メキニスト錠0.5mg
メキニスト錠2mg

製造販売承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）CTDの概要（サマリー）

2.6.　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6.　毒性試験の概要文
2.6.7.　毒性試験概要表

ノバルティスファーマ株式会社

Apr 14 2015 12:02:05

非臨床概要 毒性試験の目次

項目 －頁

2.6.6. 毒性試験の概要文 ..... 2.6.6 – p. 1
2.6.6.1. まとめ ..... 2.6.6 – p. 1
2.6.6.2. 急性毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 4
2.6.6.3. 反復投与毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 5
2.6.6.4. 遺伝毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 12
2.6.6.5. がん原性試験 ..... 2.6.6 – p. 13
2.6.6.6. 生殖発生毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 13
2.6.6.7. 局所刺激性試験 ..... 2.6.6 – p. 15
2.6.6.8. その他の毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 15
2.6.6.9. 考察及び結論 ..... 2.6.6 – p. 18
2.6.6.10. 図表 ..... 2.6.6 – p. 28
2.6.6.11. 参考文献 ..... 2.6.6 – p. 28
2.6.7. 毒性試験概要表 ..... 2.6.7 – p. 1

2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧

略語（略称）	内容
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
Cmax	最高血漿中濃度
COV	Covance Laboratories
CRL	Charles River Laboratories
DMSO	ジメチルスルホキシド
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
FGF	線維芽細胞増殖因子
FGFR	線維芽細胞増殖因子受容体
GALT	腸管付属リンパ節
GSK	GlaxoSmithKline
GSK1120212B	トラメチニブジメチルスルホキシド付加物
GSK1120212H	トラメチニブ酢酸付加物
GSK2118436B	ダブラフェニブメシル酸塩
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
JT	Japan Tobacco
LLQ	Lower limit of quantitation (定量下限未満)
LOEL	最小影響量
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
MPCE	小核を有する多染性赤血球
MTD	最大耐量
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
NRU	ニュートラルレッド取り込み
NZW ウサギ	New Zealand White ウサギ
PCE	多染性赤血球
PIF	Photo-irritation factor（光毒性試験で算出する指標：薬物処理群の UV 非照射時と照射時の IC50 の比）
pc	post coitum (妊娠)
S9-mix	代謝活性化系
SD ラット	Sprague Dawley ラット
SLS	ラウリル硫酸ナトリウム
UV	紫外線

2.6.6.　毒性試験の概要文

2.6.6.1.　まとめ

GSK1120212B の急性毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、心臓への影響に関する検討、光毒性試験、並びに BRAF 阻害薬である GSK2118436B（臨床使用時併用薬）との併用投与毒性試験を実施した。なお、ラットの急性毒性は短期反復投与毒性試験により評価した。

投与量及び濃度は、遊離塩基換算量で表記した。GSK1120212B の被験物質として、開発初期の試験（in vitro 遺伝毒性試験、イヌの急性毒性試験並びにラット及びイヌの短期反復投与毒性試験）では未微粉化原薬を使用したが、それ以外の試験では微粉化原薬を使用した。

実施した主要毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示し、観察された主要所見を以下に示す。

表 2.6.6-1　主要毒性試験一覧

試験項目及び期間	投与経路	動物種等	被験物質
急性毒性			
	経口	イヌ (ビーグル)	GSK1120212B[a]
反復投与毒性			
26 週間	経口	マウス (CD-1)	GSK1120212B
3 週間	経口	ラット (SD)	GSK1120212B
13 週間	経口	ラット (SD)	GSK1120212B
3 週間	経口	イヌ (ビーグル)	GSK1120212B
13 週間	経口	イヌ (ビーグル)	GSK1120212B
遺伝毒性			
復帰突然変異	in vitro	ネズミチフス菌・大腸菌	GSK1120212B[a]
マウスリンフォーマ TK	in vitro	マウスリンパ腫細胞	GSK1120212B[a]
小核	経口	ラット (SD)	GSK1120212B
生殖発生毒性			
胚・胎児発生	経口	ラット (SD)	GSK1120212B
	経口	ウサギ (Dutch Belt)	GSK1120212B
その他の毒性			
心臓への影響	経口	マウス (CD-1)	GSK1120212B
	in vitro	初代培養ラット心筋細胞	GSK1120212B
光毒性	in vitro	3T3 マウス線維芽細胞	GSK1120212B
併用投与毒性	経口	イヌ (ビーグル)	GSK1120212B /GSK2118436B

a = 未微粉化原薬

急性毒性

GSK1120212B（3 mg/kg/日まで）をラット及びイヌにそれぞれ最長 2 週間及び単回（漸増）経口投与した。ラットでは、雌雄のそれぞれ 0.5 及び 1 mg/kg/日以上の群で体重減少、1 mg/kg/日以上の群で皮膚病変、軟／液状便、立毛又は活動性低下がみられ、雄の 2.5 mg/kg/日以上の群及び雌の 3 mg/kg/日群で死亡が認められた。イヌでは、3 mg/kg/日群で体重減少及び軟／液状便がみられ、3 mg/kg/日群の雌雄をそれぞれ単回投与後 5 及び 1 日に切迫屠殺

した。単回経口投与時の概略の致死量は、雌雄ラットでそれぞれ 3 及び 2.5 mg/kg/日、雌雄イヌではともに 0.5～3 mg/kg/日であった。

反復投与毒性

GSK1120212B をマウス（最長 26 週間）、ラット（最長 13 週間）及びイヌ（最長 13 週間）に経口投与して、反復投与毒性を評価した。

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.3、0.0625 及び 0.030 mg/kg/日以上の群において、GSK1120212B に関連した重度の皮膚／消化管障害（びらん、潰瘍等）によると考えられる死亡（切迫屠殺を含む）がみられた。

皮膚への影響として、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で皮膚病変（痂皮、赤色化、表皮肥厚、びらん又は潰瘍）がみられた。消化管への影響として、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で、粘膜上皮のびらん／潰瘍及び炎症がみられ、最も感受性の高かったイヌでは体重減少及び摂餌量低値を伴う異常便（軟／粘液／液状便）も認められた。また、マウスでは結腸穿孔による腹膜炎もみられた。リン恒常性への影響として、ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で血清リン高値及び胃鉱質沈着がみられ、致死量以上の短期投与により、ラット（1 mg/kg/日）ではその他の器官にも鉱質沈着（心臓では心筋壊死を伴う）、イヌ（0.25 mg/kg/日以上）でも血清リン高値がみられた。造血器への影響として、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 1.0、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日以上の群で骨髄細胞壊死／赤血球前駆細胞減少、マウス及びイヌのそれぞれ 0.1 及び 0.075 mg/kg/日以上の群で脾臓リンパ球壊死及びリンパ組織のリンパ球減少／壊死がみられ、ラット及びイヌの 0.016 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群では赤血球数、網状赤血球数又はリンパ球数の低値も認められた。これらの所見は概して致死量以上で観察された。一方、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.03 mg/kg/日以上の群では、皮膚／消化管所見に関連した反応と考えられる骨髄過形成及びリンパ節形質細胞増加がみられ、白血球数、好中球数又は血小板数の高値も認められた。肝臓に対する影響として、マウスの 1.0 mg/kg/日群及びラットの 0.0625 mg/kg/日以上の群で肝細胞壊死がみられ、ラットでは血清 AST 又は ALT 高値を伴った。また、イヌの 0.075mg/kg/日群では、同時に観察された消化管障害に伴う炎症に関連すると考えられる胆汁うっ滞（血清総ビリルビン、ALP、コレステロール及びトリグリセリドの高値、並びに胆管でビリルビンの存在を示すホール染色陽性物質沈着）がみられた。その他、ラットにおいてのみ、0.125 mg/kg/日群で骨（骨端板肥厚）、0.016 mg/kg/日以上の群で卵巣（卵胞嚢胞増加及び黄体数減少）への影響がみられた。

回復性を検討したラット及びイヌの試験結果から、いずれの所見も休薬によりおおむね回復するものと考えられる。

各動物種を用いた最長の反復投与試験における無毒性量は、マウス（26 週間）で 0.1 mg/kg/日未満、雌雄のラット（13 週間）でそれぞれ 0.016 及び 0.031 mg/kg/日未満、イヌ（13 週間）で 0.023 mg/kg/日と推定された。また、これらの試験の最大耐量は、マウスで 0.1 mg/kg/日、ラットで 0.031 mg/kg/日、イヌで 0.023 mg/kg/日であった。

遺伝毒性

GSK1120212B の細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びラット小核試験では、いずれの結果も陰性であった。

生殖発生毒性

ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験では、それぞれ 0.062/0.016（初回/2 回目以降の投与量）及び 0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で母動物の体重増加量の低値、それぞれ 0.094/0.031 及び 0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で胎児体重低値がみられた。また、ラットでは 0.125/0.062 mg/kg/日以上の群で痂皮がみられた。更に、ラットでは 0.375/0.125 mg/kg/日群で着床後死亡率の高値傾向、ウサギでは 0.308/0.154 mg/kg/日群の 1 例で流産、0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で胎児の成長抑制に伴う骨化遅延によると考えられる骨格異常（中手骨、頭頂骨、舌骨不完全骨化等）の発現頻度の増加がみられた。母動物及び胚・胎児発生に関する無毒性量は、ラットでそれぞれ 0.094/0.031 及び 0.062/0.016 mg/kg/日、ウサギではともに 0.077/0.0385 mg/kg/日未満と推定された。

その他の毒性

心臓への影響

マウスに GSK1120212B を 21 日間経口投与した結果、0.25 及び 0.5 mg/kg/日群で左室機能（心拍出量、1 回拍出量、駆出率、左室内腔面積変化率及び左室内径短縮率）の低下、並びに心拍数及び心重量の低値がみられたが、ドブタミン負荷による心収縮予備能は保持されていた。また、初代培養ラット心筋細胞において、細胞生存性及びミトコンドリア機能に対する影響も認められなかった。

光毒性

3T3 NRU 光毒性試験において GSK1120212B は光毒性を有する可能性（PIF = 6.5）が示唆された。

GSK2118436B（BRAF 阻害薬）との併用投与による影響

イヌに GSK1120212B 及び GSK2118436B を 4 週間併用経口投与したときに観察された主要所見について、各薬物を単独で投与したときの所見と比較した。

GSK1120212B/GSK2118436B の 0.0225/20 mg/kg/日群の切迫屠殺例（1 例）では、GSK1120212B の単独投与で既知の結腸及び直腸粘膜の好中球性炎症、GSK2118436B で既知の貫壁性・血管周囲性の好中球性・組織球性炎症を伴う右冠動脈外膜変性／壊死、並びに両薬物の単独投与で既知の胸腺リンパ球減少がみられた。

0.0075/5 mg/kg/日以上の群の生存例では、GSK2118436B の単独投与で既知の精巣上皮変性並びに精巣上体における精子数減少及び管腔内変性精巣胚細胞がみられた。しかしながら、胃幽門部粘膜上皮の肉芽腫性炎症（ときに好酸球浸潤及び多核巨細胞内異物蓄積を伴う）並びに腸間膜リンパ節の組織球症及び組織球内異物蓄積は、併用投与時にのみ発現したもので、0.0225/20 mg/kg/日群では白血球数、好中球数及び単球数の高値を伴っていた。

2.6.6.2.　急性毒性試験

ラット短期反復経口投与試験及びラット小核試験並びにイヌ単回漸増経口投与試験の結果を基に急性毒性を評価した。媒体には、0.5% w/v メチルセルロース溶液を用いた。

2.6.6.2.1.　ラット

GSK1120212B（未微粉化）の 1、2 及び 3 mg/kg/日を各群雌雄各 4 匹のラットに最長 12 日間経口投与した。対照群には、媒体を同様に投与した（CD2006/01957/00）。

