び 3 回目と比較して，10 回投与後の血漿中薬物濃度は明らかに高めで t_{max} も早かった。これは，眼球に認められた病理組織学的変化が全身曝露に影響を及ぼしている可能性がある。5 群と 6 群の間に明らかな差は認められなかったことから，血中への移行性にラニビズマブ併用投与は影響を及ぼさないと考えられた。また，投与後 144 時間でも血漿中濃度が持続していたことから，イヌの硝子体内投与におけるアバシンカプタド　ペゴルの $t_{1/2}$ は少なくとも数日間であることが明らかであった。

結論

ビーグル犬は，3.0 mg／眼までアバシンカプタド　ペゴルの単回及び反復硝子体内投与において，ラニビズマブ併用投与の有無にかかわらず，良好な忍容性を示した。眼科学的評価（眼科検査，網膜電図及び眼圧）においてアバシンカプタド　ペゴルに起因すると考えられる明らかな変化は認められなかった。アバシンカプタド　ペゴル投与に関連した病理組織学的所見として，1.0 及び 3.0 mg／眼の単回投与後では，軽微から中等度の網膜の空胞化，0.3，1.0 及び 3.0 mg／眼の 10 回投与後で，軽度から中等度のびまん性の網膜の空胞化が認められた。網膜の空胞化は

ラニビズマブ併用投与により増悪しなかった。この所見は，単回投与後は 1 カ月間の休薬期間の後に回復したが，3.0 mg／眼の 10 回投与では 1 カ月間の休薬期間後も回復しなかった。また，ラニビズマブ非併用の 3.0 mg／眼の 10 回投与で，脳の視索の空胞化が見られた。この変化は網膜で見られた変化の二次的な変化と考えられた。これらの病理組織学的な所見に基づき，本試験ではアバシンカプタド　ペゴルの NOEL は得られなかった。NOAEL は，網膜の空胞化は毒性所見として考えなかったものの，3.0 mg／眼で視索の空胞化が認められたため，1.0 mg／眼とした。なお，視索の空胞化は，臨床眼科学的な所見が認められなかったことから重篤な毒性とは考えなかった。

2.6.6.3.3　ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験）

添付資料 4.2.3.2-3 (参)

目的

本試験の目的は，SD ラットに静脈内投与後，7 日間連続持続静脈内投与したときの全身毒性，TK 及び TD を評価し，持続投与終了翌日又は 14 日の休薬時における回復性を検討することであった。静脈内投与は，アバシンカプタド　ペゴルの予定臨床投与経路ではないが，試験の結果は，アバシンカプタド　ペゴルの全身毒性の解釈の一助となるものである。TD の結果については，［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照のこと。

試験デザイン

SD ラットにアバシンカプタド　ペゴルを，0（生理食塩水），26，54 又は 100 mg/kg（オリゴヌクレオチド含量）の静脈内投与後に，0，341，706 又は 1310 mg/kg を 7 日間持続静脈内投与（最終的な投与量として 0，367，760 又は 1410 mg/kg）した。動物は，対照及び 1410 mg/kg 群が雌雄各 12 例／群，367 及び 760 mg/kg 群が雌雄各 6 例／群を用いた。持続投与終了 1 日後（雌雄各 6 例／群）及び 14 日後（0 及び 1410 mg/kg で雌雄各 6 例／群）に剖検した。

一般症状，体重，摂餌量，眼検査，臨床検査（血液学，血液生化学検査及び尿検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組織学的検査）を実施した。TK/TD 評価のため，サテライト群を設けた（雄 14 例／群）。

結果

死亡は認められず，一般症状，眼検査，尿検査又は肉眼所見に，アバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。

体重

1410 mg/kg 群では，雄で投与開始 7 日から 21 日後に体重の低値（最大-20%）が，雌で投与開始 11 日から 21 日後に体重の低値（最大-11%）が認められた。また，1410 mg/kg 群では，雄で投

与開始 4 日から 14 日後まで，雌で投与開始前日から 18 日後まで体重の低値あるいは体重増加量の抑制，投与開始 1 日から 21 日後までの摂餌量の低値が認められた。

臨床検査

367 mg/kg 以上の群で，網状赤血球数，白血球数，好中球数，単球，好酸球数，好塩基球数，AST，ALT，アルカリホスファターゼ，LD，コレステロール及びトリグリセリド，血清蛋白，アルブミン及びグロブリンの低値，A/G 比，グルコースの高値，760 mg/kg 以上の群で，リンパ球数，大型未分類細胞数及び血小板数の低値，平均血小板容積及び尿素窒素の高値，1410 mg/kg 群では，赤血球数，血色素量及びヘマトクリット，カルシウム及びカリウムの低値が認められた。これらの変化は 22 日目までに回復あるいは回復傾向を示した。

病理検査

肉眼的観察では，投与部位に潰瘍，肥厚等が認められたが，これらの所見は，静脈内カテーテル留置に関連した変化であり，アバシンカプタド　ペゴル投与の影響ではないと判断した。

器官重量においては，持続投与終了 1 日後では 367 mg/kg 以上の雌雄で肝臓重量の高値，367 mg/kg 以上の雄及び 760 mg/kg 以上の雌で胸腺重量の低値，760 mg/kg 以上の雌または 1410 mg/kg の雄で副腎重量の高値が認められた。持続投与終了 14 日後には，1410 mg/kg 群の胸腺重量の変化は完全に消失したが，肝臓及び副腎重量の高値，雌で脾臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，肝臓及び副腎重量の高値は空胞化マクロファージと，胸腺重量の低値は萎縮／壊死と関連していた。

持続投与終了 1 日後の病理組織学的検査では，367 mg/kg 以上の投与群で，軽微から重度のマクロファージの空胞化，好塩基性空胞化，肥大／増生が，肝臓，脾臓，リンパ節，胸腺，骨髄を中心として，種々の組織で認められた。また 760 mg/kg 以上の投与群では胸腺で軽微から中等度のリンパ球性萎縮／壊死，骨髄で軽微から重度の骨髄球／赤芽球の細胞数減少が認められた。

持続投与 14 日後の 1410 mg/kg 群では，胸腺の萎縮/壊死は完全に回復，骨髄の細胞減少は部分的に回復した。組織マクロファージの空胞化及び／又は肥大／過形成の回復傾向は限定的であった。

TK

26，54 及び 100 mg/kg の静脈内投与（最終的な投与としてそれぞれ 367，760 及び 1410 mg/kg）後の C_{max} はそれぞれ 364，922 及び 1433 μg/mL であり，投与量の増加に伴って増加した。持続静脈内投与後 15 分の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度は，それぞれ 221，422 及び 649 μg/mL であり，持続静脈内投与後 24 時間まで一定であった。その後，アバシンカプタド　ペゴル濃度は徐々に低下し，367 mg/kg では投与開始 9 日後，760 mg/kg では投与開始 10 日後，1410 mg/kg では投与開始 11 日後まで検出された。

アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与後，7 日間持続静脈内投与したときの C_{max} 及び AUC_{last} は投与量の増加に伴って増加した［2.6.7.3.1 カニクイザル及び SD ラットの単回及び反復投与における AUC］。

結論

SD ラットにおけるアバシンカプタド　ペゴルの NOAEL は求められなかった。最低用量の 367 mg/kg では，網状赤血球数及び白血球（主に好中球）数の軽度低値，肝酵素，コレステロール，トリグリセリド及び血清蛋白の軽度低値，肝臓，脾臓，リンパ節，骨髄及びその他の組織におけるマクロファージの空胞化（主に軽微）が認められた。367 mg/kg 投与後の C_{max} は 364 μg/mL，AUC_{last} は 33355 μg·h/mL であった。

2.6.6.3.4　カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）

添付資料 4.2.3.2-4 (参)

目的

本試験の目的は，カニクイザルに静脈内投与後，7 日間連続持続静脈内投与したときの全身毒性，TK，PD 及び TD を評価し，持続投与終了翌日又は 14 日の休薬時における回復性を検討することであった。静脈内投与は，アバシンカプタド　ペゴルの予定臨床投与経路ではないが，試験の結果は，アバシンカプタド　ペゴルの全身毒性の解釈の一助となるものである。PD の結果については［2.6.2.2.2.2.1 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）］を，TD の結果については［2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用］を参照のこと。

試験デザイン

カニクイザルにアバシンカプタド　ペゴルを，0（生理食塩水），10，30 及び 100 mg/kg（オリゴヌクレオチド含量）の静脈内投与後に，0，131，393 及び 1310 mg/kg を 7 日間持続静脈内投与（最終的な投与量として 0，141，423 及び 1410 mg/kg）した。動物は，対照及び 1410 mg/kg 群が雌雄各 5 例／群，141 及び 423 mg/kg 群が雌雄各 3 例／群を用いた。持続投与終了 1 日後（雌雄各 3 例／群）及び 14 日後（0 及び 1410mg/kg で雌雄各 2 例／群）に剖検した。

一般症状，体重，摂餌量，眼科学的検査，臨床検査（血液学，血液生化学検査及び尿検査）及び病理検査（器官重量，肉眼的観察及び病理組織学的検査）を実施した。PD パラメータ及び TD パラメータの評価，ならびに血漿アバシンカプタド　ペゴル濃度に基づく TK 評価を実施した。

結果

摂餌量及び眼検査に，アバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。

死亡

1410 mg/kg 群では，投与開始 5 日から 10 日後までの間に 10 例中 6 例で死亡あるいは瀕死解剖を行った。死因としては，心臓（心筋）と肺における出血と浮腫あるいはストレス関連変化に起因したものと考えられた。

一般症状

423 mg/kg 以下の群では影響は認められなかった。1410 mg/kg 群で，対照動物でも認められた黒色水様便，活動性低下，発赤，腫脹及び／又は挫傷部位，円背位の程度及び頻度が増加あるいは発現期間が延長した。また，加えて嗜眠，眼窩周囲及び陰嚢に浮腫と考えられる腫脹，呼吸困難あるいは浅速呼吸，四肢の脱力等が認められた。

体重

141 及び 423 mg/kg 群では，アバシンカプタド　ペゴルの変化は認められなかった。
1410 mg/kg 群では，体重の軽度高値が認められたが，瀕死となった動物における顕著な浮腫（組織又は体腔への体液貯留）によるものと判断した。

臨床検査

141 mg/kg 以上の群で，アルブミン，グロブリン，血漿蛋白，網状赤血球数及び A/G 比の軽微あるいは重度な低値，連銭形成の頻度増加，423 mg/kg 以上の群でコレステロールの中等度から重度な低値，赤血球パラメータの軽度から中等度の低値及び赤血球分布幅の増加，1410 mg/kg 群で中等度のトリグリセリドの低値，血小板数の顕著な低値及び好中球数，リンパ球数及び白血球数の低値が認められた。

持続投与終了 14 日後では，1410 mg/kg 群で，赤血球数，網状赤血球数，アルブミン，グロブリンの低値及び連銭形成が認められた。

1410 mg/kg の瀕死例では採取した尿検体中に顆粒状及び／又は硝子円柱が認められた。

病理検査

器官重量においては，持続投与終了 1 日後では 141 mg/kg 以上の群で，軽微から重度のマクロファージの好塩基性空胞化に関連したと考えられる肝臓，脾臓，腎臓重量の高値，軽度な皮質の肥大／過形成，軽微から中等度の皮質好酸性化，軽微から中等度のマクロファージの好塩基性空胞化に関連した副腎重量の高値，リンパ組織の萎縮による胸腺重量の低値，423 mg/kg の群で軽度の水腫に関連した膝窩リンパ節重量の高値，423 mg/kg 以上の群では，軽微から軽度のマクロファージの好塩基性空胞化，1410 mg/kg 群では，軽微な血管周囲の水腫，軽微から軽度の肺胞腔出血に関連した肺重量の高値及び軽度の多発性の心筋出血，軽度のマクロファージの好塩基性空胞化に関連した心臓重量の高値が認められた。

投与部位で肥厚等が認められたが，これらの肉眼的所見は，静脈内カテーテル留置に関連した変化であり，アバシンカプタド　ペゴル投与の影響ではないと判断した。

肉眼的観察において，持続投与終了 1 日後では，423 mg/kg 以上の群に腎臓と肝臓の退色及びリンパ節の大型化，肺の軽微な赤色化が認められ，それぞれマクロファージの好塩基性空胞化と出血に関連していると考えられた。1410 mg/kg 群では，途中死亡例及び持続投与終了 1 日後に瀕死解剖した個体で，複数の組織で浮腫及び／又は肥厚，心嚢水膜，胸水又は腹水貯留，心臓又は腎臓の褪色，空腸の異常な粘稠度又は褪色，リンパ節，脾臓，腎臓及び肝臓の肥大，心臓又は肺の赤色化が認められ，これらはすべて病理組織学的検査におけるマクロファージの好塩基性空胞化，水腫及び／又は出血に関連していると考えられた。持続投与終了 14 日後では，1410 mg/kg 群で，マクロファージの好塩基性空胞化に関連していると考えられる肝臓又は腎臓の褪色，リンパ節の大型化が認められた。

病理組織学的検査において，持続投与終了 1 日後では，141 mg/kg 以上の群に主として肝臓，脾臓，リンパ節，骨髄，腎臓に軽微から重度のマクロファージの好塩基性空胞化やマクロファージの集積が認められた。423 mg/kg 以上の群では，種々の組織の間質内（特に心臓及び肺）において好塩基性空胞化マクロファージが認められた。また，骨髄内のマクロファージは血球貪食（赤血球，赤芽球，時折好中球）を示した。マクロファージの蓄積と 423 mg/kg 以上の群で認められた浮腫及び 1410 mg/kg 群で認められた出血との関係は明らかではなかった。持続投与終了 14 日後，1410 mg/kg 群での浮腫は完全に消失し，出血やストレスに関連した副腎やリンパ組織の変化，好塩基性空胞化マクロファージの程度は回復する傾向にあった。

TK

10，30 及び 100 mg/kg の静脈内投与（最終的な投与としてそれぞれ 141，423 及び 1410 mg/kg）後の C_{max} は，それぞれ 172，389 及び 1517 μg/mL であり，投与量の増加に伴って増加した。持続静脈内投与後 24 時間まで血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度は一定であり，持続静脈内投与後 15 分ではそれぞれ 62.1，182 及び 767 μg/mL であった。その後アバシンカプタド　ペゴル濃度は徐々に低下し，141 及び 423 mg/kg 群では持続投与終了 1 日後，1410 mg/kg 群では持続投与終了 14 日後まで検出された。

アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与後，7 日間持続静脈内投与したときの C_{max} 及び AUC_{last} は投与量の増加に伴って増加［2.6.7.3.1 カニクイザル及び SD ラットの単回及び反復投与における AUC］し，明らかな性差は認められなかった。

結論

カニクイザルにおけるアバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与における NOAEL は求められなかった。最低用量の 141 mg/kg では，網状赤血球数，アルブミン，グロブリン及び血漿蛋白の軽度低値，連銭形成，肝臓，脾臓，リンパ節，骨髄，腎臓及びその他の組織における軽微から中等度のマクロファージの空胞化，肝臓，脾臓，腎臓及び副腎重量の高値，胸腺重量の低値が認めら

れた。141 mg/kg 投与後の C_{max} は雄で 165 μg/mL 及び雌で 179 μg/mL，AUC_{last} は，雄で 12968 μg·h/mL 及び雌で 14370 μg·h/mL であった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

2.6.6.4.1　細菌を用いた復帰突然変異試験（AB12SY.503.BTL 試験）

添付資料 4.2.3.3.1-1 (参)

この試験の目的は，ネズミチフス菌及び大腸菌を用いて，プレート法により代謝活性化存在下及び非存在下で，アバシンカプタド　ペゴルの突然変異誘発能を調べることであった。アバシンカプタド　ペゴルは 40.1 mg/mL を生理食塩水で希釈して使用した。

試験は 2 段階で実施した。初回試験は，変異原性試験の適切な濃度を決定するために，代謝活性化存在下及び非存在下で，ネズミチフス菌（TA100，TA98，TA1535，TA1537）及び大腸菌（WP2 *uvr*A）を用いて実施した。陽性対照は，非代謝活性化法では 2-ニトロフルオレン（TA98），アジ化ナトリウム（TA100 及び TA1535），9-アミノアクリジン（TA1537），及びメタンスルホン酸メチル（WP2 *uvr*A）を，代謝活性化法では，すべての試験菌株に 2-アミノアントラセンを用いた。陰性対照として生理食塩水を用いた。被験物質液の無菌性についても評価した。アバシンカプタド　ペゴルは，1.5～5000 μg/プレートの 8 濃度で実施した。被験物質は無菌であり，被験物質の析出及び生育阻害が無く，全ての試験菌株で代謝活性化の有無に関わらず変異原性の陽性反応は認められなかった。

この結果に基づき，確認試験はアバシンカプタド　ペゴルの 50，150，500，1500 及び 5000 μg／プレートの用量で，1 群 3 プレートで実施して平均値を算出して解析した。アバシンカプタド　ペゴルの濃度確認の結果，実際の濃度は 48.8，148.8，496.3，1226.3 及び 4712.5 μg／プレートであり，最高設定濃度は，規定濃度の基準内（±10%）であった。その結果，アバシンカプタド　ペゴルは，5000 μg／プレート（実際の濃度は 4712.5 μg／プレート）まで，被験物質の析出及び生育阻害は無く，全ての試験菌株で代謝活性化の有無に関わらず変異原性を示さなかった。

したがって，細菌を用いた復帰突然変異試験では，アバシンカプタド　ペゴルは変異原性誘発能を持たないと考えられた。

2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（AB12SY.341.BTL 試験）

添付資料 4.2.3.3.1-2 (参)

この試験の目的は，HPBL を用いて，代謝活性化存在下及び非存在下で，染色体の数的及び構造異常を有する分裂中期細胞の割合を調べ，アバシンカプタド　ペゴルの染色体異常誘発能を評価することであった。アバシンカプタド　ペゴルは 40.1 mg/mL を生理食塩水で希釈して使用した。

予備試験は，染色体異常本試験の濃度設定のために実施した。陰性対照として生理食塩水（0.9%）を用い，生理食塩水対照に対する分裂指数（MI）の 50%以上の抑制を毒性と定義し

た。アバシンカプタド　ペゴルは，非代謝活性化の 20 時間処理及び代謝活性化及び非代謝活性化の 4 時間処理の 3 系列で，0.401～4010 μg/mL までの 9 濃度で評価した。予備試験では，3 系列のいずれにおいても，アバシナプタドペゴル濃度 1203 μg/mL 以上で毒性を示し，4010 μg/mL は処理開始時及び終了時に被験物質の析出がみられた。この予備試験の結果より，本試験のアバシンカプタド　ペゴルの濃度は，125，250，500，1000，1200，1350 及び 1500 μg/mL とした。

本試験では，アバシンカプタド　ペゴルの濃度を 125，250，500，1000，1200，1350 及び 1500 μg/mL として設定したが，実際の濃度は，135，235，451，889，1050，1190 及び 1300 μg/mL であった。設定濃度 1000 μg/mL 以上の濃度は，規定濃度の範囲内（±10%）ではなかったが，染色体異常試験では，1200 μg/mL 以上の濃度で毒性が認められたことから，試験系として許容される最大濃度であることが示されたため，設定濃度は許容されると考えられた。染色体異常本試験では，非代謝活性化の 20 時間処理及び代謝活性化及び非代謝活性化の 4 時間処理の 3 系列で HPBL 細胞を用いて 1 群 2 枚で実施し，平均値を算出して解析した。陰性対照として生理食塩水を，非活性化及び代謝活性化法における陽性対照は，それぞれマイトマイシン C 及びシクロホスファミドを用いた。その結果，アバシンカプタド　ペゴルは，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても，陰性対照群と比較して染色体の数的異常及び構造異常を有する細胞数の統計学的に有意な増加を示さなかった。

以上のことから，HPBL を用いた in vitro 染色体異常試験において，アバシンカプタド　ペゴルは染色体の構造異常及び数的異常誘発能を持たないと考えられた。

2.6.6.4.3　ICR マウスを用いた小核試験（AC10VW.123.BTL 試験）重要な試験

添付資料 4.2.3.3.2-1

本試験の目的は，単回静脈内投与後のマウス骨髄における MPCE 誘発能を調べて，アバシンカプタド　ペゴルの染色体異常誘発能を評価することであった。アバシンカプタド　ペゴルの予定臨床投与経路は硝子体内であるが，本試験では最大全身曝露量を得るために静脈内投与で実施した。

用量設定試験では，本試験の用量を設定するため，アバシンカプタド　ペゴルの 500，1000，1500 及び 2000 mg/kg（オリゴヌクレオチドとしてそれぞれ 94，188，282 及び 376 mg/kg）を，雌雄 ICR マウスの各 3 例に 12.53 mL/kg の投与容量で単回静脈内投与した。いずれの投与群においても死亡は認められなかった。雌マウスではすべての被験物質投与群で一般症状に変化は認められなかったが，雄マウスではすべての被験物質投与群に立毛が認められた。死亡例が認められなかったことから，本試験の最高用量は 2000 mg/kg（オリゴヌクレオチドとして 376 mg/kg）に設定した。

本試験では，用量設定試験の結果を基に，アバシンカプタド　ペゴルの 500，1000 及び 2000 mg/kg（オリゴヌクレオチドとしてそれぞれ 94，188 及び 376 mg/kg）を 12.53 mL/kg の投与容量で雌雄 ICR マウスの尾静脈へ単回静脈内投与した。被験物質の溶媒（陰性）対照物質はリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を，陽性対照物質はシクロホスファミド一水和物 50 mg/kg を用いた。

陽性対照物質の投与容量は 10 mL/kg とした。投与 24 及び 48 時間後の剖検時に大腿骨骨髄を採取し，骨髄塗抹標本を作製し，May-Gruenwald-Giemsa 染色で染色した後に，MPCE 数を調べた。また，赤血球当たりの PCE 数を調べ，MPCE の出現率及び全赤血球に対する多染性赤血球出現率を算出した。データの統計解析は，Kastenbaum-Bowman Tables（2 項分布，有意水準は $p \leqq 0.05$）を用いて，雌雄 ICR マウスの骨髄における MPCE の出現率に対するアバシンカプタド　ペゴルの影響を評価した。

本試験の群構成を表 2.6.6- 4 に示す。

表 2.6.6- 4　　ICR マウスを用いた小核試験の群構成

Treatment	Dose level (mg/kg)	Number/Sex/Group	Number Euthanized/Sex/Group	
			24 hours[a]	48 hours[a]
Vehicle (PBS)[b]	0	10	5	5
Avacincaptad pegol[b]	94[d]	5	5	NA
	188[e]	5	5	NA
	376[f]	15[g]	5	5
CP[c]	50	5	5	NA

CP: Cyclophosphamide monohydrate, PBS: phosphate buffered saline; NA: not applicable
a: Hours after the treatment
b: The vehicle and test article formulations administered at a volume of 12.53 mg/mL.
c: The dosing volume was 10 mL/kg.
d: Corresponds to 500 mg/kg of avacincaptad pegol
e: Corresponds to 1000 mg/kg of avacincaptad pegol
f: Corresponds to 2000 mg/kg of avacincaptad pegol
g: Included 5 replacement mice/sex to ensure the availability of five mice for the micronucleus analysis
Source: Study AC10VW.123.BTL

本試験では，いずれの投与群においても死亡は認められなかった。試験期間中，全投与群の雌及び溶媒または陽性対照物質群の雄の一般症状に変化はなかったが，全アバシンカプタド　ペゴル投与群の雄で立毛が認められたのみであった。最大 2000 mg/kg（オリゴヌクレオチド含量として 376 mg/kg）を含む用量で雌雄 ICR マウスの骨髄における MPCE の出現率の有意な増加も認められなかった。

したがって，マウス小核試験ではアバシンカプタド　ペゴルは染色体異常誘発能を有さないと考えられた。

2.6.6.5　がん原性試験

実施したアバシンカプタド　ペゴルの NZW ウサギ及びビーグル犬を用いた硝子体内投与毒性試験（2.6.6.3 反復投与毒性試験）では，全身曝露は極めて低く，NZW ウサギ及びビーグル犬の最高用量（NZW ウサギで 1500 µg／眼，ビーグル犬で 3000 µg／眼）における血漿中 C_{max} は，それぞれ 0.0513 µg/mL 及び 0.4887 µg/mL であった。また，海外で実施された GA を伴う萎縮型 AMD 患者を対象とした ISEE2008 試験（海外第 3 相試験［ISEE2008］）においても同様で，アバ

シンカプタド　ペゴル 2 mg 投与による定常状態での血漿中濃度（幾何平均 C_{max}）は 0.347 µg/mL であり，硝子体内投与後の全身曝露量が低いことが示されている。また，反復投与後の平均トラフ血漿中濃度は，0.0289 µg/mL 程度であり蓄積性もなかった。

アバシンカプタド　ペゴルの NZW ウサギ及びビーグル犬を用いた 9 カ月間（4 週間隔で 10 回投与）硝子体内投与毒性試験（2.6.6.3 反復投与毒性試験）では，NZW ウサギ及びビーグル犬の最高用量においても，血液学的検査結果や免疫系への影響を示唆する変化はなく，いずれの器官・臓器でも腫瘍形成，形質転換細胞又は増殖性病変は認められなかった。また，細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（AB12SY.503.BTL 試験）），ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験（2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（AB12SY.341.BTL 試験））及び雌雄 ICR マウスを用いた in vivo 小核試験（2.6.6.4.3 ICR マウスを用いた小核試験（AC10VW.123.BTL 試験））を実施し，変異原性又は染色体異常誘発性は認められなかった。

アバシンカプタド　ペゴルと類似の C5 阻害作用を有する抗 C5 モノクローナル抗体薬及び同じ核酸の化学修飾を有する PEG 化オリゴヌクレオチド製品では，発がんのリスクが上昇する報告はなかった。

以上より，硝子体内投与時の全身曝露は極めて低いこと，遺伝毒性試験及び慢性毒性試験で発がんのリスクを示唆する結果は認められなかったこと，同効あるいは同様の物理化学的特性を有する上市品で発がんのリスクが上昇する報告がされていないことから，アバシンカプタド　ペゴルが発がん性を有しているとは考えられなかった。

加えて，げっ歯類への長期の硝子体内投与は眼に累積的な炎症変化を引き起こし腫瘍性変化の評価が困難になる可能性が高いこと，げっ歯類の硝子体は容量が小さいため投与できる最大量に限界があること，代替投与経路では全身曝露に比べて眼への曝露はわずかとなることから，局所投与によるげっ歯類のがん原性試験の実施は困難と考えた。

よって，ICH S1B（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について）に基づいて，アバシンカプタド　ペゴルがん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1　生殖発生毒性試験：用量設定試験

2.6.6.6.1.1　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（20334072 試験）

添付資料 4.2.3.5.2-1 (参)

目的

用量設定試験の目的は，雌性 SD ラットを用いて着床から硬口蓋閉鎖までの間，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与し，母体に対する影響並びに胚・胎児に対する生存性を予備的に検討し，胚・胎児発生試験で使用する用量設定のための情報を提供することであった。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 5 に示した。

表 2.6.6- 5　　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)[a]	Dose Volume (mL/kg)[b]	No. of Females
1	Avacincaptad pegol	0.1	0.05	2	4
2	Avacincaptad pegol	1.2	0.6	2	4

a: The dose concentration is expressed as oligonucleotide content.
b: Based on the most recent weight measurement
Source: Study 20334072

アバシンカプタド　ペゴルを雌性 SD ラットの妊娠 6 日から 18 日まで静脈内投与し，妊娠 19 日に屠殺した。

結果

いずれの投与群においても死亡は認められず，アバシンカプタド　ペゴル投与に関連すると考えられる一般症状，体重又は体重増加量に加えて，妊娠子宮重量を考慮した体重，体重増加量及び摂餌量の変化は認められなかった。

いずれの投与群においても，黄体数，着床数，着床前死亡率，生存胎児数及び死亡胎児数，早期吸収胚数及び後期吸収胚数，着床後死亡率は 2 群間で同程度であり，SD ラットにおける正常範囲内の数値であった。

結論

1.2 mg/kg/day までのアバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与は，母動物で良好な忍容性を示した。ラットを用いた胚・胎児発生試験の最高用量は，1.2 mg/kg/day が適切であると判断された。

2.6.6.6.1.2　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（20332453 試験）

添付資料 4.2.3.5.2-2 (参)

目的

用量設定試験の目的は，雌性ウサギを用いて着床から硬口蓋閉鎖までの間，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与し，母動物に対する影響及び胚・胎児に対する生存性を予備的に検討し，胚・胎児発生試験で使用する用量設定のための情報を提供することであった。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 6 に示した。

表 2.6.6- 6　　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)[a]	Dose Volume (mL/kg)[b]	No. of Females
1	Avacincaptad pegol	0.1	0.05	2	4
2	Avacincaptad pegol	1.2	0.6	2	4

a: The dose concentration is expressed as oligonucleotide content.
b: Based on the most recent weight measurement
Source: Study 20332453

アバシンカプタド　ペゴルを雌性 NZW ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで静脈内投与し，妊娠 20 日に屠殺した。

結果

いずれの投与群においても死亡は認められず，アバシンカプタド　ペゴル投与に関連すると考えられる一般症状，体重または体重増加量に加えて，妊娠子宮重量を考慮した体重及び体重増加量及び摂餌量の変化は認められなかった。

いずれの投与群においても，黄体数，着床数，着床前死亡率，生存胎児数及び死亡胎児数，早期吸収胚数及び後期吸収胚数，着床後死亡率は 2 群間で同程度であり，NZW ウサギにおける正常範囲内の数値であった。

結論

1.2 mg/kg/day までのアバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与は，母動物で良好な忍容性を示した。ウサギを用いた胚・胎児発生試験の最高用量は，1.2 mg/kg/day が適切であると判断された。

2.6.6.6.2　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.2.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.5 がん原性試験で述べたように，GA を伴う萎縮型 AMD 患者にアバシンカプタド　ペゴルを硝子体内投与した後の全身曝露は極めて低く，蓄積性もなかった。一方，アバシンカプタドペゴルの SD ラットにおける単回静脈内投与試験（2.6.6.2.1 ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験））では，540 及び 800 mg/kg 投与により投与 15 日目まで曝露が持続していた（投与 15 日目［投与後 14 日］の血漿中濃度は 1.1～1.3 μg/mL）。この血漿中濃度は，MRHD である 2 mg を月 1 回投与した際の定常状態での平均 C_{max} である 347 ng/mL を上回っていた（海外第 3 相試験［ISEE2008］）。投与 15 日目の病理検査では，精巣，精巣上体，前立腺，子宮及び卵巣などの雄性及び雌性生殖器で，オリゴヌクレオチドに結合した PEG ポリマーに起因したと考えられるマクロファージの空胞化が認められたが，これについては変性あるいは炎症性変化を伴

うものではなく，毒性変化とは考えなかった。なお，NZW ウサギあるいはビーグル犬を用いた 9 カ月間反復硝子体内投与試験（2.6.6.3 反復投与毒性試験）では雄性及び雌性生殖器に変化は認められず，SD ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（2.6.6.3.3 ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験））でも，雄性及び雌性生殖器に毒性変化と考えられる変化は認められなかった。

アバシンカプタド　ペゴルが予定している適応症は GA を伴う萎縮型 AMD であるが，この AMD の主なリスク要因は加齢であり，通常 50 歳以上の個人に発症する［Flaxel et al, 2020］。したがって，アバシンカプタド　ペゴルの適応症と対象患者の年齢を考慮すると，アバシンカプタド　ペゴルが妊娠可能な女性に投与される可能性は低いものと考えられる。

よって，硝子体内投与後のアバシンカプタド　ペゴルの極めて低い全身曝露及びこれまで実施した毒性試験の結果を考慮すると，アバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与が患者の生殖能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。さらに，アバシンカプタド　ペゴルの適応疾患とその発症時期からアバシンカプタド　ペゴルが妊娠可能な女性に投与される可能性が低いことを考慮し，アバシンカプタド　ペゴルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は不要と考えて実施しなかった。

2.6.6.6.2.2　胚・胎児発生

2.6.6.6.2.2.1　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験（20334075 試験）重要な試験