試験成績を 2.6.7.6.に示した。2 mg/kg/日群の雌雄それぞれ 3/4 及び 1/4 例、並びに 3 mg/kg/日群の雌雄ともに 3/4 例が瀕死状態を呈したため、これらの動物を試験 6 日に切迫屠殺した。また、両群の生存例についても同日に屠殺した。1 mg/kg/日群でも瀕死状態を呈した雄 1 例を試験 8 日に切迫屠殺した。その後、雌雄それぞれ 2/4 及び 1/3 例が瀕死状態を呈したため、試験 12 日に全例を屠殺し、試験を終了した。

全投薬群において、試験 5 日以降、浸出性皮膚病変、活動性低下、円背位、冷感、脱水、体重減少又は摂餌量低値がみられた。病理組織学的検査では、主に死亡例において、皮膚びらん／潰瘍及び浸出液、小葉中心性肝細胞壊死／空胞化、門脈周囲肝細胞肥大／リンパ球浸潤、腎尿細管変性／鉱質沈着、心筋壊死／鉱質沈着、大動脈鉱質沈着、軟骨下骨梗塞、胃底腺鉱質沈着、腺胃／大腸粘膜上皮びらん／過形成、肺胞中隔鉱質沈着、卵胞嚢胞、乳腺腺房上皮壊死（雄）、又は乳腺上皮細胞空胞化／乳汁分泌亢進（雌）がみられた。血液学・血液生化学的検査（試験 12 日）では、1 mg/kg/日群で好中球数及び単球数の高値、血清 AST 及び ALT の高値、リンパ球数及び網状赤血球数の低値、並びに血清グルコース、コレステロール、トリグリセリド、総蛋白及びアルブミンの低値がみられた。

ラット小核試験の用量設定試験（投与量：雌雄に 0.5、1.5 及び 3.0 mg/kg/日並びに雄に 2.5 mg/kg/日）及び本試験（投与量：雄に 1 及び 2 mg/kg/日）において、GSK1120212B（微粉化）を 2 日間経口投与した結果、最終投与翌日（試験 3 日）に雄の 2.5 mg/kg/日以上の群及び雌の 3 mg/kg/日群で死亡がみられ、1.5 mg/kg/日以上の群で軟／液状便、立毛又は活動性低下、雌雄のそれぞれ 0.5 及び 1 mg/kg/日以上の群で体重減少が認められた。

以上のことから、単回経口投与時の概略の致死量は雌雄でそれぞれ 3 及び 2.5 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.2.2.　イヌ

各群雌雄各 1 匹を割り当てた 2 群を設けた。最初の群には GSK1120212B（未微粉化）の 0.15 mg/kg/日を試験 1 日、3 mg/kg/日を試験 16 日に経口投与し、切迫屠殺時まで観察後、剖検した。もう一方の群には 0.5 mg/kg/日を試験 8 日に経口投与し、一般状態の著しい悪化は認められなかったため、試験 23 日（試験終了日）まで観察し、剖検は実施しなかった（CD2006/00919/01）。

試験成績を 2.6.7.5.に示した。3 mg/kg/日の投与により、活動性低下、脱水、軟／液状便、体重減少等の一般状態の悪化がみられたため、雌雄をそれぞれ投与後 5 及び 1 日に切迫屠殺した。病理組織学的検査の結果、出血／急性炎症を伴う胃潰瘍／びらん又は小腸陰窩粘膜の壊死、胸腺／パイエル板でリンパ組織萎縮／壊死、骨髄細胞密度低下等がみられた。血液

学・血液生化学的検査を 0.15 及び 0.5 mg/kg/日投与時は投与後 2 及び 8 日、3 mg/kg/日投与時は投与後 2 及び 5 日に実施した結果、0.15 及び 0.5 mg/kg/日で網状赤血球数及びヘモグロビンの低値（いずれも投与後 2 及び 8 日）、0.5 mg/kg/日以上で白血球数（投与後 2 及び 5 日）並びに血清 ALP（投与後 2、5 及び 8 日）及び無機リン（投与後 2 及び 5 日）の高値がみられた。

以上より、単回経口投与時の概略の致死量は、雌雄とも 0.5～3 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.　反復投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いて、それぞれ 26、13 及び 13 週間までの反復経口投与毒性試験を実施した。媒体には、5% w/v マンニトール／0.2% w/v SLS 含有 1.5% w/v HPMC 溶液を使用した。

2.6.6.3.1.　マウス 26 週間経口投与試験

雄マウスに GSK1120212B（微粉化）の 0.1、0.3 及び 1.0 mg/kg/日、雌には 0.1、0.3 及び 1.0/0.6 mg/kg/日を最長 26 週間経口投与した（各群 12 匹）。対照群には、媒体を同様に投与した。また、対照群には各群雌雄各 3 匹、投薬群には各群 15 匹を設け、トキシコキネティクス（投与 4 週）を評価した（2012N150025_00）。

本試験の高用量は、ヌードマウスへの 0.6 mg/kg/日の 2 週間経口投与において体重減少がみられた（2011N121723_00）が、本試験と同系統の雄マウスへの 0.5 mg/kg/日の 3 週間経口投与では認められなかったこと（2011N128277_00）から、投与期間を考慮して 1.0 mg/kg/日とした。

試験成績を 2.6.7.7.1.に示した。AUC(0-24) 及び Cmax は投与量増加に伴い増加し、明らかな性差は認められなかった。

雌雄の高用量群に対して 1.0 mg/kg/日の投与を開始したところ、一般状態の悪化が顕著であったことから、それぞれ試験 22 及び 23 日に投与を中止し、休薬させた。しかしながら、同群の雄については、休薬後も体重は回復せず、曝露量は雌の約 2 倍であったことを考慮して、試験 42 日に全例切迫屠殺して試験を終了した。一方、同群の雌については、0.6 mg/kg/日に減量して、試験 43 日に投与を再開したが、一般状態の悪化及び死亡（切迫屠殺）がみられたことにより、試験 78 日に試験を終了した。0.3 mg/kg/日群でも、死亡（切迫屠殺含む）や体重減少等がみられたため、雌雄全例をそれぞれ試験 92 及び 93 日に切迫屠殺して試験を終了した。なお、全群を対象とした一般状態観察、体重・摂餌量測定、剖検及び病理組織学的検査以外の検査は、26 週間投与が継続できた対照群及び 0.1 mg/kg/日群のみを対象とした。

0.3 mg/kg/日群の雄 3 例及び雌 1 例が試験 66～89 日に、雄の 1.0 mg/kg/日群の 2 例が試験 16 又は 26 日（休薬 4 日）に、雌の 1.0/0.6 mg/kg/日群の 2 例が試験 22（1.0 mg/kg/日投与後の休薬 1 日）又は 71 日（0.6 mg/kg/日投与時）に死亡（切迫屠殺含む）した。死因は、結腸のびらん／潰瘍及び炎症、又は腸管穿孔による腹膜炎で、これらの死亡は GSK1120212B に関連したものと考えられる。その他、0.1 及び 0.3 mg/kg/日群のそれぞれ雌 2（試験 110/156

日）及び 1 例（試験 25 日）が死亡したが、死因についてはそれぞれ進行性慢性腎症及び誤投与（食道穿孔）によるもので、GSK1120212B に関連したものではないと考えられる。

0.3 mg/kg/日以上の群では、主に死亡又は切迫屠殺例において、活動性低下、冷感、削痩、円背位、虚脱、筋緊張低下、部分閉眼、皮膚蒼白、腹部膨満、呼吸異常、歩行失調、振戦等の一般状態の悪化がみられた。雄の 0.1 mg/kg/日群（試験 137 日以降）、雌雄の 0.3 mg/kg/日群（それぞれ試験 63 及び 28 日以降）、雌の 1.0/0.6 mg/kg/日群（0.6 mg/kg/日の投与 21 日にあたる試験 63 日以降）及び雄の 1.0 mg/kg/日群（試験 14 日以降；休薬期間含む）に体重の低値又は減少がみられ、雄の 0.1 及び 1.0 mg/kg/日群では同時期（それぞれ試験 134 日以降及び試験 15～22 日）に摂餌量低値も伴っていた。

眼科学的検査では、0.1 mg/kg/日群に GSK1120212B に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、雄の 0.1 mg/kg/日群において、主に好中球数（2/15 例で顕著）及び単球数の高値による総白血球数の高値、並びに網状赤血球数及び血小板数の高値がみられた。血液生化学的検査では、0.1 mg/kg/日群において、雌雄で血清アルブミンの低値（前述の雄 2/15 例で顕著）及び雄で血清クレアチニンの高値がみられた。

器官重量測定では、雄の 0.1 mg/kg/日群で脾臓の絶対・相対重量の高値がみられた。

剖検では、雌雄のそれぞれ 0.3 及び 0.1 mg/kg/日以上の群において盲／結／直腸の肥厚／暗色部／癒着、並びに脾臓及び下顎／腸間膜リンパ節の大型化、雄の 0.3 mg/kg/日以上の群で結腸穿孔、雄の 0.1 及び 0.3 mg/kg/日群並びに雌の 0.3 mg/kg/日群で皮膚痂皮形成、雄の 0.3 mg/kg/日以上の群及び雌の 1.0/0.6 mg/kg/日群で胸腺小型化がみられた。

病理組織学的検査では、雌の 1.0/0.6 mg/kg/日群の 1 例で前胃の軽微な亜急性炎症、雄の 0.3 mg/kg/日以上の群で腺胃の軽微～軽度の変性／壊死、雄の 1.0 mg/kg/日群の 1 例で軽度の回腸絨毛萎縮、雌雄の全投薬群で結／盲／直腸の軽微～中等度の炎症、びらん／潰瘍又は変性／壊死、雌雄の 0.3 mg/kg/日以上の群で軽微～中等度の腹膜炎、雄の 0.1 及び 0.3 mg/kg/日群並びに雌の 0.3 mg/kg/日群で軽微～中等度の皮膚潰瘍、脾臓では雌雄の全投薬群で軽微～重度の髄外造血並びに雄の 0.3 mg/kg/日以上の群及び雌の全投薬群で軽微～軽度のリンパ球壊死、骨髄では雌雄の全投薬群で軽微～重度の骨髄過形成並びに雌雄のそれぞれ 1.0/0.6 及び 1.0 mg/kg/日群で軽度の変性／壊死、肝臓では雄の全投薬群及び雌の 0.3 mg/kg/日以上の群で軽微な髄外造血／類洞内好中球数増加並びに雄の 1.0 mg/kg/日群の 1 例で軽微な肝細胞単細胞壊死、下顎／腸間膜リンパ節では雄の全投薬群及び雌の 0.3 mg/kg/日以上の群で軽微～中等度の形質細胞増加、雌雄の 0.3 mg/kg/日群で軽微～軽度のリンパ球増加並びに雌の 0.3 mg/kg/日以上の群でリンパ球壊死、雄の 0.3 mg/kg/日以上の群並びに雌の 0.1 及び 1.0/0.6 mg/kg/日群で軽微～重度の胸腺萎縮、雌雄の 0.3 mg/kg/日以上の群で軽微～中等度の膵臓腺房細胞萎縮がみられた。

以上のことから、無毒性量は雌雄ともに 0.1 mg/kg/日未満と推定された。雌雄ともに GSK1120212B に関連した死亡が 0.3 mg/kg/日以上でみられたことから、最大耐量は 0.1 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.2.　　ラット 3 週間経口投与試験

GSK1120212B（微粉化）の 0.016、0.031、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日を各群雌雄各 10 匹のラットに 3 週間経口投与した。対照群には、媒体を同様に投与した。また、各群雌雄各 3 匹を設けてトキシコキネティクスを評価した。更に、対照群、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日群に各群雌雄各 6 匹を設けて、2 週間の休薬による回復性を検討した（CD2007/00984/00）。

本試験の高用量は、GSK1120212B（未微粉化）を用いたラット 2 週間経口投与試験（2 試験）及び GSK1120212B（微粉化）をラットに単回経口投与したときの所見と薬物動態の結果に基づき設定した。すなわち、最初の 2 週間経口投与試験において 0.1 mg/kg/日以上の群で一過性の体重減少／増加抑制等がみられたが、1 mg/kg/日［投与 1 日の AUC(0-t) = 78 ng·hr/mL］まで死亡は認められなかったこと（2.6.7.6.及び CD2006/01117/00）、次の試験では 1 mg/kg/日［投与 1 日の AUC(0-t) = 256 ng·hr/mL］以上の群で死亡（切迫屠殺例を含む）及び皮膚等の複数の組織・器官で病理組織学的変化が認められたこと（CD2006/01957/00）、GSK1120212B（微粉化）の 0.125 及び 0.625 mg/kg/日を単回経口投与したときの AUC(0-inf) はそれぞれ 140 及び 1700 ng·hr/mL であったこと（CD2007/00787/00）から、本試験の高用量は 0.125 mg/kg/日とした。

試験成績の概要を 2.6.7.7.2.に示した。AUC(0-t) 及び Cmax は投与量増加に伴い増加し、雌の AUC(0-t)は雄に比べ高値傾向（1.6～3 倍）を示した。投与 21 日の AUC(0-t)及び Cmax は投与 1 日に比べて顕著に増加した（概して 2～7 倍、最大 17.6 倍）。

0.125 mg/kg/日群では、浸出性皮膚病変の増悪及び体重減少（投与 1 日の 0.9 倍）がみられた雌 1 例を投与 20 日に切迫屠殺した。病理組織学的検査の結果、軽微な表皮肥厚、浸出液及び細菌感染を伴う中等度の皮膚潰瘍、重度の腺胃鉱質沈着、並びに組織球浸潤を伴う軽微な肝細胞壊死がみられた。また、広範な皮膚病変に関連すると考えられる骨髄過形成並びに腋窩及び下顎／頸部リンパ節のリンパ形質細胞密度増加もみられた。

0.0625 mg/kg/日以上の群では、頭頸部痂皮等の皮膚病変が用量依存的にみられたが、重度な皮膚病変（ときに浸出液を伴い広範）を呈した動物は 0.125 mg/kg/日群の数例に限られており、雌の皮膚病変は雄に比べて重度であった。体重及び摂餌量に GSK1120212B による影響は認められなかった。

血液学的検査（投与 21 日又は休薬 9 日）では、雌において全投薬群で白血球数、好中球数及び単球数の高値、並びに 0.125 mg/kg/日群で赤血球系パラメータ（ヘモグロビン、ヘマトクリット及び赤血球数）の低値並びに網状赤血球数、赤血球分布幅、好酸球数、好塩基球数、非染色性大型球数及び血小板数の高値がみられた。雄では、全投薬群で網状赤血球数及び好酸球数の低値、0.125 mg/kg/日群で好中球数及び単球数の高値がみられた。

血液生化学的検査（投与 3 又は 21 日）では、0.0625 mg/kg/日群以上の群で血清リン及び血清カルシウム・リン積の高値、雄の 0.125 mg/kg/日群及び雌の 0.0625 mg/kg/日群以上の群で血清アルブミンの低値、雄の 0.031 mg/kg/日以上の群及び雌の全投薬群で血清 AST 又は ALT の高値がみられた。

尿検査では、雌の 0.125 mg/kg/日群で尿蛋白及び尿蛋白／クレアチニン比の高値がみられた。

剖検では、0.0625 mg/kg/日群以上の群で皮膚の痂皮が広範囲にみられた。

器官重量測定では、GSK1120212B に関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、0.0625 mg/kg/日群以上の群において皮膚で軽微～軽度の表皮肥厚又は軽微～中等度のびまん性潰瘍、又は下顎／頸部／腋窩リンパ節でリンパ形質細胞密度増加、雄の 0.031 mg/kg/日以上の群及び雌の全投薬群で軽微～中等度の腺胃鉱質沈着、全投薬群で軽微～軽度の門脈周囲肝細胞空胞化、雌の 0.125 mg/kg/日群で軽微～中等度の骨髄過形成がみられた。

休薬期間終了時には、皮膚及び腺胃の病理組織学的変化は完全には消失しなかったが、これらの所見を含め上記所見はいずれも回復又は回復傾向を示した。

以上のことから、無毒性量は雌雄ともに 0.016 mg/kg/日未満と推定された。最大耐量は、雄では良好な忍容性を示した 0.125 mg/kg/日、雌では 0.125 mg/kg/日群の死亡（切迫屠殺）を考慮して 0.0625mg/kg/日であった。

2.6.6.3.3.　　ラット 13 週間経口投与試験

雄ラットに GSK1120212B（微粉化）の 0.031、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日を、雌には 0.016、0.031 及び 0.0625 mg/kg/日を最長 13 週間経口投与した（各群 12 匹）。対照群には、媒体を同様に投与した。また、各群各 3 匹を設けてトキシコキネティクスを評価した。更に、低用量群を除く各群に各 6 匹を設けて、4 週間の休薬による回復性を検討した（CD2010/00178/00）。

本試験の高用量は、GSK1120212B（微粉化）のラット 3 週間経口投与試験（2.6.6.3.2.）において、0.016 mg/kg/日以上の群で腺胃、肝臓、皮膚等で病理組織学的変化がみられたこと、0.125 mg/kg/日群では雄の死亡はみられなかったが、雌 1 例を切迫屠殺したこと、更に 0.125 mg/kg/日群の投与 21 日における雌の AUC(0-t) は雄の約 2 倍であったことを考慮して、雄には 0.125 mg/kg/日、雌にはその半量の 0.0625 mg/kg/日とした。

試験成績の概要を 2.6.7.7.3.に示した。AUC(0-t)及び Cmax は投与量増加に伴い増加し、同用量の比較では明らかな性差は認められなかった。AUC(0-t) 及び Cmax は投与 4 週まで顕著に増加し（投与 1 日の最大 6.5 倍）、以降は投与 13 週まで緩やかに増加した（2 倍未満）。

雌雄の 0.0625 mg/kg/日群のそれぞれ 3（投与 37 又は 44 日）及び 2 例（投与 55 又は 72 日）並びに雄の 0.125 mg/kg/日群の 3 例（投与 37 又は 44 日）を切迫屠殺した。死因は、雄の 0.0625 mg/kg/日群 1 例では胃の炎症、その他の動物は皮膚病変（潰瘍又はびらん）と考えられる。これらのことから、雌雄のそれぞれ 0.0625 及び 0.125 mg/kg/日群への投与を試験 50 日に中止し、試験を終了した。また、雌の 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日群の各 1 例が死亡（投与 86 又は 22 日）したが、骨格筋又は胸腔内に出血がみられたことから、頸静脈からの採血ミスによるものと考えられる。

雌雄の全投薬群で用量依存的な皮膚病変（痂皮、乾燥、赤色化等）がみられた。雌雄のそれぞれ 0.0625 及び 0.125 mg/kg/日群（それぞれ試験 6 及び 3 週以降）において体重増加抑制／減少がみられ、更に雄では摂餌量低値もみられた。

血液学的検査では、0.031 mg/kg/日群以上の群で好中球数もしくは単球数の高値又はリンパ球数の低値、0.0625 mg/kg/日以上の群で赤血球系パラメータの低値がみられた。

血液生化学的検査では、0.0625 mg/kg/日以上の群で血清 ALT 又は AST の高値、雌雄のそれぞれ 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で血清総蛋白及びアルブミンの低値、雌雄のそれぞれ 0.016 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で血清リンの高値、雌雄のそれぞれ 0.0625 及び 0.125 mg/kg/日群で血清クレアチニン及びカリウムの低値がみられた。

器官重量測定では、雌の 0.031 mg/kg/日群で副腎の絶対・相対重量の高値、並びに 0.016 及び 0.031 mg/kg/日以上の群で卵巣の絶対・相対重量の低値がみられた。

剖検では、0.031 mg/kg/日以上の群でリンパ節の大型化、並びに胃粘膜の肥厚、暗色巣又は陥凹部、雌雄のそれぞれ 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で皮膚に痂皮がみられた。

病理組織学的検査では、0.0625 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の副腎皮質肥大／過形成、雌雄のそれぞれ 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で軽微～中等度の骨髄過形成又は軽微～重度の骨髄変性／壊死（骨幹部）、雄の 0.125 mg/kg/日群 1 例で軽度の膝関節骨端板肥厚、雌雄のそれぞれ 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で軽微～中等度の門脈周囲肝細胞空胞化又は軽微～中等度の限局性／びまん性肝細胞壊死、リンパ節では雌雄のそれぞれ 0.031 及び 0.0625 mg/kg/日以上の群で軽微～重度のリンパ形質細胞過形成、0.016 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の卵胞嚢胞増加及び軽度～重度の黄体数減少、皮膚では主に 0.031 mg/kg/日以上の群で軽微～重度の表皮肥厚、びらん／潰瘍、浸出液／痂皮、急性／亜急性炎症又は薄毛／脱毛、脾臓では雄の 0.125 mg/kg/日群及び雌の 0.031 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の髄外造血、胃では 0.031 mg/kg/日以上の群で軽微～重度の扁平上皮のびらん、炎症及び過形成、並びに 0.0625 mg/kg/日以上の群で軽微～重度の腺胃鉱質沈着及び腺拡張がみられた。

回復性については、高用量群では試験を早期に終了したため検討できなかったが、中用量群で観察された所見のうち、一般状態観察でみられた皮膚病変（痂皮及び赤色化）及び病理組織学的検査でみられた黄体数減少は回復傾向を示し、その他の所見は、病理組織学的検査で観察された所見も含め、いずれも回復性を示した。

以上のことから、雌雄の無毒性量はそれぞれ 0.016 及び 0.031 mg/kg/日未満と推定された。最大耐量は、0.0625 mg/kg/日以上の群での死亡を考慮して、雌雄ともに 0.031 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.4.　　イヌ 3 週間経口投与試験

雄イヌに GSK1120212B（微粉化）の 0.025、0.038 及び 0.075 mg/kg/日を、雌には 0.015、0.020 及び 0.025 mg/kg/日を最長 3 週間経口投与した（各群 3 匹）。対照群には、媒体を同様に投与した。また、低用量群を除く各群に各 2 匹を設けて、2 週間の休薬による回復性を検討した（CD2007/00966/00）。

GSK1120212B（未微粉化）を用いた 10 日間経口投与試験では、雄の 0.5 mg/kg/日群及び雌の 0.25 mg/kg/日群［投与 1 日の AUC(0-24)はそれぞれ 1099 及び 181 ng·hr/mL］で死亡、0.125 mg/kg/日群の雌雄［投与 1 日の AUC(0-24)はそれぞれ 183 及び 72.9 ng·hr/mL］で骨髄顆粒球系細胞増加及び赤血球系細胞減少、更に同群雌で体重減少、異常便、体温低下、十二指腸陰窩細胞壊死がみられた（CD2006/01539/00）。GSK1120212B（微粉化）の薬物動態試験では、0.05 及び 0.1 mg/kg/日を雄に単回経口投与したときの AUC(0-t)はそれぞれ 64 及び 153 ng·hr/mL、雌に 0.025 mg/kg/日を投与したときの AUC(0-t)は 96.2 ng·hr/mL であった

（RD2007/00991/00）。これらのことから、雌雄の高用量は曝露量の観点から忍容性を示すと考えられるそれぞれ 0.025 及び 0.075 mg/kg/日とした。

試験成績の概要を 2.6.7.7.4.に示した。AUC(0-t) 及び Cmax は投与量増加に伴い増加し、明らかな性差は認められなかった。投与 21 日の AUC(0-t) 及び Cmax は投与 1 日と比べて顕著に増加した（概して 5～13 倍、最大 33 倍）。

雄の 0.075 mg/kg/日群の 1 例が死亡した（試験 8 日：7 日間投与）。また、同群 2 例（同日）及び雄の 0.038 mg/kg/日群の 1 例（試験 11 日：9 日間投与）を切迫屠殺した。これらの動物では、死亡／切迫屠殺前に、食欲不振、異常便（軟／粘液／液状／無便）、粗毛、体重減少等がみられた。死因は、盲腸及び結腸付属リンパ節のリンパ球減少を伴う消化管（舌、食道、胃、小腸又は大腸）のびらん及び好中球性炎症と考えられる。死亡例の剖検では、食道及び胃腸管の複数の領域で赤色化がみられた。病理組織学的検査では、上記炎症の二次的変化と考えられる脾臓赤脾、肝臓及び頸部／下顎リンパ節類洞内の好中球数増加、骨髄過形成、又は肝クッパー細胞活性化がみられた。また、胆管過形成及びビリルビン沈着（ホール染色により同定; 雄の 0.075 mg/kg/日群の 1 例）、胸腺リンパ球減少又は副腎皮質過形成がみられた。