添付資料 4.2.3.5.2-3

目的

この試験の目的は，雌性 SD ラットを用いて着床から硬口蓋閉鎖までの間，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与し，母動物及び胚・胎児発生に対する影響を調べることであった。さらに，血中濃度測定用のサテライト群を設けアバシンカプタド　ペゴルの曝露についても検討した。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 7 に示した。

表 2.6.6- 7　　ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/ day)	Dose Concentration (mg/mL)[a]	Dose Volume (mL/kg)[b]	No. of Female	
					Main Study	Toxicokinetic Study
1	Vehicle/Control	0	0	2	24	3
2	Avacincaptad pegol	0.1	0.05	2	24	6
3	Avacincaptad pegol	0.4	0.2	2	24	6
4	Avacincaptad pegol	1.2	0.6	2	24	6

a: The dose concentration is expressed as oligonucleotide content.

b: Based on the most recent weight measurement
Source: Study 20334075

雌性 SD ラットの妊娠 6 日から 17 日まで静脈内投与した。主試験群の動物は妊娠 21 日に，サテライト群の動物は妊娠 18 日に帝王切開した。

本試験では，母動物の生存性，一般症状，体重及び体重増加量，摂餌量，剖検，妊娠子宮重量，帝王切開時の観察（黄体数，着床数，着床前死亡率，着床後死亡率，生存胎児数），胎児体重，性別，外表，内臓及び骨格検査を行った。サテライト動物を用いて妊娠 6 日及び 17 日の投与前，投与 0.083，1，3，8 及び 24 時間後に採血して，TK 解析を行った。

結果

母動物では，いずれの投与量においても死亡例はなく，一般症状，体重，摂餌量及び剖検において，アバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。すべての帝王切開時のパラメータ（黄体数，着床数，着床前死亡率，生存胎児数及び死亡胎児数，早期吸収数胚数及び後期吸収胚数，着床後胚死亡，性比，胎児体重）にアバシンカプタド　ペゴル投与の影響はなかった。

胎児検査

いずれの投与量でも，胎児の外表又は内臓検査の結果にアバシンカプタド　ペゴル投与に関連した変化は認められなかった。観察された外表異常は，1）対照群でも認められていること，2）用量依存性がないこと，3）異常は対照群と 1.2 mg/kg/day の各 1 例の胎児に限られていたことから，アバシンカプタド　ペゴル投与との関連性はないと考えられた。内臓異常はいずれも対照群の胎児でのみ認められた。

骨格検査では，アバシンカプタド　ペゴル投与に関連した異常は認められなかった。変異については，胸腰部短小過剰肋骨が 0，0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg/day 投与群でそれぞれ 6 例（4 腹），11 例（6 腹），11 例（6 腹）及び 25 例（10 腹）の胎児に用量依存的に認められた。いずれの用量群においても，アバシンカプタド　ペゴル投与によるその他の変異や異常は認められなかったこと，また，胎児の子宮内発育にも影響がなかったことから，本試験で認められた胸腰部短小過剰肋骨の変異は，胎児形態異常誘発作用ではなく生後の発達に影響を及ぼすことはないと考えられた［DeSesso & Scialli, 2018］。この変異は，骨化領域が，隣接する椎骨の外側突起に吸収されることからも，形態異常誘発作用を示唆するものではないと考えられる。また，げっ歯類での過剰肋骨の自然発生率は 30%程度である［Chernoff & Rodgers, 2004］。以上のことから，今回見られた変異は単に正常な発生過程における軽微な変異であり，発育により消失するものと考えられた。

他の観察された骨格異常は，1）対照群でのみ観察されたこと，2）用量依存性はなかったこと，3）1 腹で胎児 2 例までであったこと，4）骨格異常を有する母動物の発現率及び胎児の発生率は対照群と同様であったこと，あるいは 5）骨格異常を有する母動物の発現率及び胎児の発生

率は背景値の範囲内であったことから，アバシンカプタド　ペゴル投与に関連しているものではないと考えられた。

TK

アバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与では，妊娠 6 日の 0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群における C_0 値は，それぞれ 2640，8420 及び 26500 ng/mL であり，平均 $t_{1/2}$ 値はそれぞれ 4.80，5.91 及び 6.23 時間であった。妊娠 17 日の 0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群における C_0 値は，それぞれ 2030，7400 及び 25700 ng/mL であり，平均 $t_{1/2}$ 値はそれぞれ 6.87，7.30 及び 6.63 時間であった。0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群の AUC_{last} 及び AUC_{24} は，妊娠 6 日で 12600，45600 及び 128000 ng·h/mL，妊娠 17 日で 9440，50000 及び 131000 ng·h/mL であり，投与量の増加に伴って増加した。

結論

雌性 SD ラットの妊娠 6 日から 17 日までの間，0，0.1，0.4 及び 1.2 mg/kg/day の 1 日 1 回アバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与において，いずれの母動物・胎児の検査パラメータに毒性学的意義のある変化は認められなかった。曝露量は，妊娠 6 日及び 17 日のいずれにおいても，投与量の増加に伴って増加し，AUC_{last} 及び AUC_{24} に反復投与による影響は認められなかった。これらの結果から，母動物及び胎児に対する NOAEL は 1.2 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.6.2.2.2　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験（20332454 試験）重要な試験

添付資料 4.2.3.5.2-4

目的

この試験の目的は，雌性 NZW ウサギを用いて着床から硬口蓋閉鎖までの間，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与し，母動物及び胚・胎児発生に対する影響を調べることであった。さらに，アバシンカプタド　ペゴルの曝露量についても検討した。

試験デザイン

群構成を表 2.6.6- 8 に示した。

表 2.6.6- 8　　ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)[a]	Dose Volume (mL/kg)[b]	No. of Female[c]
1	Vehicle/Control	0	0	2	20
2	Avacincaptad pegol	0.12	0.06	2	20
3	Avacincaptad pegol	0.4	0.2	2	20
4	Avacincaptad pegol	1.2	0.6	2	20

a: The dose concentration is expressed as oligonucleotide content.

b: Based on the most recent weight measurement
c: Three females per group were used for the TK analysis.
Source: Study 20332454

雌性 NZW ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで静脈内投与した。妊娠 29 日に帝王切開した。

本試験では，母動物の生存性，一般症状，体重及び体重増加量，摂餌量，剖検，妊娠子宮重量，帝王切開時の観察（黄体数，着床数，着床前死亡率，着床後死亡率，生存胎児数），胎児体重，性別，外表，内臓及び骨格検査を行った。妊娠 7 日及び 19 日の投与前，投与 5 分及び 1，3，8 及び 24 時間後に採血し，TK 解析を行った。

結果

いずれの投与量においても，母動物にアバシンカプタド　ペゴルに関連した死亡は認められなかった。0.4 mg/kg/day 投与群の 1 例が妊娠 25 日に流産した。流産した個体の胎児数は，生存 9 例，死亡 1 例の計 10 例であった。剖検所見は認められず，この流産は用量依存性もないことから，アバシンカプタド　ペゴル投与によるものではないと考えられた。その他，一般症状，体重，摂餌量及び剖検において，いずれの投与量においてもアバシンカプタド　ペゴルに関連した影響は認められなかった。すべての帝王切開時のパラメータ（黄体数，着床数，着床前死亡率，生存胎児数及び死亡胎児数，早期吸収胚数及び後期吸収胚数，着床後胚死亡率，性比，胎児体重）にアバシンカプタド　ペゴル投与の影響はなかった。

胎児検査

いずれの投与量でも，胎児の外表，内臓，骨格検査の結果にアバシンカプタド　ペゴル投与に関連した変化は認められなかった。観察された所見はいずれも，1）用量依存性が認められなかったこと，2）発現は各用量群の 1～2 例の胎児に限られていたこと，骨格検査についてはさらに，対照群のみで認められている，あるいは，異常を有する胎児の発生率は対照群と同様であったことから，アバシンカプタド　ペゴル投与との関連性はないと考えられた。

TK

アバシンカプタド　ペゴルの反復静脈内投与により AUC_{last} 及び AUC_{24} で蓄積性は認められなかった。妊娠 19 日では，0.12，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群の平均 C_0 値はそれぞれ 2770，7470 及び 35700 ng/mL，平均 $t_{1/2}$ 値はそれぞれ 1.43，2.27 及び 3.15 時間であった。0.12，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群の平均 AUC_{last} はそれぞれ 4240，18200 及び 81300 ng·h/mL，0.12，0.4 及び 1.2 mg/kg 投与群の平均 AUC_{24} はそれぞれ 45500，18600 及び 81300 ng·h/mL であり，投与量の増加に伴って増加した。

結論

雌性 NZW ウサギの妊娠 7 日から 19 日までの間，0，0.12，0.4 及び 1.2 mg/kg/day の用量でアバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与した結果，いずれの母動物・胎児の検査パラメータにも影響は認められなかった。曝露量は，妊娠 7 日及び 19 日とも投与量の増加に伴って増加し，AUC_{last} 及び AUC_{24} に反復投与による影響は認められなかった。これらの結果から，母動物及び胎児に対する NOAEL は 1.2 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.6.2.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.5 がん原性試験で述べたように，アバシンカプタド　ペゴルを硝子体内に投与した後の全身曝露は極めて低く，蓄積性もなかった。

また，実施した SD ラット及び NZW ウサギにおける静脈内投与による胚・胎児発生毒性試験（2.6.6.6.2.2 胚・胎児発生）において，ラットでは，最高用量の 1.2 mg/kg で骨格変異である胸腰部短小過剰肋骨が認められたが，形常誘発作用を示唆するものではないと考えられた。ウサギでは，最高用量の 1.2 mg/kg/day まで胎児の評価項目に変化は認められなかった。

2.6.6.6.2.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験でも述べたように，アバシンカプタド　ペゴルが予定している適応症は GA を伴う萎縮型 AMD であることから，アバシンカプタド　ペゴルが妊娠可能な女性に投与される可能性は低いものと考えられる。

よって，硝子体内投与後のアバシンカプタド　ペゴルの極めて低い全身曝露及びこれまで実施した毒性試験の結果を考慮すると，仮にアバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与後，妊娠に至ったとしても出生児に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。さらに，アバシンカプタド　ペゴルの適応疾患とその発症時期からアバシンカプタド　ペゴルが妊娠可能な女性に投与される可能性が低いことを考慮し，アバシンカプタド　ペゴルの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は不要と考えて実施しなかった。

2.6.6.7　幼若動物を用いる安全性試験

アバシンカプタド　ペゴルは，加齢に伴う疾患に適応とされる。したがって，幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8　局所刺激性試験

2.6.6.8.1　眼における刺激性

NZW ウサギ又はビーグル犬でのラニビズマブを併用又は非併用下でアバシンカプタド　ペゴルを単回又は反復硝子内投与した際の眼局所刺激性の結果は，それぞれ 2.6.6.3.1 ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）重要な試験及び 2.6.6.3.2 ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）重要な試験で考

察したが，ここでは簡潔に要約する。病理組織学的所見として，ウサギ（1.5 mg／眼）及びビーグル犬（0.3，1.0 及び 3.0 mg／眼）の網膜の空胞化及びビーグル犬（3.0 mg／眼）の脳の二次的な視索の空胞化が認められた。これら所見は，眼科検査では明らかな眼の機能への影響を示さなかった。いずれの試験においても，アバシンカプタド　ペゴルに関連した眼刺激所見やその他の眼の変化は認められなかった。結膜（ウサギとイヌの両方）及び角膜（イヌのみ）の所見は，投与手技に起因したものであった。

2.6.6.8.2　静脈内投与部位における刺激性

SD ラット（［KSH00038 試験］及び［501280 試験］）及びカニクイザル（［KSH00033 試験］及び［KSH00040 試験］）では，アバシンカプタド　ペゴルを単回及び反復投与した際の投与部位に肉眼的及び病理組織学的所見が認められた。これらの所見は，静脈内カテーテル留置に起因したものと考えられ，アバシンカプタド　ペゴルに関連したものではないと考えられた。

2.6.6.9　その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.10 考察及び結論

GA を伴う萎縮型 AMD 治療におけるアバシンカプタド　ペゴルの承認申請のために，非臨床毒性試験を実施した。毒性試験は，アバシンカプタド　ペゴルを単回及び反復投与した際の毒性，生殖発生毒性及び遺伝毒性を評価するために実施し，得られた所見についてヒトの安全性との関連性について評価した。

硝子体内投与によるアバシンカプタド　ペゴルの反復投与毒性を評価するための動物種として，以下の理由に基づいて NZW ウサギとビーグル犬を選択した。a）GA の適切な動物モデルは存在しないこと，b）両動物種とも眼毒性研究で一般的に使用されている動物種であること，c）両動物種とも一般的なオリゴヌクレオチド製品の炎症誘発作用に反応すること，d）C5 阻害に起因する過剰な作用を評価できる動物種はないこと。なお，SD ラット及びカニクイザルに単回及び反復静脈内投与した毒性試験により，アバシンカプタド　ペゴルの全身曝露を介した薬理学的及び毒性学的な影響が評価されている。

実施した毒性試験で認められた標的臓器についての考察は，ヒトに対する毒性リスクは低いとの判断を支持するものである。アバシンカプタド　ペゴルを用いて，硝子体内投与により 4 mg までの投与量で第 1 相，第 2 相及び第 3 相臨床試験が実施されている。投与頻度は隔週，月 1 回及び隔月投与で，投与期間は最長 2 年間であった。これらの臨床試験で得られたデータは概ね全般的な安全性の指標となるが，実施した毒性試験で得られたデータは臨床における安全性プロ

ファイルの裏づけとなるものである。臨床試験で得られた結果は，毒性試験で認められた標的臓器への作用のリスクが，臨床ではほとんどないか低いことを支持するものであった。

アバシンカプタド　ペゴルの毒性試験及び心血管及び呼吸に対する安全性薬理試験（[2.6.2.4 安全性薬理試験]を参照）での NOAEL を表 2.6.6- 9 に示した。同表には，ヒトの曝露量と比較した安全域も示したが，AUC が算出されなかった試験では C_{max} を安全域の算出に用いた。安全域の算出に用いたヒトの全身曝露量は，MRHD である 2 mg を月 1 回投与した際の定常状態での平均 $AUC_{0-\tau}$ 及び C_{max} を用いた（$AUC_{0-\tau}$ = 113424 ng·h/mL，C_{max} = 347 ng/mL;（ISEE2008 PK 報告書），[2.7.2.2 個々の試験結果の要約　補遺]）。

表 2.6.6- 9　　毒性試験及び安全性薬理試験における NOAEL での全身曝露量とヒトの全身曝露量との比較

Species	**Duration and route of administration**	**Dose at NOAEL**	**C_{max} at NOAEL**	**AUC_{last} at NOAEL**	**Margin to human $AUC_{0-\tau}$ at 2 mg once monthly[a]**	**Margin to human C_{max} at 2 mg once monthly[b]**	**Report / CTD Number**
NZW rabbits	IVT; One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	1.5 mg/eye[c]	51.3 ng/mL	3113 ng·h /mL	0.027	0.15	XGL00005 / 4.2.3.2-1
Beagle dogs	IVT; One month (single-dose); 9 months (10 injections, repeat-dose)	1.0 mg/eye[c]	198.3 ng/mL	4170 ng·h /mL	0.037	0.57	XGL00006/ 4.2.3.2-2
SD rats	Single iv bolus injection	260 mg/kg	M: 2465 µg/mL F: 2205 µg/mL	M: 18574 µg·h/mL F: 17279 µg·h/mL	152	-	KSH00038 / 4.2.3.1-1 (参)
	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Not identified; data are provided for the lowest dose tested (367 mg/kg)	364 µg/mL	33355 µg·h/mL	294	-	501280 / 4.2.3.2-3 (参)
Pregnant SD rats	iv bolus injection; 12 days	1.2 mg/kg/day	26500 ng/mL (GD 6)	128000 ng·h/mL (GD 6)	14[d]	76	20334075 / 4.2.3.5.2-3
Pregnant NZW rabbits	iv bolus injection; 13 days	1.2 mg/kg/day	41700 ng/mL (GD 7)	78800 ng·h/mL (GD 7)	9[e]	120	20332454 / 4.2.3.5.2-4
Cynomolgus monkeys	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours	28.7 mg/kg	M: 215 µg/mL F: 202 µg/mL	M: 3569 µg·h /mL F: 3869 µg·h /mL	31	-	KSH00033/ 4.2.3.1-2 (参)
	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	Not identified; data are provided for the lowest dose tested (141 mg/kg)	M: 165 µg/mL F: 179 µg/mL	M: 12968 µg·h/mL F: 14370 µg·h/mL	114	-	KSH00040 / 4.2.3.2-4 (参)
	Single iv injection	10 mg/kg[f]	220 µg/mL	2238 µg·h /mL	20	-	KSH00039/ 4.2.1.3-2

AUC_{last}: area under the concentration time curve from 0 to the last quantifiable time-point, except one month (single-dose) and 9 months studies in rabbits and dogs. For one month (single-dose) and 9 months studies in rabbits and dogs, the area under the concentration-time curve from 0 to 72 h after the last dosing is indicated; $AUC_{0-\tau}$: a area under the concentration-time curve from the time of dosing to the start of the next dosing interval at multiple dose conditions ; C_{max}: maximum

concentration; F: Female; GD: Gestation Day; iv: intravenous; IVT: intravitreal; M: Male; NOAEL: no observed adverse effect level; NZW: New Zealand White; SD: Sprague Dawley; -: not calculate

a: The human $AUC_{0-\tau}$ value at 2 mg once monthly was 4726 ng·day/mL (113424 ng·h/mL, ISEE2008 PK Report).

b: The human C_{max} value at 2 mg once monthly was 347 ng/mL (ISEE2008 PK Report).

c: Avacincaptad pegol was administered to both eyes of the animals.

d: For the calculation of the margin to human $AUC_{0-\tau}$, the cumulative exposure (AUC_{last}) over the dosing period of 12 days was used.

e: For the calculation of the margin to human $AUC_{0-\tau}$, the cumulative exposure (AUC_{last}) over the dosing period of 13 days was used.

f: NOAEL for toxicological effect. NOEL for cardiovascular, respiratory and body temperature effects is 100 mg/kg.

アバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与における NOAEL での全身曝露量は，アバシンカプタド　ペゴルを MRHD である月 1 回 2 mg の用量で硝子体内投与した際のヒトの全身曝露量の 9 倍以上であった。静脈内投与はアバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路ではないが，これらの試験結果はアバシンカプタド　ペゴルの毒性学的な影響を考察する上で有用なものである。

NZW ウサギ及びビーグル犬における硝子体内投与試験で得られた薬物動態データ及び MRHD における臨床データから，硝子体内投与したアバシンカプタド　ペゴルは眼球コンパートメントからゆっくりと移動し，全身曝露量は静脈内投与毒性試験における曝露量（μg/mL オーダー）と比較して非常に低い値（ng/mL オーダー）を示すことが明らかとなった。NOAEL における C_{max} は，ウサギで 51.3 ng/mL，イヌで 198.3 ng/mL であり，MRHD におけるヒト C_{max} のそれぞれ 0.15 倍及び 0.57 倍であった。2 つの主要な反復硝子体内投与毒性試験においては，投与液の粘度（30 mg/mL 以上のオリゴヌクレオチド濃度では高い粘性を示す）及び注入量（1 回当たりウサギ及びイヌの眼球で，それぞれ最大 50 μL 及び 100 μL）に基づいて投与可能な最大投与量が決定されるため，硝子体内投与では広い安全域を設定することはできなかった。

ウサギ（1.5 mg／眼）及びビーグル犬（0.3，1.0 及び 3.0 mg／眼）で認められた変化は，病理組織学的所見として網膜の空胞化，ビーグル犬（3.0 mg／眼）では網膜の空胞化に加えて脳の視索の空胞化のみであり，ウサギ及びイヌにおけるアバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与による忍容性は良好であった。空胞化は，網膜の細胞内への PEG 化オリゴヌクレオチドの取り込みを反映している可能性が高い（空胞は，オリゴヌクレオチドに結合した PEG ポリマーの存在による可能性がある）。多くの器官及び組織における貪食細胞及び／又は非貪食細胞における細胞の空胞化は，PEG 化医薬品を用いた毒性試験，特に PEG の分子量が 30 kDa 以上の際に認められている。しかしながら，細胞の空胞化は変性，壊死や，細胞の形態的異常又は臓器機能的変化などとは関連しておらず，承認された PEG 化バイオ医薬品では，毒性試験で空胞化が観察された化合物について，臨床で機能に影響が生じたものはないとされている［Ivens et al, 2015］。PEG 又は PEG 化分子の細胞への取り込みのメカニズムに関する報告はほとんどなく，いくつかある報告では，PEG 化医薬品あるいは遊離 PEG 分解物の主な細胞への取り込み（薬物の標的部位か非特異的か）及び組織内分布は，投与量，投与頻度及び投与期間，製品の薬理活性，関連する受容体の分布，免疫原性，PEG の分子量及び薬物又は PEG に対するクリアランス等の多くの因子に依存する可能性が高いとされている［Yamaoka et al, 1995; Webster et al, 2007; Webster et al, 2009;

Baumann et al, 2014; Bendele et al, 1998］。空胞化は，PEG 化分子のエンドサイトーシスとそれに続くリソソーム経路を介した輸送の後に起こる可能性が高いと考えられている。PEG 化分子がリソソームに到達すると，活性部分（オリゴヌクレオチド）は分解されるが，分解や排泄されなかった PEG は細胞質内にとどまることとなる［Fletcher et al, 2019］。

アバシンカプタド　ペゴルの NZW ウサギ及びビーグル犬における重要な毒性試験では，網膜の空胞化とそれに続くビーグル犬の脳の視索の空胞化が認められたが，臨床相当用量における眼科検査で眼機能への影響が認められなかったことから，毒性学的意義は低いと考えられた。網膜の所見はいずれの動物種においても回復性を示し，ビーグル犬における最高用量 3.0 mg／眼（ヒトでは 4.5 mg／眼に相当）で観察された網膜の空胞化は，時間経過とともに消失する可能性が高い。臨床試験の最高投与量（4 mg）は，毒性試験での最高用量の 3.0 mg／眼に近いが，非臨床試験で認められた上記の空胞化は重篤ではないと考えられ，かつ回復性を示した。さらに，18 カ月のアバシンカプタド　ペゴル 4 mg の月 1 回の臨床用量では，良好な安全性プロファイルが示されている（海外第 2/3 相試験［OPH2003］）。したがって，MRHD（月 1 回 2 mg の硝子体内投与）では，眼球又は眼の機能に対するリスクは低い又はないものと考えられた。

また，SD ラット（KSH00038 試験及び 501280 試験）及びカニクイザル（KSH00033 試験及び KSH00040 試験）への静脈内投与では，投与部位にアバシンカプタド　ペゴルに関連した所見は認められなかった。

ラットの胚・胎児発生試験では，最高用量の 1.2 mg/kg/day まで催奇形性作用は認められなかったが，アバシンカプタド　ペゴル投与に関連した用量依存的な骨格変異が観察された。この所見は，他にアバシンカプタド　ペゴルに関連した骨格の所見が認められなかったこと，胎児の発育にも影響が認められなかったことから，重篤でない変異（長期の生存に影響を及ぼすものではない）と考えられた。さらに，この所見は単に正常な発生過程における軽微な変異であり，発育により消失するであろうと考えられる。ラットの 1.2 mg/kg/day におけるアバシンカプタド　ペゴルの全身曝露量は MRHD における全身曝露量よりも 14 倍高い。ウサギを用いた胚・胎児発生試験では，最高用量の 1.2 mg/kg/day まで，母動物又は胎児にアバシンカプタド　ペゴルに関連する影響は認められなかった。NOAEL におけるアバシンカプタド　ペゴルの全身曝露量は，MRHD における全身曝露量と比較して 9 倍であった。他の非臨床生殖発生毒性試験を実施する必要はないものと考えられた理由は，2.6.6.6.2.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び 2.6.6.6.2.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の項に記載した。

アバシンカプタド　ペゴルにおける細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験及び雌雄 ICR マウスを用いた小核試験の結果はすべて陰性であり，アバシンカプタド　ペゴルの構成成分に遺伝毒性を示唆する情報がないことから，アバシンカプタド　ペゴルは遺伝毒性物質ではなく，ヒトに対する遺伝毒性リスクをもたらさないものと結論した。実施された非臨床毒性試験では，アバシンカプタド　ペゴルによる腫瘍形成，形質転換細胞又は増殖性病変は見られていない。

2.6.6.5 がん原性試験の項にも述べたように，アバシンカプタド　ペゴルはヒトに対して発がん性の懸念がないと考えられる。

結論として，実施した毒性試験で明らかにされたアバシンカプタド　ペゴルの毒性学的プロファイルは，安全性の懸念を惹起するものでなく，臨床的な安全性プロファイルとも一致し，アバシンカプタド　ペゴルの MRHD である 2 mg の月 1 回硝子体内投与における GA を伴う萎縮型 AMD 患者の治療のための臨床使用を支持する結果であった。

2.6.6.11 図表

本要約の適切な箇所に，すべての文章表及び図を含めた。

2.6.6.12 参考文献

Baumann A, Tuerck D, Prabhu S, Dickmann L, Sims J. Pharmacokinetics, metabolism and distribution of PEGs and PEGylated proteins: Quo vadis? Drug Discov Today. 2014;19:1623-31.

Bendele A, Seely J, Richey C, Sennello G, Shopp G. Short communication: renal tubular vacuolation in animals treated with polyethylene-glycol-conjugated proteins. Toxicol Sci. 1998;42:152-7.

Chernoff N, Rogers JM. Supernumerary ribs in developmental toxicity bioassays and in human populations: Incidence and biological significance. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2004;7(6):437-49.

DeSesso JM, Scialli AR. Bone development in laboratory mammals used in developmental toxicity studies. Birth Defects Res. 2018;110(15):1157-87.

Farman CA, Kornbrust DJ. Oligodeoxynucleotide studies in primates: antisense and immune stimulatory indications. Toxicol Pathol. 2003;31(Suppl.):119-22.

Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST, Fawzi A, Lim JI, Vemulakonda GA, et al. Age-related macular degeneration preferred practice pattern®. Ophthalmology. 2020;127:P1-P65.

Fletcher AM, Tellier P, Douville J, Mansell P, Graziano MJ, Mangipudy RS, et al. Adverse vacuolation in multiple tissues in cynomolgus monkeys following repeat-dose administration of a PEGylated protein. Toxicol Lett. 2019;317:120-9.

Ivens IA, Achanzar W, Baumann A, Brändli-Baiocco A, Cavagnaro J, Dempster M, et al. PEGylated Biopharmaceuticals: current experience and considerations for nonclinical development. Toxicol Pathol. 2015;43(7):959-83.

Webster R, Didier E, Harris P, Siegel N, Stadler J, Tilbury L, et al. PEGylated proteins: Evaluation of their safety in the absence of definitive metabolism studies. Drug Metab Dispos. 2007;35:9-16.

Webster R, Elliott V, Park BK, Walker D, Hankin M, Taupin P. PEG and PEG conjugates toxicity: towards an understanding of the toxicity of PEG and its relevance to PEGylated biologicals. In: Veronese, F.M.(eds) PEGylated Protein Drugs: Basic Science and Clinical Applications. Milestones in Drug Therapy. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag; 2009:127-46.

Yamaoka T, Tabata Y, Ikada Y. Comparison of body distribution of poly(vinyl alcohol) with other water-soluble polymers after intravenous administration. J Pharm Pharmacol. 1995;47:479-86.

目次

2.6.7　毒性試験概要表....2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表....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....7
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧....9
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧....14
2.6.7.5　単回投与毒性試験....16
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験....18
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験....21
2.6.7.8　in vitro 遺伝毒性試験....32
2.6.7.9　in vivo 遺伝毒性試験....39
2.6.7.10　がん原性試験....42
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験....43
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験....44
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験....45
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験....55
2.6.7.15　幼若動物を用いた試験....56
2.6.7.16　局所刺激性試験....57
2.6.7.17　その他の毒性試験....60

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose(s)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Single-Dose Toxicity								
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics[b]	SD rats	Intravenous	Single iv bolus injection	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540, and 800 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[g]
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics[b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2, and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2, and 287 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)
Repeat-Dose Toxicity								
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[b]	NZW rabbits	Intravitreal injection	One month (single dose) 9 months (10 injections, repeat dose)	0, 0.15, 0.5, 1.5, 1.5 + 0.3[c], and 1.5 + 0[d] mg/eye[e]	Yes	Charles River Laboratories	XGL00005	4.2.3.2-1
Single and repeated dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[b]	Beagle dogs	Intravitreal injection	One month (single dose) 9 months (10 injections, repeat dose)	0, 0.3, 1.0, 3.0, 3.0 + 0.5[c], and 3.0 + 0[d] mg/eye[e]	Yes	Charles River Laboratories	XGL00006	4.2.3.2-2

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose(s)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Repeated dose toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study[b]	SD rats	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	iv bolus: 0, 26, 54, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 341, 706, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 367, 760, and 1410 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	501280	4.2.3.2-3 (参)[g]
Repeated-dose toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics study[b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	iv bolus: 0, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 131, 393, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423, and 1410 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)
Genotoxicity								
In Vitro Genotoxicity								
Bacterial reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* strains TA98, TA100, TA1535 and TA1537; *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A	In vitro ± S9	NA	Initial toxicity-mutation test: 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate Confirmatory mutagenicity test: 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate	Yes	BioReliance	AB12SY.503.BTL	4.2.3.3.1-1 (参)
In vitro mammalian chromosome aberration test	Human peripheral blood lymphocytes	In vitro ± S9	NA	Preliminary toxicity study: 0.401, 1.203, 4.01, 12.03, 40.1, 120.3, 401, 1203, and 4010 µg/mL Chromosome aberration study: 125, 250, 500, 1000, 1200, 1350, and 1500 µg/mL	Yes	BioReliance	AB12SY.341.BTL	4.2.3.3.1-2 (参)

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose(s)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Number
In Vivo Genotoxicity								
Micronucleus test	ICR mice	Intravenous	Single iv injection	Dose range-finding study: 94, 188, 282, and 376 mg/kg Micronucleus study: 0, 94, 188, and 376 mg/kg	Yes	BioReliance	AC10VW.123.BTL	4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity								
Not conducted.								
Reproductive and Developmental Toxicity								
Tolerability study	Pregnant SD rats	Intravenous	13 days: iv bolus once daily GD6 through GD18	0.1 and 1.2 mg/kg/day	No	Charles River Laboratories	20334072	4.2.3.5.2-1 (参)
Tolerability study	Pregnant NZW rabbits	Intravenous	13 days: iv bolus once daily GD7 through GD19	0.1 and 1.2 mg/kg/day	No	Charles River Laboratories	20332453	4.2.3.5.2-2 (参)
Embryo-fetal development	Pregnant SD rats	Intravenous	12 days: iv bolus once daily GD6 through GD17	0, 0.1, 0.4, and 1.2 mg/kg/day	Yes	Charles River Laboratories	20334075	4.2.3.5.2-3
Embryo-fetal development	Pregnant NZW rabbits	Intravenous	13 days: iv bolus once daily GD7 through GD19	0, 0.12, 0.4, and 1.2 mg/kg/day	Yes	Charles River Laboratories	20332454	4.2.3.5.2-4
Studies in Juvenile Animals								
Not conducted.								

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose(s)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Local Tolerance[f]								
Single and repeated dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[b]	NZW rabbits	Intravitreal injection	One month (single dose) 9 months (10 injections, repeat dose)	0, 0.15, 0.5, 1.5, 1.5 + 0.3[c], and 1.5 + 0[d] mg/eye[e]	Yes	Charles River Laboratories	XGL00005	4.2.3.2-1
Single and repeated dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[b]	Beagle dogs	Intravitreal injection	One month (single dose) 9 months (10 injections, repeat dose)	0, 0.3, 1.0, 3.0, 3.0 + 0.5[c], and 3.0 + 0[d] mg/eye[e]	Yes	Charles River Laboratories	XGL00006	4.2.3.2-2
Single dose range finding study of toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics[b]	SD rats	Intravenous	Single iv bolus injection	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540, and 800 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[g]
Repeated dose toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study[b]	SD rats	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	iv bolus: 0, 26, 54, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 341, 706, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 367, 760, and 1410 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	501280	4.2.3.2-3 (参)[g]
Single dose range finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics[b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2, and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2, and 287 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose(s)[a]	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Repeated dose toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics study[b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	iv bolus: 0, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 131, 393, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423, and 1410 mg/kg	Yes	Charles River Laboratories	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)
Other Toxicity Studies								
Not conducted.								

GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; ICR: Institute of Cancer Research; iv: intravenous; NA: not applicable; NZW: New Zealand White; S9: 9000 g supernatant microsomal fraction of liver homogenate from rats exposed to Aroclor 1254

Unless otherwise specified, for Repeat Dose Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: The study appears in multiple places as it contains pertinent data for different sections of the nonclinical toxicology module.

c: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

d: These animals were used for a non-GLP assessment of the effect of concurrent dosing on intraocular pressure, prior to commencement of the main part of the study. This investigation was completed prior to initiation of the other groups, and the animals were removed from study without necropsy.

e: The test materials were administered to both eyes of the animals.

f: Local tolerance was assessed in all GLP-compliant single- and repeat-dose general toxicology studies.

g: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料として位置付ける。

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

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	GLP	Study Number	CTD Number
Single and repeat-dose toxicity	NZW rabbits	Intravitreal injection	0, 0.15, 0.5, 1.5, 1.5 + 0.3[b], and 1.5 + 0[c] mg/eye[d]	Yes	XGL00005	4.2.3.2-1
Single and repeat-dose toxicity	Beagle dogs	Intravitreal injection	0, 0.3, 1.0, 3.0, 3.0 + 0.5[b], and 3.0 + 0[c] mg/eye[d]	Yes	XGL00006	4.2.3.2-2
Single-dose toxicity	SD rats	Intravenous	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540, and 800 mg/kg	Yes	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[e]
Repeat-dose toxicity	SD rats	Intravenous	iv bolus: 0, 26, 54, and 100 mg/kg Continuous iv infusion over 7 consecutive days: 0, 341, 706, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 367, 760, and 1410 mg/kg	Yes	501280	4.2.3.2-3 (参)[e]
Embryo-fetal development	Pregnant SD rats	Intravenous	0, 0.1, 0.4, and 1.2 mg/kg/day	Yes	20334075	4.2.3.5.2-3
Embryo-fetal development	Pregnant NZW rabbits	Intravenous	0, 0.12, 0.4, and 1.2 mg/kg/day	Yes	20332454	4.2.3.5.2-4
Single-dose toxicity	Cynomolgus monkeys	Intravenous	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion over 24 hours: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2, and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2, and 287 mg/kg	Yes	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkeys	Intravenous	iv bolus: 0, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion over 7 consecutive days: 0, 131, 393, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423, and 1410 mg/kg	Yes	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

GLP: Good Laboratory Practice; iv: intravenous; NZW: New Zealand White; SD: Sprague Dawley

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Avacincaptad pegol and Ranibizumab doses, respectively

c: These animals were used for a non-GLP assessment of the effect of concurrent dosing on intraocular pressure, prior to commencement of the main part of the study. This investigation was completed prior to initiation of the other groups, and the animals were removed from study without necropsy.

d: The test materials were administered to both eyes of the animals.

e: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，静脈内投与のため毒性試験としては参考資料として位置付ける。

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

2.6.7.3.1　カニクイザル及び SD ラットの単回及び反復投与における AUC

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Avacincaptad pegol dose (mg/kg)[a d]	**AUC_{last} (μg·h/mL)[b]**			
	Cynomolgus monkeys[c]		**SD rats[c]**	
	M	**F**	**M**	**F**
2.9	863[e]	622[e]		
8.6	1933[e]	1582[e]		
10			1146[g]	596[g]
26			2658[g]	1933[g]
28.7	3569[e]	3869[e]		
54			4494[g]	4115[g]
86.2	17633[e]	12680[e]		
100			7849[g]	7043[g]
141	12968[f]	14370[f]		
260			18574[g]	17279[g]
287	35525[e]	46565[e]		
367			33355[h]	NA
423	35254[f]	33744[f]		
540			31316[g]	36607[g]
760			84231[h]	NA
800			34277[g]	49146[g]
1410	158457[f]	154110[f]	117991[h]	NA

AUC_{last}: area under the concentration-time curve to the last quantifiable time-point; F: female; M: male; NA: not applicable; SD: Sprague Dawley
a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.
b: If an AUC_{last} value is not reported, this is because the dose level was not evaluated in the study.
c: Last dose exposures
d: Intravenous dosing
e: Single-dose toxicity in cynomolgus monkeys; intravenous bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours once (Study KSH00033)
f: Repeat-dose toxicity in cynomolgus monkeys; intravenous bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days (Study KSH00040)
g: Single-dose toxicity in SD rats; intravenous bolus injection once (Study KSH00038)
h: Repeat-dose toxicity in SD rats; intravenous bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days (Study 501280)

2.6.7.3.2　NZW ウサギ及び SD ラットの生殖発生毒性試験における AUC

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Avacincaptad pegol dose (mg/kg/day)[a]	**AUC_{last} (ng·h/mL)[b]**			
	SD rats[c]		**NZW Rabbits[d]**	
	GD6	**GD17**	**GD7**	**GD19**
0.1	12600	9440		
0.12			4260	4240
0.4	45600	50000	19200	18200
1.2	128000	131000	78800	81300

AUC_{last}: area under the concentration-time curve to the last quantifiable time-point; GD: gestation day; NZW: New Zealand White; SD: Sprague Dawley

a: If an AUC_{last} value is not reported, this is because the dose level was not evaluated in the study. The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Area under the concentration time curve from hour 0 to the last measurable concentration (AUC_{last}), estimated by the linear trapezoidal rule.

c: Repeat dose embryo-fetal development study in SD rats; intravenous bolus injection GD 6 to GD 17 (Study 20334075)

d: Repeat dose embryo-fetal development study in NZW rabbits; intravenous bolus injection GD 7 to GD 19 (Study 20332454)

2.6.7.3.3　NZW ウサギ及びビーグル犬の反復硝子体内投与試験での血漿中濃度

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Avacincaptad pegol dose (mg/eye)[a]	**Group Mean Plasma Concentration (ng/mL)**											
	NZW rabbits[b, c, d]						**Beagle dogs[b, e, d]**					
	Time post-injection (hours)[f]											
	0.5	**3**	**8**	**24**	**72**	**144**	**0.5**	**3**	**8**	**24**	**72**	**144**
	Study Day 1 (Dose 1)											
0.15	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND						
0.3							25.6	32.0	30.9	12.0	5.0	BLQ
0.5	BLQ	BLQ	8.2	6.8	7.2	5.4						
1.0							34.2	25.0	48.1	34.1	15.3	7.7
1.5	BLQ	6.5	26.8	33.2	19.4	12.3						
1.5 + 0.3[g]	BLQ	9.9	26.2	36.8	22.4	14.5						
3.0							45.3	10.0	20.9	66.6	51.6	25.7
3.0 + 0.5[g]							44.4	11.1	26.6	68.5	50.5	24.2
	Study Day 57 (Dose 3)											
0.15	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ						
0.3							12.8	23.8	17.3	7.4	5.4	2.8
0.5	BLQ	BLQ	7.5	12.0	13.5	9.5						
1.0							35.9	21.8	43.3	40.7	19.0	8.5
1.5	3.5	13.8	32.3	51.3	31.7	22.8						
1.5 + 0.3[g]	6.3	23.6	38.6	54.7	51.4	14.5						
3.0							46.9	8.7	24.6	60	44.9	26.4

Avacincaptad pegol dose (mg/eye)[a]	**Group Mean Plasma Concentration (ng/mL)**											
	NZW rabbits[b, c, d]						**Beagle dogs[b, e, d]**					
	Time post-injection (hours)[f]											
	0.5	**3**	**8**	**24**	**72**	**144**	**0.5**	**3**	**8**	**24**	**72**	**144**
3.0 + 0.5[g]							38.6	8.1	22.5	82.6	48.8	29.3
	Study Day 253 or 256 (Dose 10)						**Study Day 253 or 255 (Dose 10)**					
0.15	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND						
0.3							6.0	29.3	15.8	10.6	3.6	ND
0.5	BLQ	BLQ	BLQ	5.9	12.0	ND						
1.0							87.7	198.3	183.1	62.4	23.5	ND
1.5	BLQ	20.7	35.3	43.3	27.9	17.3						
1.5 + 0.3[g]	BLQ	25.1	18.7	32.7	24.7	ND						
3.0							129.2	296.5	488.7	187.9	59.9	31.2
3.0 + 0.5[g]							149.9	342.9	372.7	175.1	66.6	ND

BLQ: below the lower limit of quantification; LLOQ: lower limit of quantification; ND: not determined; NZW: New Zealand White

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: If a group mean plasma concentration value is not reported, this is because the dose level was not evaluated in the study.

c: Single and repeat-dose toxicity in NZW rabbits (Study XGL00005); The test materials were administered to both eyes of the animals. For groups and time points where some animals had measurable values and some were BLQ (3.4 ng/mL), the group mean was determined as follows: If 50% or more of the animals in the group had values above the LLOQ, a value of half of the LLOQ (1.7 ng/mL) was assigned to all BLQ samples, and the group mean was calculated; however, if over half of the values were BLQ, then the group central tendency was represented as BLQ.

d: Intravitreal dosing

e: Single and repeat-dose toxicity in beagle dogs (Study XGL00006); The test materials were administered to both eyes of the animals. For groups and time points where some animals had measurable values and some were BLQ (3.4 ng/mL), the group mean was calculated by assigning a value of half of the LLOQ (1.7 ng/mL) for the BLQ samples.

f: Males and females combined.

g: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Batch No.	Purity (%)[a]	Total Impurities (%)	Study Number	CTD Number	Type of Study
NAT1314	85.83[b]	NR	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[e]	GLP iv single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics in SD rats
NAT1317	96.22[b]	NR	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)	GLP iv single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics in cynomolgus monkeys
X01B07001N	79.3[c]	20.75	XGL00005	4.2.3.2-1	GLP IVT single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with ranibizumab in NZW rabbits
X01B07001N	79.3[c]	20.75	XGL00006	4.2.3.2-2	GLP IVT single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with ranibizumab in beagle dogs
05B-46127-01	88.9[c]	11.1	501280	4.2.3.2-3 (参)[e]	GLP iv repeated-dose toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study in SD rats
05B-46127-02	89.4[c]	NR	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)	GLP iv repeated-dose toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics, and toxicodynamics study in cynomolgus monkeys
05B-46127-01	88.9[c]	11.1	AB12SY.503.BTL	4.2.3.3.1-1 (参)	GLP bacterial reverse mutation assay
05B-46127-01	88.9[c]	11.1	AB12SY.341.BTL	4.2.3.3.1-2 (参)	GLP in vitro mammalian chromosome aberration test
X01B07001N	79.3[c]	20.75	AC10VW.123.BTL	4.2.3.3.2-1	GLP micronucleus assay
3-FIN-4019	93.4[d]	6	20334072	4.2.3.5.2-1 (参)	Non-GLP iv repeated-dose tolerability study in pregnant SD rats
3-FIN-4019	93.4[d]	6	20332453	4.2.3.5.2-2 (参)	Non-GLP iv repeated-dose tolerability study in pregnant NZW rabbits
3-FIN-4019	93.4[d]	6	20334075	4.2.3.5.2-3	GLP iv repeated-dose embryo-fetal development study in pregnant SD rats
3-FIN-4019	93.4[d]	6	20332454	4.2.3.5.2-4	GLP iv repeated-dose embryo-fetal development study in pregnant NZW rabbits

AX-HPLC: anion exchange HPLC; GLP: Good Laboratory Practice; HPLC: high performance liquid chromatography; iv: intravenous; IVT: intravitreal; NR: not reported; NZW: New Zealand White; RP-HPLC: reverse phase HPLC; SAX-HPLC: strong anion exchange HPLC; SD: Sprague Dawley

a: Purity by HPLC, % area

b: Purity by RP-HPLC

c: Purity by SAX-HPLC

d: Purity by AH-HPLC

e: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料として位置付ける。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Species / Strain	Doses[a] Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
SD rats	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540, and 800 mg/kg Vehicle (0.9% saline)	9M and 7-9F	260 mg/kg	≥ 540 mg/kg	• Mortality at 540 mg/kg and 800 mg/kg within 1 hour of dosing • Various changes in clinical pathology parameters: - At ≥ 260 mg/kg: ↓ GGT, cholesterol, total protein, albumin, and globulin. - At ≥ 540 mg/kg: ↓ triglycerides, A/G ratio, RBCs, hematocrit, hemoglobin, reticulocytes, and platelets, and ↑ total WBCs, neutrophils, lymphocytes, and monocytes. - At 800 mg/kg: slight ↑ AST and ALT, and ↓ reticulocyte. - At ≥ 540 mg/kg, slightly ↑ incidence and/or severity of occult blood in urine on Days 2 and 8 • Microscopic findings: dose-dependent minimal to mild cytoplasmic vacuolation of resident and/or infiltrating mononuclear phagocytic cells in spleen, liver, lymph nodes, bone marrow, choroid plexus of the brain, and other tissues at ≥ 54 mg/kg; at 800 mg/kg, minimal basophilic granules in the cytoplasm of renal convoluted proximal tubular epithelial cells and minimal bone marrow hypocellularity in females. • NOEL = 26 mg/kg; NOAEL = 260 mg/kg - At the NOAEL, the plasma C_{max} and AUC_{last} values for males/females were 2465/2205 µg/mL and 18574/17279 µg·h/mL, respectively.	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[b]

Species / Strain	Doses[a] Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Cynomolgus monkeys	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2, 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2 or 287 mg/kg Vehicle (0.9% saline)	1M and 1F	NA	NA	• Avacincaptad pegol was associated with changes to several clinical pathology parameters: - At ≥ 86.2 mg/kg: ↓ reticulocytes and monocytes and ↑ lymphocytes. - At 287 mg/kg: ↓RBCs, hemoglobin, hematocrit, platelets, cholesterol, GGT, total protein, albumin, globulin, and phosphorus, ↑ mean platelet volume. The changes were generally reversed by Day 15. • Microscopic findings: dose-dependent minimal to moderate cytoplasmic vacuolation of resident and/or infiltrating mononuclear phagocytic cells (tissue macrophages) in liver, spleen, lymph nodes, thymus, bone marrow, choroid plexus, and adrenal glands at ≥ 86.2 mg/kg; not associated with degenerative or inflammatory changes and considered non-adverse. • NOAEL and NOEL = 28.7 mg/kg (associated with C_{max} and AUC_{last} values in males/females of 215/202 µg/mL and 3569/3869 µg·h/mL, resp.).	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)

A: albumin; ALT: alanine transaminase; AST: aspartate aminotransaminase; AUC_{last}: area under the concentration-time curve to the last quantifiable time-point; C_{max}: maximum concentration; F: female; G: globulin; GGT: gamma glutamyl transferase; iv: intravenous; M: male; NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-event level; NOEL: no-observed-effect level; RBC: red blood cell; resp.: respectively; WBC: white blood cell

↑: increase; ↓: decrease

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料として位置付ける。

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Species / Strain	Doses (mg/kg)[a] Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
SD rats	iv bolus : 0, 26, 54, 100 mg/kg Continuous iv infusion : 0, 341, 706, 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose : 0, 367, 760, 1410 mg/kg Vehicle (0.9% saline)	Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 7 consecutive days	6M, 6F (low and mid dose) 12M, 12F (vehicle and high dose)	NOAEL could not be determined	• ↓ body weight and ↓ body weight gain, associated with ↓ food consumption at 1410 mg/kg, • Various changes in clinical pathology parameters: - At ≥ 367 mg/kg: ↓ reticulocytes, total WBCs and subpopulations (neutrophils, monocytes, eosinophils, and basophils) counts, AST, ALT, ALP, LD, cholesterol, triglyceride, total protein, albumin, and globulin, and ↑ glucose, A/G ratio. - At ≥ 760 mg/kg: ↓ lymphocytes, large unclassified cell counts and platelet counts, and ↑ mean platelet volume and serum urea. - At 1410 mg/kg: ↓ RBCs, hemoglobin, hematocrit, calcium, and potassium. • Microscopic findings: at ≥ 367 mg/kg: vacuolation of macrophage, vacuolation of basophilic macrophage, hypertrophy/hyperplasia macrophage in multiple tissues (predominantly liver, spleen, lymph nodes, thymus, and bone marrow); at ≥ 760 mg/kg: lymphoid atrophy/necrosis in the thymus and bone marrow myeloid/erythroid hypocellularity. • Correlating dose dependent changes in organ weights: - At ≥ 367 mg/kg: ↑ liver weight in males and females and ↓ thymus weight in males. - At ≥ 760 mg/kg in females: ↑ adrenal weight and ↓ thymus weight. - At 1410 mg/kg: ↑ adrenal weight in males.	501280	4.2.3.2-3 (参)[c]