雄の 0.075 mg/kg/日群の生存例 2/5 例については、投与 8 日以降の投与を中止し、14 日間休薬させた。これらの動物では、休薬後も活動性低下、食欲不振、異常便等がみられたため、獣医師による支持療法（輸液及び抗生物質投与並びにクロルヘキシジンによる口腔洗浄）を施し、いずれの所見も休薬 10 日までに消失した。

雄では、全投薬群で食欲不振、異常便及び摂餌量低値、並びに 0.038 mg/kg/日以上の群で体重減少が認められた。

血液学・血液生化学的検査（投与期間中／終了翌日：雄の 0.075 mg/kg/日群は試験 8 日、それ以外の群では試験 8～18 日）では、雄の 0.025 mg/kg/日以上の群で赤血球系パラメータの低値並びに白血球数、好中球数及び単球数の高値、雌雄の全投薬群で網状赤血球数の低値がみられた。また、雄においては、0.038 mg/kg/日以上の群で血清 ALP 及びコレステロールの高値、0.075 mg/kg/日群で血清総ビリルビン及びトリグリセリドの高値、全投薬群で血清アルブミンの低値がみられた。

尿検査、剖検及び器官重量測定において GSK1120212B に関連すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、雄の 0.038 mg/kg/日群において、軽微な骨髄過形成及び脾臓赤脾髄類洞内好中球数の増加がみられた。

雄の 0.075 mg/kg/日群 2 例では、休薬 10 日（試験 18 日）の検査では、最終投与翌日（試験 8 日）と比べて、赤血球系パラメータ、並びに血清トリグリセリド及びアルブミンの変化に悪化はみられなかったが、網状赤血球数の更なる減少（2 例）、並びに新たに血清 ALT 及び GLDH の増加（1 例）が認められた。また、休薬 14 日（試験 22 日）の病理組織学的検査では、中等度の胸腺リンパ球減少がみられた。これらの変化の回復性は、以降の検査は未実施のため、不明であった。高用量群で観察されたこれらの変化を除き、上記所見はいずれも回復性又は回復傾向を示した。

以上のことから、無毒性量は雄で 0.025 mg/kg/日未満、雌で 0.025 mg/kg/日と推定された。最大耐量は、雄では 0.038 mg/kg/日以上の群で死亡がみられたが、雌では認められなかったことから、雌雄ともに 0.025 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.5.　　イヌ 13 週間経口投与試験

GSK1120212B（微粉化）の 0.0075、0.015 及び 0.03/0.023 mg/kg/日を各群雌雄各 4 匹のイヌに最長 13 週間経口投与した。対照群には、媒体を同様に投与した。また、低用量群を除く各群に各 2 匹を設けて、4 週間の休薬による回復性を検討した（CD2010/00179/00）。

本試験における高用量は、GSK1120212B（微粉化）のイヌ 3 週間経口投与試験（2.6.6.3.4.）において最大耐量は 0.025 mg/kg/日であったが、病理組織学的変化が認められなかったことから、最大耐量をやや上回る 0.03 mg/kg/日とした。

試験成績の概要を 2.6.7.7.5.に示した。AUC(0-t)及び Cmax は投与量増加に伴い増加し、明らかな性差は認められなかった。AUC(0-t)及び Cmax は投与 4 週まで顕著に増加したが（0.015 mg/kg/日群の雌雄の AUC は投与 1 日のそれぞれ 16.6 及び 31.9 倍）、以降の増加は認められなかった。

高用量群に対して 0.03 mg/kg/日で投与を開始したところ、重度の皮膚病変（皮膚の赤色化を伴う痂皮等）、体重減少、摂餌量低値、異常便（軟／液状便、糞量減少）等の胃腸管への影響が観察されたことから、試験 11 又は 12 日以降の投与を中止した。雄 1 例では、これらの症状に加えて、虚脱、脱水、直腸温上昇（40°C）等の著しい一般状態悪化がみられことから、獣医師による支持療法を施したが、回復しなかったため、試験 14 日（投与中止後 2 日）に切迫屠殺した。死因は、好中球浸潤を主体とした炎症を伴う消化管（舌、食道、胃）のびらん又は潰瘍と考えられる。更に、死亡例では、盲腸、結腸、下顎・腸間膜リンパ節、回腸付属リンパ組織又は脾臓における好中球浸潤又は好中球性炎症、胃腸管の炎症に関連すると考えられる好中球数及び単球数の増加（投与前値の約 4 倍）を伴う骨髄過形成、並びに胸腺及び回腸付属リンパ組織の萎縮もみられた。死亡例の最終投与 22 時間後の血漿中未変化体濃度は、同群の他の動物の約 2～4 倍であった。生存例については、休薬により一般状態がおおむね回復したため、試験 21 又は 22 日（10 日間休薬後）より 0.023 mg/kg/日に減量して 10 週間にわたる投与を再開した。

生存例では、0.03/0.023 mg/kg/日群で皮膚病変が減量後にもみられたが、約 1 週間後（試験 4 週）には消失した。GSK1120212B に関連すると考えられる体重及び摂餌量の変化は認められなかった。雌雄の 0.015 mg/kg/日以上の群で網状赤血球数の低値、雄の 0.0075 mg/kg/日以上の群及び雌の 0.03/0.023 mg/kg/日群で赤血球系パラメータの低値、雌雄のそれぞれ 0.015 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群でアルブミンの低値がみられた。しかしながら、いずれの所見も軽度で、関連する病理組織学的所見が認められなかったことから、悪影響ではないと考えられる。心電図検査、眼科学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査において、GSK1120212B に関連する変化は認められなかった。

上記の血液学・血液生化学的検査で観察された所見は 4 週間の休薬により回復した。

以上より、本試験における無毒性量は雌雄ともに 0.023 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.4.　遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.　細菌を用いる復帰突然変異試験

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*/pKM101）を用い、プレート法により代謝活性化（S9-mix）の有無において、GSK1120212B（未微粉化）の遺伝子突然変異誘性を検討した。試験は 2 回実施し、媒体には DMSO を使用した。最高用量は被験物質の析出が認められた用量（1 回目の試験の S9-mix 非存在下で 2500 µg/plate であったことを除き 1500 µg/plate）とした（WD2007/00304/00）。

試験成績を 2.6.7.8.1.に示した。いずれの菌株においても、S9-mix の有無にかかわらず、細胞毒性及び復帰突然変異体発現頻度の増加はみられず、GSK1120212B に遺伝子突然変異誘性は認められなかった。

2.6.6.4.2.　マウスリンフォーマ TK 試験

培養マウスリンパ腫細胞（L5178Y $TK^{+/-}$）を用いて、GSK1120212B（未微粉化）の突然変異誘発性を検討した。予備試験では、S9-mix 非存在下 3 及び 24 時間処理のそれぞれ 30 及び 60 µg/mL、並びに S9-mix 存在下 24 時間処理の 120 µg/mL で細胞毒性がみられた。このことから、最高用量は S9-mix 非存在下 3 及び 24 時間処理で 80 µg/mL、S9-mix 存在下 3 時間処理で 280 µg/mL とした。しかしながら、S9-mix 非存在下 3 及び 24 時間処理のそれぞれ 60 及び 45 µg/mL で細胞毒性（相対増殖率は 20%以下）、S9-mix 存在下 3 時間処理の 150 µg/mL で被検物質の析出が認められた。したがって、本試験における評価は、これらの用量までの処理群を対象に実施した。媒体には DMSO を使用した（WD2007/00303/00）。

試験成績を 2.6.7.8.2.に示した。いずれの条件下においても、S9-mix の有無にかかわらず、突然変異体発現頻度の増加はみられず、GSK1120212B に突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.3.　ラット小核試験

GSK1120212B（微粉化）の 1 及び 2 mg/kg/日を各群 7 匹の雄ラットに 24 時間間隔で 2 回経口投与し、最終投与 24 時間後に大腿骨骨髄塗抹標本を作製し、GSK1120212B の小核誘発性を検討した。対照群には媒体（5% w/v マンニトール／0.2% w/v SLS 含有 1.5% w/v HPMC）を同様に投与した。また、各群雄 3 匹を追加し、単回投与 4 時間後の血漿中未変化体濃度を測定した（WD2007/01240/01）。

本試験の高用量は雌雄ラットを用いた予備試験の結果に基づき設定した。すなわち、1.5 mg/kg/日以上の群で軟／液状便、3 mg/kg/日群では死亡がみられたが、毒性に性差が認められなかったこと、雄を用いた追加検討において 2.5 mg/kg/日群で死亡がみられたことから、本試験では雄のみを用い、高用量は 2 mg/kg/日とした。

試験成績を 2.6.7.9.1.に示した。いずれの投薬群においても、立毛、活動性低下、体重減少等の一般状態の悪化が確認されたが、小核を有する多染性赤血球及び全赤血球に対する多染性赤血球の比率に変化はみられず、GSK1120212B に小核誘発性は認められなかった。

なお、初回投与 4 時間後の血漿中未変化体濃度測定により、GSK1120212B の全身曝露が確認された。

2.6.6.4.4.　　製造工程における遺伝毒性不純物の評価

GSK1120212B の製造工程に使用する出発物質、出発物質に混在する類縁物質、試薬、中間体及び製造工程で生成するすべての類縁物質について、in silico スクリーニングソフトウェア（Derek v13、Lhasa Ltd 社）を用いて検討した結果、3 つの類縁物質（出発物質：化合物A* 、出発物質に混在する類縁物質：不純物A* 及び 不純物B* ）においてアラート構造が検出された。

化合物A* 及び 不純物A* については、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性であることが報告されている[Zeiger, 1988]。一方、不純物B* については、細菌を用いた復帰突然変異試験で陰性であったが[2011N123720]、化合物A* 及び 不純物B* に変換される可能性が示唆されている（2.3.S.2.6.4.2.1.）。

これらのことから、化合物A* 、不純物A* 及び不純物B* については、潜在的遺伝毒性物質として取り扱うべきと判断した。

化合物A* は出発原料であり、不純物A* 及び 不純物B* は化合物A* のロットに確認される類縁物質（化合物A* の規格でそれぞれ 0.10 面積%以下及び 1.0 面積%以下に管理）である（2.3.S.2.3.2.及び 2.3.S.2.6.4.1.5.1.）。市販予定の製造方法で連続して製造した GSK1120212B（粗結晶）又は未微粉化品計 9 ロットに混在する化合物A* は 10 ppm 以下であった（2.3.S.4.5.）。化合物A* 、不純物A* 及び 不純物B* を製造工程 Step6 でそれぞれ 0.5%添加して得られた GSK1120212B（粗結晶）中の混在量を測定した結果、いずれも 75 ppm 以下であった（2.3.S.2.6.4.2.2.及び 2.3.S.4.5.）。この結果から、個々の物質の混在量が最大となる場合を想定すると、これらの物質の総量は 225 ppm と推定される。しかしながら、この値は GSK1120212B（臨床用量：2mg/日）における個々の遺伝毒性不純物に対する毒性学的懸念の閾値（750 ppm/日; ICH M7 Step4（2014）に従い算出）の約 1/3 であった。

以上のことから、潜在的遺伝毒性物質として取り扱うべきと判断した化合物A* 、不純物A* 及び 不純物B* については、適切に管理されていると考え、原薬の規格には設定する必要はないと判断した。

2.6.6.5.　　がん原性試験

該当する試験なし。

2.6.6.6.　　生殖発生毒性試験

ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験を実施した。媒体には、5% w/v マンニトール／0.2% w/v SLS 含有 1.5% w/v HPMC 溶液を使用した。