Species / Strain	Doses (mg/kg)[a] Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Cynomolgus monkeys	iv bolus : 0, 10, 30, 100 mg/kg Continuous iv infusion : 0, 131, 393, 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose : 0, 141, 423, 1410 mg/kg Vehicle (0.9% saline)	Single iv bolus injection followed by continuous iv infusion over 7 consecutive days	3-5M[b], 3-5F[b]	NOAEL could not be determined	• Mortality at 1410 mg/kg, in 6 of 10 animals between Days 5 and 10, attributed to cardiopulmonary failure resulting from hemorrhage and edema in the heart (myocardium) and lungs. • Various changes in clinical pathology parameters: - At ≥ 141 mg/kg: ↓ albumin, globulin, total protein, A/G ratio, and reticulocyte counts, and ↑ incidence of rouleaux formation. - At ≥ 423 mg/kg: ↓ cholesterol, RBC counts, hemoglobin, and hematocrit, and ↑ RBC distribution width. - At 1410 mg/kg: ↓ triglycerides, total WBCs, neutrophils, lymphocytes, and platelet counts. • Microscopic findings: - At 1410 mg/kg: minimal to marked severity edema and minimal to mild severity hemorrhage. - All animals had one or more of the following findings: basophilic granules, basophilic swirled material, and basophilic vacuolization of tissue macrophages. The incidence, severity, and distribution were dose-dependent. • Organ weight changes: - At ≥ 141 mg/kg: ↑ liver, spleen, kidney, and adrenal weights, and ↓ thymus weight. - At 423 mg/kg: ↑ popliteal lymph node weights. - At 1410 mg/kg: markedly ↑ lung and heart weights.	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine transaminase; APTT: activated partial thromboplastin times; AST: aspartate aminotransaminase; F: female; iv: intravenous; M: male; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; RBC: red blood cell; SD: Sprague-Dawley; WBC: white blood cell

↑: increase; ↓: decrease

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Groups 1 and 4 contained 5M and 5F animals and Groups 2 and 3 contained 3M and 3F animals.
c: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料として位置付ける。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　ウサギを用いた反復硝子体内投与試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: A 1-month (single-dose) and 9-month (ten-dose) toxicity study of ARC1905 given by intravitreal injections to rabbits with and without combination treatment with Lucentis™										**Study No.:** XGL00005	
Species: NZW rabbits		**Duration of Dosing:** 1-month (single-dose) and 9-month (ten-dose)								**CTD No.:** 4.2.3.2-1	
Initial Age: 6 months		**Duration of Post-dose:** 3 days or 4 weeks[a]								**GLP Compliance:** Yes	
Date of First Dose: [redacted]		**Method of Administration:** Intravitreal injection to both eyes									
Vehicle / Formulation: Phosphate Buffered Saline											
Special Features: None											
No Observed Effect Level: 0.5 mg/eye											
No Observed Adverse Effect Level: 1.5 mg/eye											
Group:	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**
Monthly Dose (mg/eye)[b]:	**0 (Control) [c]**		**0 (Control) [c]**		**0.15**		**0.5**		**1.5**		**1.5+0.3 [d]**
Number of Animals:	**M: 9**	**F: 9**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**
Plasma Toxicokinetics[e] – Mean Group Concentration (ng/mL)												
Day 1 (Dose 1; Time Post-Injection, hours)												
0.5	ND		ND		BLQ		BLQ		BLQ		BLQ	
3	BLQ		BLQ		BLQ		BLQ		6.5		9.9	
8	ND		ND		BLQ		8.2		26.8		26.2	
24	ND		ND		BLQ		6.8		33.2		36.8	
72	ND		ND		BLQ		7.2		19.4		22.4	
144	ND		ND		ND		5.4		12.3		14.5	

Day 57 (Dose 3; Time Post-Injection, hours)											
0.5	ND		ND		BLQ		BLQ		3.5		6.3
3	BLQ		BLQ		BLQ		BLQ		13.8		23.6
8	ND		ND		BLQ		7.5		32.3		38.6
24	ND		ND		BLQ		12.0		51.3		54.7
72	ND		ND		BLQ		13.5		31.7		51.4
144	ND		ND		BLQ		9.5		22.8		14.5
Day 253 or 256 (Dose 10; Time Post-Injection, hours)											
0.5	ND		ND		BLQ		BLQ		BLQ		BLQ
3	BLQ		BLQ		BLQ		BLQ		20.7		25.1
8	ND		ND		BLQ		BLQ		35.3		18.7
24	ND		ND		BLQ		5.9		43.3		32.7
72	ND		ND		BLQ		12.0		27.9		24.7
144	ND		ND		ND		ND		17.3		ND
Noteworthy Findings											
Group:	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**	
Monthly Dose (mg/eye)[b]:	**0 (Control)[c]**		**0 (Control)[c]**		**0.15**		**0.5**		**1.5**		**1.5+0.3[d]**	
Number of Animals:	**M: 9**	**F: 9**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	1[f]	0	0	1[f]	0	1[g]	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic examinations[i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Hematology[j]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation[k]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry[l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[m]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[n]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:												
Week 1 Euthanasia												
Eye (Left; No. examined)	2	2	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	1
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	0
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1
Eye (Right; No. examined)	2	2	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	-
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	1	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	-
Week 37 Euthanasia												
Brain (No. examined)	3	3	2	2	0	0	0	0	3	3	3	3
Bilateral vacuolar degeneration of the optic tract	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
Unilateral vacuolar degeneration of the optic tract	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0

Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Eye (Left; No. examined)	3	3	2	2	2	3	3	2	3	3	3	3
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Eye (Right; No. examined)	3	3	2	2	2	3	3	2	3	3	3	3
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-

BLQ: below the lower limit of quantification (3.4 ng/mL); F: female; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; ND: not determined; NZW: New Zealand White

-: no noteworthy findings

a: Animals terminated either 3 days or 4 weeks after the first dose (single dose) or last dose (10^{th} dose).

b: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

c: Doses of vehicle control were given at the same dosing volume and schedule as avacincaptad pegol. For Group 2, two doses of vehicle control article were given on each dosing day in a manner analogous to Group 6, to control for the effects of the two consecutive IVT injections on each dosing day.

d: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

e: Blood samples (processed to plasma) were collected from all available animals at several time points following dosing on Study Day 1 (following Dose 1), Study Day 57 (following Dose 3), and Study Day 253 for males and recovery animals or 256 for females (following Dose 10).

f: A Group 3 male (animal #4447) was found dead on Study Day 25. A Group 4 female (animal #4460) was found dead on Study Day 197. Both of these early deaths occurred on days in which the animals were anesthetized for study procedures, and the cause of death for both appeared to be anesthesia related.

g: A Group 5 female (animal #4480) was euthanized and discarded without further examination on Study Day 235 due to a dosing error that invalidated the data after Study Day 170 for this animal.

h: There were no clinical observations that were attributable to treatment with avacincaptad pegol. Clinical observations of redness around the eye/eyelids, bloodshot eyes, red discoloration of the conjunctiva, protrusion of the nictitating membrane, pupil size dilated, pupillary reflex diminished, eye protruding, excessive lacrimation, material around eyes, and swelling around the eyes were seen across dose groups and were most likely related to the dosing procedures. Observations that were seen only in Group 6 included: eccentric pupil, eye discolored, eye small, and ocular discharge. These observations may be related to treatment with ranibizumab.

i: Ophthalmic examinations included ocular irritation, ophthalmic examinations (including macroscopic examination of the anterior portion of the eye, examination of the posterior segment, and assessment of injection-related trauma), intraocular pressure, and electroretinograms.

j: The following hematology parameters were evaluated: red blood cell count, hemoglobin concentration, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration, mean corpuscula hemoglobin, reticulocyte count, red blood cell morphology, platelet count, white blood cell count, neutrophil count, lymphocyte count, monocyte count, eosinophil count, basophil count, and other cells.

k: The following coagulation parameters were evaluated: activated partial thromboplastin time, prothrombin time and fibrinogen.

l: The following clinical chemistry parameters were evaluated: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphate, gamma-glutamyltransferase, total bilirubin, urea nitrogen, creatinine, calcium, phosphorus, total protein, albumin, globulin, albumin/globulin ratio, glucose, cholesterol, triglycerides, sodium, potassium, chloride.

m: The following organ weights were recorded prior to fixation: adrenal gland, brain, heart, kidney, liver, lung, ovary, spleen, testis, thymus. Paired organs were weighed together. Organ weights were not recorded for animals that died prior to scheduled termination.

n: A complete necropsy was defined as examination of the carcass and musculoskeletal system, all external surfaces and orifices, cranial cavity and external surface of the brain, thoracic, abdominal, and pelvic cavities with their associated organs and tissues.

2.6.7.7.2　ビーグル犬を用いた反復硝子体内投与試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: A 1-month (single-dose) and 9-month (ten-dose) toxicity study of ARC1905 given by intravitreal injections to beagle dogs with and without combination treatment with Lucentis™												**Study No.:** XGL00006
Species: Beagle dogs		**Duration of Dosing:** 1-month (single-dose) and 9-month (ten-dose)										**CTD No.:** 4.2.3.2-2
Initial Age: 5-6 months		**Duration of Post-dose:** 3 or 4 days, or 4 weeks[a]										**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted]		**Method of Administration:** Intravitreal injection to both eyes										
Vehicle / Formulation: Phosphate Buffered Saline												
Special Features: None												
No Observed Effect Level: Could not be defined (observations at all dose levels)												
No Observed Adverse Effect Level: 1 mg/eye												
Group:	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**	
Monthly dose (mg/eye)[b]:	**0 (Control)[c]**		**0 (Control)[c]**		**0.3**		**1.0**		**3.0**		**3.0+0.5[d]**	
Number of Animals:	**M: 9**	**F: 9**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**
Plasma Toxicokinetics[e] – Mean Group Concentration (ng/mL)												
Day 1 (Dose 1; Time Post-Injection, hours)												
0.5	ND		ND		25.6		34.2		45.3		44.4	
3	BLQ		BLQ		32.0		25.0		10.0		11.1	
8	ND		ND		30.9		48.1		20.9		26.6	
24	ND		ND		12.0		34.1		66.6		68.5	
72	ND		ND		5.0		15.3		51.6		50.5	
144	ND		ND		BLQ		7.7		25.7		24.2	

Day 57 (Dose 3; Time Post-Injection, hours)											
0.5	ND		ND		12.8		35.9		46.9		38.6
3	BLQ		BLQ		23.8		21.8		8.7		8.1
8	ND		ND		17.3		43.3		24.6		22.5
24	ND		ND		7.4		40.7		60. 0		82.6
72	ND		ND		5.4		19.0		44.9		48.8
144	ND		ND		2.8		8.5		26.4		29.3
Day 253 or 255 (Dose 10; Time Post-Injection, hours)											
0.5	ND		ND		6.0		87.7		129.2		149.9
3	BLQ		BLQ		29.3		198.3		296.5		342.9
8	ND		ND		15.8		183.1		488.7		372.7
24	ND		ND		10.6		62.4		187.9		175.1
72	ND		ND		3.6		23.5		59.9		66.6
144	ND		ND		ND		ND		31.2		ND
Group:	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**
Monthly dose (mg/eye)[b]:	**0 (Control)[c]**		**0 (Control)[c]**		**0.3**		**1.0**		**3.0**		**3.0+0.5[d]**
Number of Animals:	**M: 9**	**F: 9**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**
Noteworthy Findings												
Died or sacrificed moribund	0	1 [f]	0	0	0	0	1 [g]	1 [f]	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic examinations[i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Electrocardiology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[j]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation[k] (Week 13 relative to start date; mean group concentration):												
Number of Animals evaluated:	5	5	2	2	3	3	3	3	5	5	3	3
APTT (sec)	18.52	19.48	19.85	19.90	17.27	20.57	20.73	19.87	22.24*	22.16	24.23*	25.07*
Serum Chemistry[l] (Week 13 relative to start date; mean group concentration):												
Number of Animals evaluated:	5	5	2	2	3	3	3	3	5	5	3	3
Chloride (mmol/L)	112.8	112.4	113.0	112.5	115.0	114.3	114.7	113.7	115.6*	117.2*	117.7*	117.3*
Sodium (mmol/L)	147.4	147.2	148.0	146.0	150.3*	150.7*	150.0*	150.3*	151.2*	152.8*	151.7*	151.7*
Organ Weights[m]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[n]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:												
Group:	**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**	
Monthly dose (mg/eye)[b]:	**0 (Control)[c]**		**0 (Control)[c]**		**0.3**		**1.0**		**3.0**		**3.0+0.5[d]**	
Number of Animals:	**M: 9**	**F: 9**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**
Week 1 Euthanasia												
Eye (Left; No. examined)	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	1	2	2	-	1
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	-	0
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	0	1	2	-	1
Eye (Right; No. examined)	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2

Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	1	2
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	1	0
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0	0
Week 37 Euthanasia												
Brain (No. examined)	3	2	2	2	0	0	0	0	3	3	3	3
Bilateral vacuolar degeneration of the optic tract	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Unilateral vacuolar degeneration of the optic tract	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Week 37 Euthanasia (continued)												
Eye (Left; No. examined)	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	3
Diffuse retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	1	0
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	0	1
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	2	1	1	2	2	2	2
Minimal	-	-	-	-	-	1	1	1	2	1	0	1
Mild	-	-	-	-	-	1	0	0	0	1	2	1
Eye (Right; No. examined)	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	3
Diffuse retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	1
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	0	0
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	2	2	2	1	-	3	1	2

Minimal	-	-	-	-	2	1	2	1	-	1	0	1
Mild	-	-	-	-	0	1	0	0	-	1	1	0
Moderate	-	-	-	-	0	0	0	0	-	1	0	1
Week 41 Euthanasia												
Eye (Left; No. examined)	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-
Eye (Right; No. examined)	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
Focal retinal vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-

APTT: activated partial thromboplastin times; BLQ: below the lower limit of quantification (3.4 ng/mL); F: female; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; ND: not determined

–: no noteworthy findings

Statistical significance: *significantly different from Group 1 at $p \leq 0.05$

a: Animals terminated either 3 days or 4 weeks after the first dose (single dose) or last dose (10^{th} dose).

b: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

c: Doses of vehicle control were given at the same dosing volume and schedule as avacincaptad pegol. For Group 2, two doses of vehicle control article were given on each dosing day in a manner analogous to Group 6, to control for the effects of the two consecutive IVT injections on each dosing day.

d: Avacincaptad pegol and ranibizumab (Lucentis) doses, respectively

e: Blood samples (processed to plasma) were collected from all available animals at several time points following dosing on Study Day 1 (following Dose 1), Study Day 57 (following Dose 3), and Study Day 253 for males and recovery animals or 255 for females (following Dose 10).

f: A Group 1 female (#4510) and a Group 4 female (#4542) were euthanized for humane reasons on Study Day 146. Both animals had signs of infection in one eye, most likely related to injection procedures.

g: A Group 4 male (#4537) was found dead on Study Day 87. This animal had no remarkable clinical observations, but gross necropsy revealed a dark discoloration of the gall bladder, most likely related to anesthesia used for electroretinogram procedures on Study Day 87.

h: There were no clinical observations that were attributable to treatment with avacincaptad pegol. Clinical observations of bloodshot eyes, discoloration of the conjunctiva, conjunctivitis, corneal opacity, excessive lacrimation, eye discoloration, eye enlargement, material around the eye(s), and swelling around the eye(s) were generally seen across dose groups and were most likely related to the dosing procedures. Observations that were seen in Group 6 (treated with ranibizumab and avacincaptad pegol) included: redness around the eye/eyelids, eye abnormality, eye closed, and protrusion of the nictitating membrane. These observations may be related to treatment with ranibizumab. All other clinical observations were considered incidental or related to study procedures.

i: Ophthalmic examinations included ocular irritation, ophthalmic examinations (including macroscopic examination of the anterior portion of the eye, examination of the posterior segment, and assessment of injection-related trauma), intraocular pressure, and electroretinograms.

j: The following hematology parameters were evaluated: red blood cell count, hemoglobin concentration, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration, mean corpuscula hemoglobin, reticulocyte count, red blood cell morphology, platelet count, white blood cell count, neutrophil count lymphocyte count, monocyte count, eosinophil count, basophil count, and other cells.

k: The following coagulation parameters were evaluated with no noteworthy findings: prothrombin time and fibrinogen. The mean APTT times were consistently increased (13% to 31%) compared to Group 1 controls for males and females administered 3.0 mg avacincaptad pegol/eye (Groups 5 and 6), beginning at Week 13, and continuing at Weeks 25 and 37. These changes reached statistical significance for Group 5 males and Group 6 males and females at Week 13, Group 5 males at Week 25, and Group 5 males at Week 37. The prolongation of APTT was considered related to avacincaptad pegol, but this resolved in both sexes by Week 41 following a one-month recovery period, and the magnitude of the change was not considered to be biologically significant. The results are discussed in Module 2.6.2, Section 2.6.2.3.1.2.

l: The following clinical chemistry parameters were evaluated with no noteworthy findings: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphate, gamma-glutamyltransferase, total bilirubin, urea nitrogen, creatinine, calcium, phosphorus, total protein, albumin, globulin, albumin/globulin ratio, glucose, cholesterol, triglycerides and potassium.

m: The following organ weights were recorded prior to fixation: adrenal gland, brain, heart, kidney, liver, lung, ovary, spleen, testis, thymus. Paired organs were weighed together. Organ weights were not recorded for animals that died or were euthanized prior to scheduled termination.

n: A complete necropsy was defined as examination of the carcass and musculoskeletal system, all external surfaces and orifices, cranial cavity and external surface of the brain, thoracic, abdominal, and pelvic cavities with their associated organs and tissues.