2.6.6.6.1.　　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験なし。

2.6.6.6.2.　　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1.　　ラット

本試験は 2 回に分けて実施した。最初の試験では、媒体並びに GSK1120212B（微粉化）の 0.062/0.016、0.094/0.031 及び 0.125/0.062 mg/kg/日（初回/2 回目以降の投与量）を各群 21～22 匹のラットの妊娠 6～17 日（妊娠 0 日：交尾確認日）に経口投与した。2 回目の試験では、媒体及び GSK1120212B（微粉化）の 0.375/0.125 mg/kg/日（初回/2 回目以降の投与量）を各群 4 匹に同様に投与した。両試験とも妊娠 21 日に帝王切開して胎児検査を実施した。また、全投薬群に各 3 匹の非妊娠雌ラットを設けて、トキシコキネティクスを評価した（2010N109544_02）。

最初の試験の高用量は、GSK1120212B（微粉化）の 3 週間経口投与試験（2.6.6.3.2.）の 0.625 mg/kg/日以上の群で皮膚病変等の影響及び 0.125 mg/kg/日群で死亡、並びに 2 週間経口投与試験（CD2006/01117/00）の 0.1 mg/kg/日群で体重及び摂餌量の低値がみられたことから、0.062 mg/kg/日とした。2 回目の試験の投与量は、最初の試験の 0.062 mg/kg/日群で観察された母動物毒性が軽微であったことから、0.125 mg/kg/日とした。また、GSK1120212B は反復投与により曝露量が増加し、その後定常状態に達することから、投与初日より各用量（2 回目以降）の定常状態と同程度の曝露量が得られるように、初回用量を設定した。

試験成績を 2.6.7.13.1.に示した。0.125/0.062 及び 0.375/0.125 mg/kg/日群の投与 1 日の AUC(0-t)はそれぞれ 149 及び 684 ng.hr/mL、投与 4 日の投与前の血漿中未変化体濃度（2010N109544_02）はそれぞれ 4.48～5.54 及び 8.25～10.2 ng/mL であり、用量設定根拠とした 3 週間経口投与試験（CD2007/00984/00）の 0.0625 及び 0.125 mg/kg/日群の投与 21 日の AUC(0-t)（それぞれ 211 及び 460 ng.hr/mL）及び同日投与前の血漿中未変化体濃度（それぞれ 4.47～7.07 及び 7.63～11.7 ng/mL）と同程度の値を示した。このことから、初回投与時から目標曝露量に達していたことが確認された。

0.125/0.062 mg/kg/日以上の群では痂皮がみられた。全投薬群の妊娠 6～9 日及び 0.375/0.125 mg/kg/日群の妊娠 12～15 日に体重増加量の低値、並びに 0.375/0.125 mg/kg/日群の妊娠 6～9 日に摂餌量の低値がみられたが、以降、体重増加量は増加に転じ、対照群との明らかな差は認められなかった。剖検所見に GSK1120212B に関連した変化は認められなかった。

0.094/0.031 mg/kg/日以上の群では胎児体重の低値、0.375/0.125 mg/kg/日群では着床後死亡率の高値傾向がみられた。生存胎児数、性比及び胎児検査（外形・内臓・骨格）において、GSK1120212B に関連した変化は認められなかった。

以上のことから、母動物に関する無毒性量は 0.094/0.031 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 0.062/0.016 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.6.2.2.　　ウサギ

GSK1120212B（微粉化）の 0.077/0.0385、0.154/0.077 及び 0.308/0.154 mg/kg/日（初回/2 回目以降の投与量）を各群 21～22 匹のウサギの妊娠 7～19 日（妊娠 0 日：交尾確認日）に経口投与した。対照群には、媒体を同様に投与した。妊娠 29 日に帝王切開して胎児検査を実施した（2011N124059_00）。

高用量は、GSK1120212B（微粉化）を用いた妊娠ウサギの用量設定試験において、0.616/0.308 mg/kg/日群では死亡がみられ、0.308/0.154 mg/kg/日群では母動物及び胎児体重の低値がみられた（2011N117363_01）ことから、0.308/0.154 mg/kg/日とした。なお、ラットと同様に、投与初日より反復投与時の定常状態と同程度の曝露量が得られる用量を初回用量とした。

試験成績を 2.6.7.13.2.に示した。妊娠 11 日の AUC(0-t)及び Cmax は投与量増加に伴い増加した。

0.154/0.077 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 13 日の投与 10 分後に死亡した。剖検前に鼻口部で泡沫がみられたことから、死因は誤投与と考えられる。0.308/0.154 mg/kg/日群では、1 例で妊娠 15 日以降に体重減少がみられ、妊娠 18 日に流産（ケージトレーに胎盤）が認められた。

全投薬群で投与期間終了後の妊娠 20 日以降に用量依存的な体重増加量の低値がみられたが、摂餌量の変化は認められなかった。一方、投与期間中には、投薬群（主に 0.077/0.0385 mg/kg/日）で体重増加量の高値がみられたが、用量依存性のない変化であったことから、GSK1120212B に関連した変化ではないと考えられる。

生存胎児数及び性比に変化は認められなかったが、全投薬群で胎児体重の低値がみられた。骨格変異として 0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で中手骨、頭頂骨、舌骨及び胸骨分節の不完全骨化、0.154/0.077 mg/kg/日以上の群で趾骨及び前頭骨不完全骨化並びに距骨未骨化、0.308/0.154 mg/kg/日群で尾椎弓・椎体及び頭頂間骨の不完全骨化、趾骨未骨化並びに鼻骨形態異常の発現頻度の高値がみられた。また、骨格奇形として 0.154/0.077 mg/kg/日以上の群で恥骨未骨化、0.308/0.154 mg/kg/日群で肩甲骨湾曲及び顕著な大泉門開大の発現頻度の高値がみられた。これらの骨格異常の発現頻度の増加については、同時に観察された胎児体重の低値との関連性が認められたことから、胎児の成長抑制に伴い生じる骨化遅延[Cappon, 2005]に関連した変化と考えられる。外形及び内臓検査において GSK1120212B に関連した変化は認められなかった。

以上のことから、母動物及び胚・胎児発生に関する無毒性量は 0.077/0.0385 mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.6.3.　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

該当する試験なし。

2.6.6.7.　局所刺激性試験

該当する試験なし。

2.6.6.8.　その他の毒性試験

2.6.6.8.1.　心毒性に関する検討

GSK1120212B の臨床試験（2.5.5.2.2.4.）において左室駆出率の低下が観察されたことから、本所見のメカニズムを検討するために、初代培養ラット心筋細胞を用いた in vitro 試験及びマウスの心臓に及ぼす影響を評価する in vivo 試験を実施した。マウス及び初代培養ラット

心筋細胞は MAPK シグナル伝達経路を介した心臓に対する影響評価に利用されている[Kehat, 2011]こと、また、GSK1120212B の反復投与においてマウスはラットに比べ高い曝露量で忍容性を示したことから、これらの評価系を用いた。

2.6.6.8.1.1.　　初代培養ラット心筋細胞を用いた検討

初代培養ラット心筋細胞に媒体（0.5% DMSO）並びに GSK1120212B（微粉化）の 0.05 及び 0.5 μM を約 18 時間処理して細胞生存性（細胞内 ATP 含量）及びミトコンドリア機能（酸素消費及び細胞外酸性化速度）を評価した（2012N135966_00）。

低用量及び高用量は、それぞれ外国人に 1 日 1 回 2 mg を反復投与したときの Cmax（0.036 μM）及び後述のマウスの心エコー検査で左室機能低下がみられた 0.5 mg/kg/日群の Cmax（0.532 μM; 2.6.6.8.1.2.）とほぼ同じ濃度とした。なお、これらの用量は、日本人患者（1 日 1 回 2 mg を 15 日間投与）の Cmax（25.5 ng/mL ＝ 0.041 μM; 2.7.2.2.1.2.2.3.）と比べて、それぞれ同程度及び約 13 倍であった。

試験成績の概略を 2.6.7.17.1.に示した。いずれの指標においても GSK1120212B による影響は認められなかった。

2.6.6.8.1.2.　　マウスを用いた検討

GSK1120212B（微粉化）の 0.25 及び 0.5 mg/kg/日を各群 15 匹の雄マウスに 21 日間経口投与した。対照群には、媒体（5% w/v マンニトール／0.2% w/v SLS 含有 1.5% w/v HPMC）を同様に投与した。各群 10 匹を対象に心エコー検査並びに心臓及び肺重量測定を実施した。また、残りの各群 5 匹を対象に剖検及び病理組織学的検査を実施した。更に、各群雄 15 匹を設けて、トキシコキネティクスを評価した（2011N128277_00）。

ヌードマウスを用いた検討において、0.6 mg/kg/日の 2 週間経口投与で体重減少がみられた（2011N121723_00）が、0.3 mg/kg/日の 80 日間投与において忍容性が認められた（UH2008/00051/02）ことから、高用量は 0.5 mg/kg/日とした。

試験成績を 2.6.7.17.1.に示した。AUC(0-t)及び Cmax は投与量増加に伴い増加した。

全投薬群で左室機能（心拍出量、1 回拍出量、駆出率、左室内腔面積変化率及び左室内径短縮率）の用量依存的な低下がみられたが、0.25 mg/kg/日群のドブタミン負荷時の反応性（収縮予備能）に対照群との差はみられず、0.5 mg/kg/日群では対照群と比べわずかに増強が認められ、いずれの投薬群でも心収縮予備能は保持されていることが確認された。

全投薬群で心拍数及び心重量の低値がみられたが、剖検及び病理組織学的検査において GSK1120212B に関連すると考えられる変化は認められなかった。

2.6.6.8.2.　　in vitro 光毒性試験

GSK1120212B の吸収極大波長が 249、316 及び 336 nm であること（2.3.S.3.1.2.）から、3T3 ニュートラルレッド取り込み（NRU）光毒性試験によって、GSK1120212B の光毒性を評価した。

2.6.6.8.2.1.　　3T3 NRU 光毒性試験

GSK1120212B（微粉化）を 1 時間処理した Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞（Clone A31）に UV-A（5 J/cm^2）を照射した。UV-A 照射約 20 時間後、NRU を指標として細胞生存率を求め、用量反応性から IC50 を求めた。また、UV-A 非照射群を設け、同様に評価した。本試験では、推奨最高濃度である 100 µg/mL を最高濃度として 8 段階の濃度（公比 2.5）で GSK1120212B を処理したが、薬物の析出が認められた 100 µg/mL 群を除く、0.1638～40 µg/mL 群を評価対象とした（2014N20563_00）。

試験結果を 2.6.7.17.2.に示した。GSK1120212B 処理群では、媒体対照群に比べて、UV 照射の 6.4～40 µg/mL 群及び UV 非照射の 40 µg/mL 群で NRU の低値がみられた。GSK1120212B 処理群の UV 非照射時及び照射時の IC50（それぞれ 18.98 及び 2.92 µg/mL）より算出した PIF（UV 非照射時と UV 照射時の IC50 の比）は 6.5 であり、陽性基準（PIF > 5）を上回った。

以上より、GSK1120212B は光毒性を有する可能性が示唆された。

2.6.6.8.3.　　GSK1120212B 及び GSK2118436B のイヌ 4 週間併用経口投与試験

GSK1120212B（微粉化）/GSK2118436B の 0.0075/5 及び 0.0225/20 mg/kg/日を各群雌雄各 3 匹のイヌに 4 週間併用経口投与した。GSK1120212B は媒体（5% w/v マンニトール／0.2% w/v SLS 含有 1.5% w/v HPMC 溶液）に懸濁して 1 日 1 回、GSK2118436B はゼラチンカプセルに充てんして 1 日 2 回（8 時間間隔）投与した。対照群には、媒体及び空カプセルを同様に投与した（2011N112335_00）。