2.6.7.8　in vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay of ARC1905						**Study No.:** AB12SY.503.BTL
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells		**No. of Independent Assays:** 2				**CTD No.:** 4.2.3.3.1-1 (参)
Strains : *Salmonella typhimurium* strains TA98, TA100, TA1535 and TA1537 ; *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A		**No. of Replicate Cultures:** 2 plates				**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9		**No. of Cells Analyzed/Cultured:** Initial toxicity-mutation assay : 2.2 x 10^8 (TA98), 1.7 x 10^8 (TA100), 1.7 x 10^8 (TA1535), 4.6 x 10^8 (TA1537), 2.0 x 10^8 (WP2 *uvr*A) Confirmatory mutagenicity assay: 1.7 x 10^8 (TA98), 5.1 x 10^8 (TA100), 1.3 x 10^8 (TA1535), 0.9 x 10^8 (TA1537), 4.4 x 10^8 (WP2 *uvr*A)				
Vehicle for Test Article: sterile saline for injection 0.9%		**Vehicle for Positive Controls:** DMSO or water				
Treatment: Plate incorporation method						**Date of Treatment:** [redacted] (experimental start date)
Cytotoxic Effects: None						
Mutagenic Effects: None						
		Mutagenicity Assay Revertants Per Plate (Mean of 2 plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
Test Article	**Dose (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
Initial Toxicity-Mutation Assay						
Without Metabolic Activation						
Control		20 ± 1	133 ± 9	21 ± 1	13 ± 5	36 ± 2

Avacincaptad pegol[a]	1.5	17 ± 2	115 ± 8	19 ± 3	10 ± 1	33 ± 1
	5.0	24 ± 5	108 ± 6	22 ± 3	13 ± 3	38 ± 6
	15	18 ± 8	139 ± 23	23 ± 7	13 ± 4	35 ± 2
	50	23 ± 8	137 ± 19	20 ± 1	10 ± 1	30 ± 4
	150	24 ± 9	136 ± 17	14 ± 2	11 ± 1	24 ± 6
	500	22 ± 1	109 ± 33	19 ± 8	9 ± 2	18 ± 16
	1500	19 ± 5	134 ± 11	19 ± 4	6 ± 1	23 ± 2
	5000	20 ± 1	118 ± 7	19 ± 1	8 ± 1	25 ± 7
Positive control[b]		150 ± 34	410 ± 55	386 ± 52	733 ± 118	165 ± 16
	Dose (µg/plate)	**Mutagenicity Assay Revertants Per Plate (Mean of 2 plates ± SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
With Metabolic Activation						
Control		33 ± 5	161 ± 10	21 ± 1	12 ± 1	32 ± 1
Avacincaptad pegol[a]	1.5	33 ± 4	162 ± 12	12 ± 4	12 ± 2	31 ± 10
	5.0	24 ± 4	161 ± 7	13 ± 1	6 ± 3	25 ± 1
	15	33 ± 4	143 ± 21	15 ± 1	11 ± 2	28 ± 1
	50	26 ± 0	149 ± 8	20 ± 2	10 ± 4	26 ± 6
	150	27 ± 6	165 ± 35	24 ± 0	10 ± 1	34 ± 3
	500	32 ± 10	137 ± 11	20 ± 5	8 ± 2	23 ± 3
	1500	29 ± 5	151 ± 10	20 ± 0	10 ± 1	32 ± 8
	5000	23 ± 10	154 ± 15	20 ± 8	10 ± 0	27 ± 0
Positive control[b]		310 ± 25	494 ± 11	94 ± 9	47 ± 16	509 ± 97

Confirmatory Mutagenicity Assay						
Without Metabolic Activation						
	Dose (µg/plate)	**Mutagenicity Assay Revertants Per Plate (Mean of 2 plates ± SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
Control		17 ± 1	132 ± 18	19 ± 4	5 ± 3	14 ± 2
Avacincaptad pegol[a]	50	20 ± 3	111 ± 16	16 ± 4	7 ± 4	20 ± 3
	150	15 ± 2	112 ± 5	17 ± 5	8 ± 1	12 ± 2
	500	19 ± 5	102 ± 13	16 ± 2	6 ± 3	15 ± 4
	1500	15 ± 1	119 ± 13	16 ± 2	6 ± 2	18 ± 6
	5000	14 ± 3	132 ± 11	18 ± 1	6 ± 2	13 ± 1
Positive control[b]		200 ± 11	556 ± 45	335 ± 106	646 ± 155	149 ± 19
With Metabolic Activation						
Control		26 ± 7	139 ± 16	17 ± 2	6 ± 3	18 ± 6
Avacincaptad pegol[a]	50	21 ± 5	141 ± 6	16 ± 4	8 ± 2	20 ± 6
	150	19 ± 4	135 ± 11	15 ± 2	9 ± 4	24 ± 3
	500	26 ± 4	142 ± 8	14 ± 3	7 ± 4	16 ± 8
	1500	22 ± 6	128 ± 16	16 ± 3	6 ± 2	20 ± 4
	5000	22 ± 7	148 ± 11	15 ± 6	7 ± 4	20 ± 5
Positive control[b]		557 ± 98	578 ± 21	94 ± 6	65 ± 25	528 ± 161

DMSO: dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice; SD: standard deviation.

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: The positive control without S9 activation was 2-nitrofluorene (TA98), sodium azide (TA100 and TA1535), 9-aminoacridine (TA1537), and methyl methanesulfonate (WP2 *uvr*A). The positive control with S9 activation was 2-aminoanthracene (TA98, TA100, TA1535, TA1537 and WP2 *uvr*A).

2.6.7.8.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test of ARC1905		**Study No.:** AB12SY.341.BTL (参)
Test for Induction of: Evaluation of clastogenic potential of the test article	**No. of Independent Assays:** 2	**CTD No.:** 4.2.3.3.1-2
Test System: HPBL	**No. of Replicate Cultures:** 2	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** 500 (preliminary toxicity assay) or ≥ 200 (100 per culture; definitive chromosome aberration assay)	
Vehicle for Test Article[a]: 0.9% Saline	**Vehicle for Positive Controls[b]:** 0.9 % Saline	
Treatment: Chromosome aberration assay; incubation for 20 hours without S9 or 4 hours with/without S9		**Date of Treatment:** [redacted] (experimental start date)

Cytotoxic Effects: In the preliminary toxicity assay, substantial toxicity (at least 50% reduction in mitotic index relative to the solvent control) was observed at doses ≥ 1203 µg/mL in all three exposure groups.

Genotoxic Effects: Negative for the induction of structural and numerical chromosome aberrations

Preliminary Toxicity Assay

Test Article	Dose level (µg/mL)	Mitotic Index [c] (%)	Percent Change [d] (%)
Without Metabolic Activation 4-hour Treatment [e]			
0.9% Saline		10.4	
Avacincaptad Pegol[a]	0.401	9.8	-6
	1.203	10.6	2
	4.01	9.6	-8
	12.03	9.2	-12
	40.1	8.6	-17

	120.3	9.4	-10
	401	8.8	-15
	1203	4.6	-56
	4010	0.0	-100
With Metabolic Activation 4-hour Treatment [e]			
0.9% Saline		11.2	
Avacincaptad Pegol[a]	0.401	9.8	-13
	1.203	10.4	-7
	4.01	10.0	-11
	12.03	10.2	-9
	40.1	9.6	-14
	120.3	9.6	-14
	401	8.6	-23
	1203	4.8	-57
	4010	0.0	-100
Without Metabolic Activation 20-hour Treatment			
0.9% Saline		10.8	
Avacincaptad Pegol[a]	0.401	10.2	-6
	1.203	9.6	-11
	4.01	10.2	-6
	12.03	9.2	-15
	40.1	9.4	-13
	120.3	9.0	-17

	401	8.0				-26			
	1203	4.4				-59			
	4010	0.0				-100			
Chromosome Aberration Assay[f]									
Test Article	**Dose (µg/mL)**	**Mean Mitotic Index (%)**	**Mean Mitotic Inhibition**	**Cells score[e]**		**Aberrations per cell[f]**		**Cells with Aberrations[g h]**	
				Numerical	**Structural**	**Mean**	**± SD**	**Numerical (%)**	**Structural (%)**
Without Metabolic Activation 4-hour Treatment									
0.9% Saline		12.4	NA	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
Avacincaptad Pegol[a]	250	11.5	7	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
	500	11.2	10	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
	1200	5.7	54	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
MMC[b]	0.6	10.0	19	200	100	0.180	0.411	0.0	17.0**
With Metabolic Activation 4-hour Treatment									
0.9% Saline		13.0	NA	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
Avacincaptad Pegol[a]	250	12.3	5	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
	500	12.3	5	200	200	0.005	0.071	0.0	0.5
	1200	6.1	53	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
CP[b]	20	9.9	24	200	100	0.140	0.349	0.0	14.0**
Without Metabolic Activation 20-hour Treatment									
0.9% Saline		12.6	NA	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
Avacincaptad Pegol[a]	250	11.2	11	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
	500	11.7	7	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0

	1200	5.6	56	200	200	0.000	0.000	0.0	0.0
MMC[b]	0.3	11.8	6	200	100	0.210	0.433	0.0	20.0**

CP: cyclophosphamide; GLP: Good Laboratory Practice; HPBL: human peripheral blood lymphocytes; MMC: mitomycin C; NA: not applicable; SD: standard deviation

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: The positive controls with and without S9 activation were cyclophosphamide and mitomycin C, respectively.

c: Mitotic Index = (Cells in mitosis/500 cells scored) x 100

d: Percent change = (Treatment mitotic index – control mitotic index)/control mitotic index, expressed as a percentage

e: Human peripheral blood lymphocyte cells were treated in the absence or presence of an exogenous source of metabolic activation for 4 hours at 37 ± 1°C. Metaphase cells were collected following a 16-hour recovery period.

f: Human peripheral blood lymphocytes were treated for 4 hours at 37 ± 1°C in the absence of an exogenous source of metabolic activation. Additional dose levels of 125 and 1000 µg/mL were tested as a safeguard against excessive toxicity at higher dose levels but were not required for microscopic examination. Dose levels 1350 and 1500 µg/mL were not analyzed due to excessive toxicity.

g: Aberrations per Cell: Severely damaged cells were counted as 10 aberrations

h: Percent Aberrant Cells: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$; using the Fisher's exact test

2.6.7.9　in vivo 遺伝毒性試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: Mouse Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test with ARC1905 Given by Intravenous Injection		**Study No.** AC10VW.123.BTL
Test for Induction of: Micronuclei in PCEs in mouse bone marrow	**Treatment Schedule:** Single dose	**CTD No.:** 4.2.3.3.2-1
Species / Strain: ICR mice	**Sampling Time:** 24 or 48 hours post-dose	**GLP Compliance:** Yes
Age: 6-8 weeks	**Method of Administration:** iv injection	
No. of Cells Evaluated / Animal: 2,000 PCEs	**Vehicle/Formulation:** Sterile phosphate-buffered saline	**Date of Treatment:** [redacted] (experimental start date)
Special Features: None		
Toxic / Cytotoxic Effects: Minimal clinical signs (piloerection) and no mortality up to 2000 mg/kg.		
Genotoxic Effects: Negative; no statistically significant increase in the incidence of micronucleated polychromatic erythrocytes in test article-treated groups, relative to the respective vehicle control groups.		
Evidence of Exposure: Dose formulation analysis by HPLC. The mean measured concentrations for 7.5, 15, and 30 mg/mL (based on oligonucleotide) were 7.3, 14.5, and 28.8 mg/mL, respectively. The mean percent of nominal concentrations for these samples, 97.2, 96.6, and 96.0%, and relative standard deviation of 3.1, 0.2, and 0.5%, respectively, were well within the acceptance criteria (± 15% of target and SD below 5%).		

Definitive Micronucleus Study											
Test Article	**Dose (mg/kg)**	**No. of Animals**		**PCE/TE (Mean ±SD)**		**Change from Control (%)**		**Number of MPCE/1000 PCE (Mean ±SD)**		**Number of MPCE/PCE Scored**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
24 Hours Post-dose											
PBS	---	5	5	0.480 ± 0.04	0.467 ± 0.03	---	---	0.4 ± 0.42	0.5 ± 0.35	4 / 10000	5 / 10000
Avacincaptad pegol[a]	94[b]	5	5	0.481 ± 0.03	0.476 ± 0.01	0	2	0.2 ± 0.27	0.6 ± 0.65	2 / 10000	6 / 10000
	188[c]	5	5	0.472 ± 0.01	0.475 ± 0.05	-2	2	0.5 ± 0.50	0.7 ± 0.27	5 / 10000	7 / 10000
	376[d]	5	5	0.457 ± 0.04	0.464 ± 0.05	-5	-1	0.7 ± 0.57	1.1 ± 0.42	7 / 10000	11 / 10000
Cyclophosphamide	50[e]	5	5	0.504 ± 0.02	0.476 ± 0.03	5	2	47.2 ± 6.43	30.3 ± 3.68	472* / 10000	303* / 10000
48 Hours Post-dose											
PBS	---	5	5	0.443 ± 0.02	0.511 ± 0.02	---	---	0.4 ± 0.42	0.5 ± 0.35	4 / 10000	5 / 10000
Avacincaptad pegol[a]	376[d]	5	5	0.488 ± 0.03	0.491 ± 0.05	10	-4	1.0 ± 0.35	0.8 ± 0.57	10 / 10000	8 / 10000

F: female; GLP: Good Laboratory Practice; HPLC: high-performance liquid chromatography; IV: intravenous; M: male; MPCE: micronucleated polychromatic erythrocytes; PBS: phosphate-buffered saline; PCEs: polychromatic erythrocytes; SD: standard deviation; TE: total erythrocytes

Note: Statistically significant increase:*: p≤0.05 (Kastenbaum-Bowman Tables)

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Corresponds to 500 mg/kg of the total aptamer

c: Corresponds to 1000 mg/kg of the total aptamer

d: Corresponds to 2000 mg/kg of the total aptamer
e: Mice were dosed at a volume of 10 mL/kg.