GSK1120212B（微粉化）の 13 週間経口投与試験では、0.030 mg/kg/日で投与開始約 2 週間後に死亡（切迫屠殺を含む）がみられたため、その 1 週間後に 0.023 mg/kg/日に減量して投与を再開したところ、毒性学的に意義のある所見はみられなかったが、血液学・血液生化学的検査において GSK1120212B によると考えられる軽微な変化が認められた（2.6.6.3.5.）。一方、GSK2118436B の 13 週間経口投与試験［5、20 及び 60/100（雄/雌） mg/kg/日］では、雌雄のそれぞれ 100 及び 60 mg/kg/日群で死亡、20 mg/kg/日群では皮膚病変、心臓（線維血管性組織増生）、肺（気管支肺胞の炎症）、精巣、精巣上体等に病理組織学的変化がみられた（タフィンラーCTD 2.6.6.3.3.2.）。これらのことから、GSK1120212B 及び GSK2118436B のそれぞれ 0.0225 及び 20 mg/kg/日を本試験の高用量とした。

試験成績を 2.6.7.17.2.に示した。GSK1120212B 及び GSK2118436B の AUC(0-t)及び Cmax はともに投与量増加に伴い増加し、明らかな性差はみられなかった。投与 1 日と比べて投与 28 日の AUC(0-t)及び Cmax は、GSK1120212B では顕著に増加（概して 5～11 倍）したが、GSK2118436B では同程度であった。

0.0225/20 mg/kg/日群の雄 1 例が暗赤色／黒色の液状便、摂餌量及び体重減少、発熱等の一般状態の悪化を呈したため、本例を投与 11 日に切迫屠殺した。病理組織学的検査の結果、貫壁性・血管周囲性の好中球性・組織球性炎症を伴う右冠動脈外膜変性／壊死、結腸及び直腸粘膜の好中球性炎症、並びに胸腺リンパ球減少がみられた。

全投薬群において、食欲不振、異常便（暗赤／黒色／軟／液状便）及び嘔吐／嘔気、0.0225/20 mg/kg/日群の雄 1 例で皮膚赤色化（鼻口部）及び痂皮（耳介）がみられた。また、

雌の 0.0075/5 mg/kg/日群及び雌雄の 0.0225/20 mg/kg/日群で軽度な体重減少がみられた。体重減少が明らかであった 0.0075/5 mg/kg/日群の雌 1 例及び 0.0225/20 mg/kg/日群の雌全例に対し、投与 12 又は 15 日以降に支持療法として補助食品を与えた結果、投与期間終了時にはこれらの投薬群の体重は対照群と同程度までに回復した。

血液学・血液生化学的検査では、雌の 0.0225/20 mg/kg/日群で白血球数、好中球数及び単球数の高値、血清 ALP の高値及び血清アルブミンの低値がみられた。眼科学的検査、心電図検査及び尿検査で薬物に関連すると考えられる変化は認められなかった。

剖検で薬物に関連する変化は認められなかった。器官重量測定では、雌の 0.0075/5 mg/kg/日以上の群及び雄の 0.0225/20 mg/kg/日群（1 例）で胸腺の絶対・相対重量の低値がみられた。

病理組織学的検査では、胃幽門部粘膜上皮において 0.0075/5 mg/kg/日以上の群で軽微な肉芽腫性炎症［ときに好酸球浸潤を伴い、0.0225/20 mg/kg/日群では多核巨細胞内異物（非複屈折性結晶物質）蓄積］、腸間膜リンパ節では 0.0075/5 mg/kg/日以上の群で軽微な組織球症及び組織球内異物蓄積、胸腺では 0.0075/5 mg/kg/日以上の群で軽度～中等度のリンパ球減少、精巣では 0.0075/5 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の精巣上皮変性、精巣上体では 0.0225/20 mg/kg/日群で軽度な精子数減少及び管腔内変性精巣胚細胞がみられた。

2.6.6.9.　考察及び結論

GSK1120212B のイヌの急性毒性試験（単回漸増経口投与試験）、マウス、ラット及びイヌを用いたそれぞれ最長 26、13 及び 13 週間反復経口投与試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、心臓への影響に関する検討、in vitro 光毒性試験、並びにイヌを用いた BRAF 阻害薬である GSK2118436B（臨床使用時の併用薬）との併用投与試験を実施した。なお、ラットの急性毒性は短期反復投与毒性試験により評価した。

2.6.6.9.1.　急性毒性

GSK1120212B（3 mg/kg/日まで）をラット及びイヌにそれぞれ最長 2 週間及び単回（漸増）経口投与した。ラットでは、1 mg/kg/日以上の群で投与 5 日以降に浸出性皮膚病変、体重減少、摂餌量低値等がみられ、2 mg/kg/日以上の群では、半数以上が瀕死状態を呈したため、全例を試験 6 日に切迫屠殺した。また、未微粉化原薬よりも曝露量が高い微粉化原薬（2.6.6.3.2.）を投与したラット骨髄小核試験では（2.6.6.4.3.）、1.5 mg/kg/日以上の群で軟／液状便、立毛又は活動性低下、雌雄のそれぞれ 0.5 及び 1 mg/kg/日以上の群で体重減少がみられ、最終投与翌日（試験 3 日）に雄の 2.5 mg/kg/日以上の群及び雌の 3 mg/kg/日群に死亡がみられた。イヌでは、3 mg/kg/日群で軟／液状便、体重減少等がみられ、雌雄をそれぞれ投与後 5 及び 1 日に切迫屠殺した。単回経口投与時の概略の致死量は、雌雄のラットでそれぞれ 3 及び 2.5 mg/kg/日、雌雄イヌでは 0.5～3 mg/kg/日であった。

2.6.6.9.2.　反復投与毒性

GSK1120212B をマウス（最長 26 週間）、ラット（最長 13 週間）及びイヌ（最長 13 週間）に経口投与して反復投与毒性を評価した。これらの動物の投与期間が 3 ヵ月間以上の試験で観察された主要所見は、死亡並びに皮膚、乳腺、消化管、リン恒常性、造血器、肝臓、

骨及び雌生殖器（卵巣）に対する悪影響であった（表 2.6.6-2）。以下に反復投与試験で観察された毒性所見について考察する。

表 2.6.6-2　　反復投与試験で観察された主要所見

動物種	マウス [a]		ラット [a]		イヌ [a]	
投与量 (mg/kg/日)	♂0.1～1.0; ♀0.1～1.0/0.6		0.016～3		0.0075～0.5	
	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL	LOEL	NOEL
死亡						
皮膚/消化管障害	0.3	0.1	0.0625	0.031	0.030	0.023
皮膚/乳腺						
表皮肥厚, 潰瘍, 浸出性炎症	0.1	ND	0.031	0.016	0.030[c]	0.023
乳腺腺房上皮細胞壊死	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	NO	NA
消化管						
異常便, 嘔吐	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	0.030	0.023
びらん, 潰瘍	0.1	ND	0.031	0.016	0.030	0.023
結腸穿孔	0.3	0.1	NO	NA	NO	NA
リン恒常性						
血清リン高値	NO	NA	0.016	ND	0.25[b]	0.125[b]
鉱質沈着 (軟部組織)	NO	NA	0.016	ND	NO	NA
造血器						
リンパ節/胸腺リンパ球減少	NO	NA	NO	NA	0.075	0.038
リンパ節/脾臓リンパ球壊死	0.1	ND	NO	NA	0.25[b]	0.125[b]
骨髄：赤血球系前駆細胞減少	NO	NA	NO	NA	0.125[b]	0.075
骨髄造血細胞壊死	1.0	0.3	0.0625	0.031	NO	NA
リンパ球数低値	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	0.25[b]	0.125[b]
赤血球系パラメータ低値	NO	NA	0.0625	0.031	0.0075	ND
網状赤血球数低値	NO	NA	0.016	ND	0.015	0.0075
骨髄過形成	0.1	ND	0.031	0.016	0.03	0.023
リンパ節： 形質細胞/リンパ形質細胞増加	0.1	ND	0.031	0.016	NO	NA
脾臓赤脾髄類洞内好中球数	NO	NA	NO	NA	0.038	0.025
脾臓髄外造血	0.1	ND	0.031	0.016	NO	NA
肝臓						
肝細胞壊死	1.0	0.3	0.0625	0.031	NO	NA
肝細胞空胞化	NO	NA	0.016	ND	NO	NA
髄外造血/類洞内好中球増加	0.1	ND	NO	NA	NO	NA
骨						
骨端板肥厚	NO	NA	0.125	0.0625	NO	NA
軟骨下骨梗塞	NO	NA	1.0[b]	0.3[b]	NO	NA
卵巣						
卵巣卵胞嚢胞, 黄体数減少	NO	NA	0.016	ND	NO	NA

a=　特記しない限り、GSK1120212B (微粉化最終原薬) を用いたマウス 26 週間経口投与試験 (2.6.6.3.1.)、ラット 3 及び 13 週間経口投与試験 (2.6.6.3.2.及び 2.6.6.3.3.)、並びにイヌ 3 及び 13 週間経口投与試験 (2.6.6.3.4. 及び 2.6.6.3.5.) の結果に基づく評価.

b =　GSK1120212B (未微粉化) のラット 2 週間経口投与試験又はイヌ 10 日間経口投与試験 (2.6.7.6.) で観察された所見.

c =　イヌ 13 週間経口投与試験の一般状態変化として観察された重度皮膚病変 (痂皮等) に基づく評価.

LOEL = 最小影響量 (mg/kg/日).　NOEL = 無影響量 (mg/kg/日).

ND = 推定できず.　NO = 観察されず.　NA = 該当せず.

2.6.6.9.2.1.　　死亡

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.3、0.0625 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で GSK1120212B に関連する死亡（切迫屠殺を含む）がみられた。主な死因は、重度の皮膚／消化管障害（びらん、潰瘍等）による一般状態の悪化によるものと考えられる。いずれの動物種においても、死亡例の病理組織学的変化は生存例と類似していた。

2.6.6.9.2.2.　　上皮（皮膚／乳腺）への影響

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で用量依存的な皮膚病変がみられた。その程度はラットで最も顕著であり、痂皮、赤色化、表皮肥厚、びらん及び潰瘍がみられ、重症例では、付属リンパ節（下顎、頸部又は腋窩）の細胞密度増加（リンパ形質細胞）及び骨髄過形成を伴っていた。マウスでは潰瘍、イヌでは赤色化、痂皮等がみられた。また、ラット 2 週間投与試験の致死量に相当する 1.0 mg/kg/日以上の群では、乳腺腺房上皮細胞壊死もみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）でも、ラットに皮膚の赤色発疹、びらん、潰瘍等の類似所見が観察されている[CD2008/00267/00]。また、MEK1/2 欠損マウスでは、皮膚増殖抑制、アポトーシス及び皮膚バリア障害が発現することが報告されている[Scholl, 2007]。これらのことから、GSK1120212B の皮膚障害は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

なお、GSK1120212B（2.5.5.2.2.2.）を含む MEK 阻害薬[Balagula, 2011;Haura, 2010]を投与した患者では、発疹が高頻度に発現している。

2.6.6.9.2.3.　　消化管への影響

マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で用量依存的な消化管障害がみられた。その程度はイヌで最も顕著であり、軟／粘液／液状便、糞量減少等の症状に加え、体重減少及び摂餌量の低値がみられた。病理組織学的検査では、消化管（舌、食道、胃、小腸又は大腸）のびらん及び好中球浸潤を主体とする炎症がみられた。マウスでは、腹部膨満、結腸のびらん、潰瘍及び炎症、並びに結腸穿孔による腹膜炎、ラットでは、胃のびらん、炎症及び過形成がみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）でもラットで盲腸のびらん、潰瘍及び過形成並びに胃粘膜過形成が観察されている[CD2008/00267/00]。このことから、GSK1120212B の消化管障害は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

なお、臨床試験において、GSK1120212B に関連すると考えられる下痢、悪心、嘔吐及び便秘が高頻度に観察されている（2.7.4.2.1.1.2.）。

2.6.6.9.2.4.　　リン恒常性への影響

ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群において、血清リン恒常性の異常を示唆する血清リン高値及び胃鉱質沈着が用量依存的にみられた。鉱質沈着は 2 週間投与試験の致死量に相当する 1 mg/kg/日（未微粉化）以上の群でも複数の器官（胃、腎臓、心筋又は大動脈）にみられた。また、本所見は腎尿細管変性及び心筋壊死を伴っていた。いずれの所見もマウス及びイヌの