2.6.7.10 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day) [a]	No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Pregnant SD rats	Intravenous (PBS in SWFI)	GD6 through GD18	0.1 and 1.2	4F	None.	20334072	4.2.3.5.2-1 (参)
Pregnant NZW rabbits	Intravenous (PBS in SWFI)	GD7 through GD19	0.1 and 1.2	4F	None.	20332453	4.2.3.5.2-2 (参)

F: female; GD: gestation day; NZW: New Zealand White; PBS: phosphate buffered saline; SD: Sprague Dawley; SWFI: sterile water for injection

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

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

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は実施しなかった。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: An embryo-fetal development study of Zimura given by intravenous injection in rats				**Study No.** 20334075	
Species / Strain: Pregnant SD rats		**Duration of Dosing:** 12 days: iv bolus once daily GD6 through GD17		**CTD No.:** 4.2.3.5.2-3	
Initial Age: 60 to 78 days		**Day of Mating:** GD0			
Date of First Dose: [redacted]		**Day of Euthanasia:** GD21 (main study) and GD18 (toxicokinetic phase)		**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: None		**Method of Administration:** iv			
		Vehicle/Formulation: PBS in SWFI		**Design Similar to ICH 4.1.3:** Yes	
No Observed Adverse Effect Level					
F0 Females: 1.2 mg/kg/day					
F1 Litters: 1.2 mg/kg/day					
Daily Dose (mg/kg)[a]:		0 (Control)	0.1	0.4	1.2
Dams/Does:	Toxicokinetics: GD17 AUC_{last} (ng·h/mL)	-	9440	50000	131000
	No. Pregnant	23	24	24	24
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations[b]	-	-	-	-
	Necropsy Observations[c]	-	-	-	-
	Body Weight (%)[d]	-	102.7	102.0	101.1
	Food Consumption (%)[e]	-	100.4	101.2	100.8

	Mean No. Corpora Lutea	12.7	13.4	14.0	13.1
	Mean No. Implantations	11.8	12.6	12.4	12.3
	Mean % Preimplantation Loss	6.78	5.51	11.07	6.27
Litters:	No. Litters Evaluated	23	24	24	24
	No. Live Fetuses	265	286	284	281
	Mean No. Resorptions (total)	0.3	0.7	0.6	0.5
	Mean % Post-implantation Loss	2.49	5.68	4.64	4.46
	Mean Fetal Body Weight (g)	6.143	6.140	6.027	6.164
	Fetal sex ratio (%)	46.75	50.11	49.23	50.61
	Fetal Anomalies				
	No. of fetuses examined for Gross External Anomalies[f]	265	286	284	281
	Gross External Anomalies (number of fetuses)	1	0	0	1
	General				
	Entire Subcutis, Edema – Malformation	0	0	0	1
	Tail				
	Tail, Absent – Malformation	1	0	0	0
	No. of fetuses examined for Visceral Anomalies[f]	127	136	135	136
	Visceral Anomalies (number of fetuses)	2	0	0	0
	General				
	General, Situs inversus – Malformation	1	0	0	0
	Great vessels				
	Great vessels, Transposition of Great Vessels – Malformation	1	0	0	0

	Heart				
	Heart, Musc Ventricular Septal Defect – Malformation	1	0	0	0
	Innominate artery				
	Innominate artery, Absent – Variation	1	0	0	0
	Lung				
	Lung, Absent – Malformation	1	0	0	0
	No. of fetuses examined for Skeletal Anomalies[f]	138	150	149	145
	Skeletal Anomalies (number of fetuses)	29	34	39	38
	Forelimb				
	Metacarpal, 1 or more, Unossified – Variation	0	0	1	0
	Pelvic girdle				
	Pelvic girdle, Both, Malpositioned – Variation	1	0	0	0
	Rib				
	Rib, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Rib, 1 or more, Incomplete ossification – Variation	0	0	1	0
	Rib, 1 or more, Nodule – Variation	0	2	2	1
	Rib, 1 or more, Short – Variation	3	1	0	4
	Skull				
	Frontal, Both, Incomplete ossification – Variation	0	0	3	0
	Hyoid body, Unossified – Variation	7	6	10	5
	Interparietal, Incomplete ossification – Variation	1	1	0	1

	Maxilla, Both, Incomplete ossification – Variation	0	1	1	0
	Parietal, Both, Incomplete ossification – Variation	1	1	1	0
	Parietal, Left, Incomplete ossification – Variation	1	1	0	0
	Parietal, Right, Incomplete ossification – Variation	0	0	1	0
	Squamosal, Both, Incomplete ossification – Variation	1	2	2	0
	Squamosal, Left, Incomplete ossification – Variation	0	0	0	1
	Supraoccipital, Incomplete ossification – Variation	0	1	2	0
	Zygomatic arch, Both, Incomplete ossification – Variation	3	9	12	2
	Zygomatic arch, Left, Incomplete ossification – Variation	3	4	4	1
	Zygomatic arch, Right, Incomplete ossification – Variation	2	0	1	0
	Sternebra				
	Sternebra, 1 or more, Misshapen – Variation	0	0	1	1
	Sternebra, 1 or more, Sternoschisis – Malformation	0	0	1	0
	Sternebra, 1 or more, Unossified – Variation	0	2	1	0
	Supernumerary rib				
	Cervical, 1 or more, Short – Variation	2	1	3	2

	Thoracolumbar, 1 or more, Short – Variation	6	11	11	25
	Vertebra				
	Caudal vertebra, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Cervical arch, 1 or more, Misshapen – Variation	2	0	0	0
	Cervical arch, 1 or more, Incomplete ossification – Variation	0	1	1	0
	Lumbar vertebra, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Sacral vertebra, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Sacral vertebra, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Thoracic arch, 1 or more, Small – Variation	1	0	0	0
	Thoracic centrum, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0
	Thoracic centrum, 1 or more, Incomplete ossification – Variation	1	0	2	2
	Thoracic vertebra, 1 or more, Absent – Malformation	1	0	0	0

AUC_{last}: area under the concentration-time curve; F: female; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; iv: intravenous; PBS: phosphate-buffered saline; SD: Sprague Dawley; SWFI: sterile water for injection

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: There were no avacincaptad pegol- related clinical observations at any dose level. All clinical observations (thin fur cover, scab, red vaginal discharge) were considered unrelated to avacincaptad pegol because the observations were 1) in control animals that lacked exposure to the test article; 2) limited to 1 or 2 females in any dose group; 3) occurred at a similar frequency to control animals; or 4) lacked dose dependency.

c: All females appeared macroscopically normal.

d: Mean maternal body weights on GD 21 compared to controls

e: Mean maternal daily food consumption from GD 6 to GD 21 compared to controls

f: Includes all live fetuses examined from litters euthanized as scheduled. There were no dead fetuses on GD 21 (scheduled euthanasia day)

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Report Title: An embryo-fetal development study of Zimura given by intravenous injection in rabbits				**Study No.** 20332454	
Species / Strain: Pregnant NZW Rabbits		**Duration of Dosing:** 13 days: iv bolus once daily GD7 through GD19		**CTD No.:** 4.2.3.5.2-4	
Initial Age: 4 to 6 months		**Day of Mating:** GD0			
Date of First Dose: [redacted]		**Day of Euthanasia:** GD29		**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: None		**Method of Administration:** iv			
		Vehicle/Formulation: PBS in SWFI		**Design Similar to ICH 4.1.3:** Yes	
No Observed Adverse Effect Level					
F0 Females: 1.2 mg/kg/day					
F1 Litters: 1.2 mg/kg/day					
Daily Dose (mg/kg/day)[a]:		0 (Control)	0.12	0.4	1.2
Dams/Does:	Toxicokinetics: GD19 AUC_{last} (ng·h/mL)	-	4240	18200	81300
	No. Pregnant	15	18	16	20
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[b]	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	1[b]	0
	Clinical Observations[c]	-	-	-	-
	Necropsy Observations[d]	-	-	-	-
	Body Weight (%)[e]	-	99.6	100.7	101.9
	Food Consumption (%)[f]	-	99.7	101.3	104.8
	Mean No. Corpora Lutea	12.6	11.8	11.2	12.2
	Mean No. Implantations	10.9	10.7	10.3	10.5

	Mean % Preimplantation Loss	13.99	10.09	8.34	13.69
Litters:	No. Litters Evaluated	15	18	16	20
	No. Live Fetuses	158	181	153	197
	No. Dead Fetuses	0	0	1	0
	Mean No. Resorptions (total)	0.4	0.6	0.6	0.7
	Mean % Post-implantation Loss	3.91	5.47	6.75	5.31
	Mean Fetal Body Weight (g)	38.10	40.80	40.43	39.43
	Live Male Fetus/Litter (%)	43.14	57.70*	49.85	55.81*
	Fetal Anomalies[g]				
	No of fetuses evaluated for Gross External Anomalies[h]	158	181	153	197
	Gross External Anomalies (number of fetuses)	0	2	0	1
	Trunk				
	Abdomen, Distended – Variation	0	0	0	1
	Trunk, Gastroschisis – Malformation	0	1	0	0
	Umbilicus, Hernia – Malformation	0	1	0	0
	No. of fetuses evaluated for Visceral Anomalies[h]	158	181	153	197
	Visceral Anomalies (number of fetuses)	1	3	0	2
	Great vessels				
	Truncus arteriosus, Persistent – Malformation	1	1	0	1
	Heart				
	Heart, Memb Ventricular Septal Defect – Malformation	1	1	0	1
	Intestine				

	Intestine, Malpositioned – Malformation	0	2	0	0
	Liver				
	Liver, Malpositioned – Malformation	0	1	0	0
	Lung				
	Lobe, Accessory, Absent – Variation	0	0	0	1
	No. of fetuses evaluated for Skeletal Anomalies[h]	158	181	153	197
	Skeletal Anomalies (number of fetuses)	111	85	75	117
	Hindlimb				
	Hindpaw phalanges, 1 or more, Unossified – Variation	1	0	1	2
	Talus, Both, Unossified – Variation	4	2	7	2
	Pelvic girdle				
	Pubis, Both, Incomplete ossification – Variation	1	0	0	0
	Pubis, Both, Unossified – Variation	2	0	4	1
	Pubis, Right, Incomplete ossification – Variation	0	0	0	1
	Rib				
	Rib, 1 or more, Nodule – Variation	0	0	1	0
	Skull				
	Hyoid ala, Both, Short – Variation	0	0	0	1
	Hyoid body, Unossified – Variation	1	0	3	2
	Nasal, Both, Fused – Malformation	0	0	0	1
	Suture bone, Supernumerary site – Variation	2	0	1	1
	Sternebra				

	Sternebra, 1 or more, Fused – Variation	1	3	1	6
	Sternebra, 1 or more, Misshapen – Variation	0	0	0	1
	Sternebra, 1 or more, Unossified – Variation	66	29	32	37
	Sternebra, 1 or more, Incomplete ossification – Variation	0	1	5	1
	Sternebra, 1 or more, Isolated ossification site – Variation	0	3	0	1
	Supernumerary rib				
	Thoracolumbar, 1 or more, Full – Variation	38	34	33	56
	Thoracolumbar, 1 or more, Short – Variation	31	29	18	36
	Vertebra				
	Cervical centrum, 1 or more, Unossified – Variation	1	0	1	1
	Cervical centrum, 1 or more, Incomplete ossification – Variation	1	0	2	0

AUC_{last}: area under the concentration-time curve; F: female; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; iv: intravenous; NZW: New Zealand White; PBS: phosphate-buffered saline; SWFI: sterile water for injection

Note: Statistically significant increase: *: p≤0.05 (Kruskal-Wallis & Dunn)

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Female 3518 in the 0.4 mg/kg/day dose group aborted on GD 25. This abortion is considered spontaneous and not avacincaptad pegol-related because it was a single non-dose dependent event.

c: There were no avacincaptad pegol-related clinical observations at any dose level. All clinical observations (ungroomed fur, fur loss, thin fur cover, broken toe nail, thinness, abnormal fecal consistency, and discharge) were all considered unrelated to avacincaptad pegol because: 1) the number of females affected was similar to the control group; 2) the observation occurred at a similar frequency to control animals; 3) the observations were limited to 1 or 2 females in any dose group; and/or 4) the findings lacked dose dependency.

d: All females appeared macroscopically normal.

e: Mean maternal body weights on GD 29 compared to controls

f: Mean maternal daily food consumption from GD 7 to GD 29 compared to controls (GD 7 to GD 29)

g: The fetal external, visceral, or skeletal malformations or variations presented in this table were not avacincaptad pegol-related at any dose level.

h: Includes all fetuses (live and dead) evaluated from litters euthanized as scheduled. In Group 3 on GD 29 (scheduled euthanasia day) there were 153 live and 1 dead fetuses. In all other Groups, all fetuses were alive on GD 29.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

アバシンカプタド　ペゴルナトリウムの適応症は，高齢者に認められる地図状萎縮を伴う加齢性黄斑変性であることから，幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.16 局所刺激性試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)[a]	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
NZW rabbits	Intravitreal injection	0, 0.15, 0.5, 1.5, 1.5 + 0.3[b], and 1.5 + 0[c] mg/eye[d]	5-9/sex for avacincaptad pegol groups	- Repeated injection of ranibizumab plus avacincaptad pegol was associated with inflammatory changes in the eyes (detected by ophthalmic examination) that were most likely an immunologic response to the repeated injection of ranibizumab, a foreign (human) protein. This condition progressed with repeated IVT injection. It was not noted in groups where avacincaptad pegol was administered alone. - Avacincaptad pegol-related microscopic findings were limited to vacuolation in the ganglion cell layer of the retina of high-dose rabbits (1.5.mg/eye ± ranibizumab), which was first observed 3 days after the first dose (graded minimal to moderate), but absent on Day 29 (4 weeks after the first dose); 3 days after Dose 10, similar changes in the retina were observed that were graded mild (i.e., there was no progression with repeated dosing), and no changes were evident in Week 4 (4 weeks after the last dose). The vacuolation most likely reflects deposition of the PEGylated aptamer in the retinal cells.	XGL00005	4.2.3.2-1

Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)[a]	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Beagle dogs	Intravitreal injection	0, 0.3, 1.0, 3.0, 3.0 + 0.5[b], and 3.0 + 0[c] mg/eye[d]	5-9/sex for avacincaptad pegol groups	- On Day 4, microscopic findings were limited to minimal to moderate vacuolation in the ganglion cell layer of the retina (without notable thickening of the affected retina) in dogs that received 3.0 mg/eye and one dog treated with 1.0 mg/eye (graded mild), which was not affected by co-administration of ranibizumab; this was absent on Day 29, reflecting full recovery. - Three days after the last dose (Dose 10), dose-related vacuolation in the retina were observed at all avacincaptad pegol dose levels, and this change extended into the optic tract of high-dose animals; also, it was not reversed by Week 41. - There were no other anatomic pathology findings. The vacuolation most likely reflects deposition of the PEGylated aptamer in the retinal cells.	XGL00006	4.2.3.2-2
SD rats	Intravenous	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540, and 800 mg/kg	9M and 7-9F	None.	KSH00038	4.2.3.1-1 (参)[f]
SD rats	Intravenous	iv bolus: 0, 26, 54, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 341, 706, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 367, 760, and 1410 mg/kg	6M, 6F (low and mid dose) 12M, 12F (high dose)	None.	501280	4.2.3.2-3 (参)[f]

Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)[a]	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Cynomolgus monkeys	Intravenous	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2, and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2, and 287 mg/kg	1M and 1F	None.	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)
Cynomolgus monkeys	Intravenous	iv bolus: 0, 10, 30, and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 131, 393, and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423, and 1410 mg/kg	3-5M[e], 3-5F[e]	None.	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

F: female; GLP: Good Laboratory Practice; iv: intravenous; M: male; NZW: New Zealand White

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of oligonucleotide.

b: Avacincaptad pegol and ranibizumab doses, respectively

c: These animals were used for a non-GLP assessment of the effect of concurrent dosing on intraocular pressure, prior to commencement of the main part of the study. This investigation was completed prior to initiation of the other groups, and the animals were removed from study without necropsy.

d: The test materials were administered to both eyes of the animals.

e: Groups 1 and 4 contained 5M and 5F animals and Groups 2 and 3 contained 3M and 3F animals.

f: この試験の一部として実施した副次的試験は評価資料であるが，単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料として位置付ける。

2.6.7.17 その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施しなかった。