3 週間以上の投与試験では観察されなかったが、血清リン高値はイヌ 10 日間投与試験の 0.25 mg/kg/日（未微粉化）以上の群でもみられた。

MEK 阻害薬（PD325901）及び MEK1/2 シグナル伝達系の上流に位置する FGFR チロシンキナーゼの阻害薬である PD176067 を投与したラットでも、血清リン高値及び複数の器官における鉱質沈着が観察されている[CD2008/00267/00; Brown, 2005]。また、X 連鎖性低リン血症性マウスを用いた検討では、循環血中 FGF-23 上昇に伴い活性化した MEK/ERK1/2 シグナル伝達系を MEK 阻害薬（PD325901）で阻害することにより、近位尿細管リン酸輸送担体 Npt2a 発現量及び血清リンの増加がみられる[Ranch, 2011]。これらのことから、GSK1120212B のリン恒常性の異常は、標的分子である MEK の阻害により、FGF シグナル伝達経路が遮断されることに起因すると考えられる。

なお、臨床試験において問題となるような血清リン上昇は認められていない（2.5.5.2.2.3.）。

2.6.6.9.2.5.　　造血器への影響

マウス及びイヌのそれぞれ 0.1 及び 0.075 mg/kg/日以上の群で脾臓リンパ球壊死及びリンパ節のリンパ球減少／壊死がみられたが、ラットでこれらの所見は認められなかった。また、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 1.0、0.0625 及び 0.125 mg/kg/日以上の群で骨髄細胞壊死／赤血球前駆細胞減少、更にラット及びイヌのそれぞれ 0.016 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群では赤血球数及び網状赤血球数の低値がみられた。更に、最長 2 週間の試験において、ラット及びイヌのそれぞれ 1.0 及び 0.25 mg/kg/日以上の群でリンパ球数の低値もみられた。類薬の MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、骨髄細胞壊死、脾臓リンパ球壊死、赤血球系パラメータの低値等の類似所見が観察されている[CD2008/00267/00]。これらのことから、GSK1120212B によるリンパ系器官及び造血系に対する影響は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

一方、これらの所見とは対照的に、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.03 mg/kg/日以上の群で骨髄過形成、ラットの 0.031 mg/kg/日以上の群で脾臓髄外造血、マウス及びラットのそれぞれ 0.1 及び 0.031 mg/kg/日以上の群でリンパ節における形質細胞／リンパ形質細胞増加、イヌの 0.038 mg/kg/日以上の群では脾臓赤脾髄類洞内の好中球数増加がみられた。また、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.016 及び 0.030 mg/kg/日以上の群で白血球数、好中球数又は血小板数の高値もみられた。これらの所見は、マウス、ラット及びイヌのそれぞれ 0.1、0.031 及び 0.0075 mg/kg/日以上の群で観察された赤血球系パラメータの低値、又は皮膚／消化管のびらん、潰瘍もしくは炎症（2.6.6.9.2.2.及び 2.6.6.9.2.3.）に関連した反応と考えられる。同様に、MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、赤血球パラメータの低値、並びに皮膚潰瘍及び炎症に関連した反応と考えられる血小板数及び好中球数の高値が観察されている[CD2008/00267/00]。

なお、臨床試験において一部の被験者で貧血がみられたが、その大半がグレード 1 又は 2 であった（2.5.5.2.2.2.）。

2.6.6.9.2.6.　　肝臓への影響

マウスの 1.0 mg/kg/日群及びラットの 0.0625 mg/kg/日以上の群で肝細胞壊死、更にラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で肝細胞空胞化がみられた。また、ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で血清 AST 及び ALT の高値もみられた。MEK 阻害薬（PD325901）を投与したラットでも、血清 AST 及び ALT の高値を伴う肝細胞壊死が観察されている[CD2008/00267/00]。このことから、GSK1120212B の肝臓に対する影響は、標的分子である MEK の阻害によるものと考えられる。

一方、イヌではこれらの肝臓の病理組織学的変化は認められなかった。しかしながら、イヌ 3 週間投与試験では、胆汁うっ滞を示唆する所見として、0.038mg/kg/日以上の群で血清 ALP 及びコレステロールの高値、0.075 mg/kg/日群で血清総ビリルビン及びトリグリセリドの高値、同群の死亡例 1 例で胆管過形成及びビリルビン沈着がみられた。同試験では、0.038mg/kg/日以上の群で白血球数、好中球数もしくは単球数の高値、同群の死亡例では広範な消化管障害（びらん）及び炎症、又は肝クッパー細胞活性化が認められた。また、炎症反応によって胆汁うっ滞が発現することが知られている[Kosters, 2010]。これらのことから、イヌでみられた胆汁うっ滞を示唆する所見は、同時に観察された消化管障害に伴う炎症に関連した変化と考えられる。

なお、臨床試験において、AST 増加及び ALT 増加が高頻度にみられたが、その多くはグレード 1 又は 2 であり（2.5.5.2.2.2.及び 2.5.5.2.2.3.）、黄疸及び肝機能不全の有害事象の発現は稀であった（2.7.4.2.1.5.12.）。GSK1120212B の単独投与の海外 3 試験併合解析において Hy's law（薬物性肝障害に対する概念）に該当する事象の発現は認められていない（2.7.4.3.2.3.）。

2.6.6.9.2.7.　　骨への影響

ラットの 0.125 mg/kg/日群において骨端板肥厚がみられた。また、ラット 2 週間投与試験の致死量に相当する 1.0 mg/kg/日以上の群では軟骨下骨梗塞もみられた。骨端板肥厚は、MEK 阻害薬（PD325901）[CD2008/00267/00]及び FGFR チロシンキナーゼ阻害薬 PD176067[Brown, 2005]を投与したラット、並びに FGFR-3 欠損マウス[Deng , 1996]においても観察されている。このことから、骨端板肥厚は、標的分子である MEK の阻害により、FGF シグナル伝達経路が遮断されることに起因すると考えられる。

骨に対する影響はマウス及びイヌでは認められなかった。マウス及びイヌの骨端はそれぞれ生後 5 及び 11 ヵ月までに閉鎖するが、ラットでは生後 29 ヵ月においても閉鎖は認められない[Kilborn, 2002]。イヌの反復投与試験における投与開始時の月齢は、閉鎖後の生後 11～21 ヵ月であった。一方、マウス及びラットの反復投与試験における投与開始時の週齢は、閉鎖前の生後 6 及び 10～12 週であった。これらのことから、GSK1120212B の骨端板に対する影響は、成長過程の骨に発現するラットに特異的な所見と考えられる。

なお、臨床試験において問題となるような骨関連有害事象の発現は認められなかった（2.5.5.2.2.2.）。

2.6.6.9.2.8.　卵巣への影響

ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群において卵胞嚢胞増加及び黄体数減少がみられた。これらの所見はマウス及びイヌでは認められなかった。卵胞は、卵子、顆粒膜細胞及び莢膜細胞から構成されており、相互コミュニケーションにより、卵胞の発育・発達は制御されている。MEK-ERK シグナル伝達経路の阻害は、顆粒膜細胞の生存性低下／アポトーシス誘導[Shiota, 2003]、並びに卵胞刺激ホルモンの放出を抑制するフォリスタチン及び排卵を促す遺伝子の転写活性を低下させる可能性が示唆されている[Kihara, 2006; Sriraman, 2008]。また、多嚢胞性卵巣症候群の患者から採取した莢膜細胞では MEK-ERK シグナル伝達経路の抑制がみられる[Nelson-Degrave, 2005]。更に、MEK シグナル伝達系の上流に位置する VEGF は、卵胞形成、黄体形成及び黄体機能に重要な役割を果たす[Ferrara, 1998]。これらのことから、GSK1120212B の卵巣所見は標的分子である MEK の阻害に関連しているものと考えられる。

2.6.6.9.2.9.　回復性

回復群を設けたラット及びイヌの 3 及び 13 週間投与試験の結果を基に、これらの試験で観察された主要所見の回復性を検討した。ラット 13 週間投与試験の高用量群（回復群を含め投与期間中に全例切迫屠殺して試験を終了）及びイヌ 3 週間試験の高用量の回復群のみでそれぞれ観察された膝関節骨端板肥厚及び胸腺リンパ球減少については、死亡又は切迫屠殺したため、回復性を検討することができなかったが、致死量以上を投与した群で観察された所見であり、最大耐量（死亡／瀕死が発現しない最も高い用量）を投与した回復群では認められなかった。骨端板肥厚については、GSK1120212H（酢酸付加物：JTP-74057）のラット 2 週間経口投与試験でも 0.1 mg/kg/日以上の群でみられたが、回復性が認められた[CD2008/00267/00; CD2008/00141/00]。胸腺リンパ球減少については、ストレスによるグルココルチコイド上昇等でも発現するが、通常その要因を取り除くことにより回復する[Pearse, 2006]。各群で観察されたその他の所見は、おおむね回復性を示した。

以上のことから、ラット及びイヌを用いた 3 週間以上の反復投与試験で観察された主要所見は、休薬により回復傾向を示すと考えられる。

2.6.6.9.2.10.　無毒性量／最大耐量

各動物種を用いた最長の反復投与試験における無毒性量は、イヌ（13 週間）では 0.023 mg/kg/日と推定されたが、マウス（26 週間）及びラット（13 週間）では求められなかった。イヌの 0.023 mg/kg/日群における AUC は、臨床曝露量（日本人患者に 1 日 1 回 2 mg を 15 日間投与したときの AUC）の 0.4 倍であった（2.6.7.3.）。なお、マウス及び雌雄ラットの試験における最低用量はそれぞれ 0.1、0.016 及び 0.031 mg/kg/日であり、これらの用量における AUC は臨床曝露量のそれぞれ 1.2、0.3 及び 0.3 倍であった（2.6.7.3.）。

また、これらの試験の最大耐量は、マウスで 0.1 mg/kg/日、ラットで 0.031 mg/kg/日、イヌで 0.023 mg/kg/日と推定された。各用量の AUC（2.6.7.3.）は、臨床曝露量のそれぞれ 1.2、0.3 及び 0.4 倍であった（2.6.7.3.）。

2.6.6.9.3.　遺伝毒性

GSK1120212B の細菌を用いる試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びラット小核試験の結果はいずれも陰性であったことから、GSK1120212B は遺伝毒性を有していないと考えられる。

製造工程における遺伝毒性不純物の有無について評価した結果、化合物A* 、不純物A* 及び 不純物B* は潜在的遺伝毒性物質として取り扱うべきと考えられたが、その総量は毒性学的懸念の閾値（750 ppm/日; ICH M7 Step4（2014）に従い算出）未満で適切に管理されるため、原薬の規格に設定する必要はないと判断した。

2.6.6.9.4.　生殖発生毒性

2.6.6.9.4.1.　受胎能への影響

GSK1120212B の雌雄受胎能に関する試験は実施していないが、マウス、ラット及びイヌの反復投与試験における雌雄生殖器の病理組織学的検査の結果を基に評価した。マウス、ラット及びイヌの最長それぞれ 26、13 及び 13 週間投与試験において、雄生殖器に対する影響は観察されなかったことから、GSK1120212B は雄受胎能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。一方、雌生殖器については、マウス及びイヌで影響はみられなかったが、ラットの 0.016 mg/kg/日以上の群で GSK1120212B の標的分子である MEK の阻害によると考えられる卵胞嚢胞増加及び黄体数減少がみられた（2.6.6.9.2.8.）ことから、GSK1120212B は雌受胎能に悪影響を及ぼす可能性を有すると考えられる。

2.6.6.9.4.2.　胚・胎児発生への影響

ラットの胚・胎児発生に関する試験では、0.125/0.062 mg/kg/日（初回/2 回目以降の投与量）以上の群において母動物で痂皮、0.062/0.016 mg/kg/日（妊娠 6～9 日）及び 0.375/0.125 mg/kg/日群（妊娠 12～15 日）で母動物の体重増加量の低値、0.094/0.031 mg/kg/日以上の群で胎児体重の低値、0.375/0.125 mg/kg/日群で着床後死亡率の高値傾向がみられた。母動物に関する無毒性量は 0.094/0.031 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 0.062/0.016 mg/kg/日と推定された。これらの群の AUC は臨床曝露量のそれぞれ 0.3 及び 0.14 倍であった（2.6.7.3.）。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群で妊娠 20 日以降に母動物の体重増加量の低値、0.308/0.154 mg/kg/日群で流産（1 例）がみられた。また、0.077/0.0385 mg/kg/日以上の群では、中手骨、頭頂骨、舌骨不完全骨化等の骨格異常の発現頻度の増加がみられたが、同時に観察された胎児体重の低値との関連性が認められたことから、これらの所見は胎児の成長抑制に伴う骨化遅延[Cappon, 2005]によるものと考えられる。母動物及び胚・胎児発生に関する無毒性量はともに 0.077/0.0385 mg/kg/日未満と推定された。最低用量である 0.077/0.0385 mg/kg/日群の AUC は臨床曝露量の 0.09 倍であった（2.6.7.3.）。

MEK-ERK シグナル伝達経路は胚・胎児発生に重要な役割を果たしており、MEK1 及び ERK2 の欠損はそれぞれ胎盤及び胚体外組織の形成異常を引き起こし、いずれも妊娠初期～中期に胚・胎児死亡を誘発する[Bissonauth, 2006; Giroux, 1999; Hatano, 2003; Saba-El-Leil, 2003]。更に、MEK1 及び MEK2 の両遺伝子を皮膚特異的に欠損させると、皮膚の低形成に

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

伴う表皮バリア機能の破綻により、胎児の小型化及び死亡が認められる[Scholl, 2007]。実際に、GSK1120212B のラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験でも、着床後死亡率の増加及び胎児体重の低値が認められた。

以上のことから、GSK1120212B は胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性を有すると考えられる。

2.6.6.9.5.　その他の毒性

2.6.6.9.5.1.　心臓への影響

GSK1120212B の臨床試験において観察された左室駆出率低下のメカニズムを検討するために、初代培養ラット心筋細胞を用いた in vitro 試験及びマウスの心臓に及ぼす影響を評価する in vivo 試験を実施した。

初代培養ラット心筋細胞を用いた試験では、後述のマウスの試験において心機能に対する影響がみられた 0.5 mg/kg/日群の Cmax とほぼ同じ 0.5 μM［臨床曝露量（Cmax = 0.041 μM; 2.7.2.2.1.2.2.3.）の約 12 倍］までの濃度で、細胞生存性（細胞内 ATP 含量）及びミトコンドリア機能（酸素消費量及び細胞外酸性化速度）に及ぼす影響を検討した結果、これらのパラメータに影響は認められなかった。

マウスの心臓に及ぼす影響を検討した試験では、0.25 及び 0.5 mg/kg/日［定常状態での臨床曝露量（AUC; 2.6.7.3.）のそれぞれ 3 及び 7 倍（2.6.7.17.1.）］を 21 日間経口投与した結果、左室機能（心拍出量、1 回拍出量、駆出率、左室内腔面積変化率及び左室内径短縮率）の低下がみられたが、ドブタミン負荷試験の結果からいずれの群においても心収縮予備能は保持されていることが確認された。また、0.25 mg/kg/日以上の群では心拍数及び心重量の低値がみられたが、同試験並びに 0.3 mg/kg/日を 93 日間経口投与したマウス 26 週間投与試験（2012N150025_00）で心臓の病理組織学的変化は認められなかった。

これらのことから、臨床試験で観察された左室駆出率の低下は、GSK1120212B の心筋細胞に対する直接的な細胞毒性及びミトコンドリア障害によるものではないと考えられる。

2.6.6.9.5.2.　免疫系への影響

MAPK シグナル伝達経路の阻害によって免疫抑制が生じることが報告されている[Downey , 1998; O'Reilly, 2009; DeSilva, 1998]。前述したように、GSK1120212B でもリンパ節／脾臓のリンパ球減少／壊死等の免疫抑制を示唆する所見がみられた（2.6.6.9.2.5.）。しかしながら、これらの所見は概して致死量以上で観察されたものであり、最大耐量以下の用量では、皮膚及び胃腸障害によると考えられる反応性の白血球数の高値が確認された。このことから、GSK1120212B の臨床使用により重度の免疫抑制が発現する可能性は低いと考えられる。

なお、臨床試験では、臨床検査値異常として白血球数減少及びリンパ球数減少が一部の被験者で認められたが、これらのほとんどはグレード 1 又は 2 であった（2.7.4.3.2.）。

2.6.6.9.5.3.　　光毒性

GSK1120212B の吸収極大波長が 249、316 及び 336 nm であること（2.3.S.3.1.2.）から、3T3 NRU 光毒性試験を実施した結果、GSK1120212B は光毒性を有する可能性（PIF = 6.5）が示唆された。

GSK1120212B（標識体）を投与した有色ラットの組織内分布試験（2.6.5.5.1.）において、皮膚中及びブドウ膜中の薬物関連物質濃度は血液中濃度に比べて高い値を示した。しかしながら、これらの組織において薬物関連物質は投与 72 時間後には定量下限未満であり、メラニン含有組織へ特異的に結合しないと考えられる。有色ラットの組織内分布試験の結果から推定される皮膚中及びブドウ膜中の未変化体の濃度は、それぞれ血液中濃度の約 1.77 及び 2.80 倍であった。これらの値と臨床曝露量（Cmax = 25.5 ng/mL; 2.7.2.2.1.2.2.3.）を基に推定したヒトの皮膚中及びブドウ膜中の未変化体の最大濃度はそれぞれ 45.1 及び 71.4 ng/mL であり、これらの値と比べて in vitro 3T3 NRU 光毒性試験の IC50（2.92 µg/mL; UV 照射時）はそれぞれ約 65 及び 41 倍に相当した。

このように、組織中濃度と in vitro 光毒性試験の IC50 との間に約 41～65 倍の乖離があると推定されることから、「医薬品の光安全性評価ガイドライン」[薬食審査発 0521 第 1 号通知, 2014]で述べられているように、臨床使用において GSK1120212B が光毒性を発現する可能性は低いと考えられる。

なお、臨床試験において、GSK1120212B 単剤療法で認められた光線過敏性反応の発現率は化学療法と同程度であった（MEK114276 試験）。また、GSK2118436B と GSK1120212B の併用時に認められた光線過敏性反応の発現率は GSK2118436B 単剤療法と同程度であった（MEK115306 試験）ことから、本事象の発現に GSK1120212B が関与している可能性は低いと考えられた。これらのことからも、GSK1120212B が光線過敏性反応を発現するリスクは低いと考える。

2.6.6.9.5.4.　　GSK2118436B（BRAF 阻害薬）との併用投与による影響

臨床において GSK1120212B は BRAF 阻害薬である GSK2118436B と併用投与されることから、イヌを用いた 4 週間併用経口投与試験を実施して、併用投与による各薬物単独投与時の毒性に対する影響の有無について検討した。

併用投与試験で GSK1120212B（0.0225 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日）を 28 日間併用経口投与したときの AUC は、それぞれ 202.5 ng·hr/mL 及び 82.35 µg·hr/mL であった（2.6.7.17.3.）。一方、ほぼ同用量の GSK1120212B（0.025 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日）を単独でそれぞれ 21 及び 28 日間投与したときの AUC はそれぞれ 182 ng·hr/mL（2.6.7.7.4.）及び 81.8 µg·hr/mL（タフィンラーCTD 2.6.7.7.4.）であった。このことから、併用投与により各薬物の曝露量が影響を受ける可能性は低いと考えられる。

病理組織学的検査で観察された主要所見について、GSK1120212B 及び GSK2118436B（タフィンラーCTD 2.6.6.9.2.）を単独で反復投与したときの所見と比較した結果、結腸及び直腸粘膜の好中球性炎症は GSK1120212B 単独投与での既知所見、貫壁性・血管周囲性の好中球性・組織球性炎症を伴う右冠動脈外膜変性／壊死、精巣上皮変性、並びに精巣上体精子数減少及び管腔内変性精巣胚細胞は GSK2118436B 単独投与での既知所見、胸腺リンパ球減少は

両薬物での既知所見であった。しかしながら、胃幽門部粘膜上皮で観察された肉芽腫性炎症（ときに好酸球浸潤及び多核巨細胞内異物蓄積を伴う）、並びに腸間膜リンパ節の組織球症及び組織球内異物蓄積は、併用投与時にのみ発現したもので、白血球数、好中球数及び単球数の高値を伴っていた。肉芽腫性胃炎の原因は不明だが、本所見は生存例での所見であり、後述の切迫屠殺例における一般状態悪化の原因ではなく、GSK1120212B の単独投与で観察された胃腸管の病理組織学的変化とも形態的に異なっていた。

併用投与試験では GSK1120212B/GSK2118436B の 0.0225/20 mg/kg/日を投与した雄 1 例を切迫屠殺したが、ほぼ同用量の GSK1120212B（0.023 mg/kg/日）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日；タフィンラーCTD 2.6.6.3.3.2.）のそれぞれ 10 及び 13 週間の単独経口投与において死亡は認められなかった。また、併用投与試験において GSK1120212B によると考えられる大腸の好中球性炎症は 0.0225/20 mg/kg/日群で観察されたが、GSK1120212B の 13 週間経口投与試験においてほぼ同用量の 0.023 mg/kg/日群では認められなかった（2.6.6.3.5.）。一方、GSK2118436A（GSK2118436B の遊離塩基）を投与した 4 週間経口投与試験では、50 mg/kg/日群（投与 28 日の AUC は 42.7 μg·hr/mL）で皮膚病変（乳頭腫、表皮肥厚、角化亢進）が観察されたが（タフィンラーCTD 2.6.7.7.4.）、併用投与試験ではその約 2 倍の AUC を示した 0.0225/20 mg/kg/日群においても皮膚の病理組織学的変化は認められなかった。

以上のように、GSK1120212B 及び GSK2118436B の併用経口投与により、全身毒性及び大腸の好中球性炎症の増強、並びに新たな所見として肉芽腫性胃炎が発現したが、GSK2118436B で既知の皮膚障害は認められなかった。

なお、GSK2118436B を単独投与又は GSK1120212B と併用投与した臨床試験（MEK115306 試験；2.7.4.2.1.1.3.3.）では、単独投与群と併用投与群で胃炎との関連性が示唆される悪心や嘔吐の発現率に大きな差はみられず、GSK1120212B の併用投与によるこれらの所見の増悪は認められていないが、併用投与により過角化、皮膚乳頭腫及び掌蹠角皮症の発現率の低下が認められている。

2.6.6.9.6.　　結論

GSK1120212B の反復経口投与で観察された主要所見は、皮膚、消化管、リン恒常性、造血器、肝臓、骨及び卵巣に対する影響であった。いずれの所見も休薬によりおおむね回復するものと考えられ、標的分子である MEK の阻害又はその二次的変化によるものと考えられる。特に、皮膚及び消化管への影響については、ラット及びイヌの用量制限毒性であったことから、ヒトにおいても十分注意すべき事象と考える。また、心臓の病理組織学的変化を伴わない左室機能の低下並びに心拍数及び心重量の低値、血清リンの高値を伴う心筋の鉱質沈着及び壊死もみられた。

雌雄生殖器の病理組織学的検査の結果を基に評価した結果、GSK1120212B は雌受胎能に悪影響を及ぼす可能性があると考えられる。また、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験で、流産、着床後死亡率の高値傾向、胎児体重の低値又は骨格異常がみられ、GSK1120212B は胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性が考えられるため、妊婦への投与は避けるべきと考える。

GSK1120212B 及び GSK2118436B の併用経口投与により、全身毒性及び大腸好中球性炎症の増強並びに胃炎が発現する可能性が示唆された。両薬物の併用投与による臨床試験において一致する事象は報告されていないが、注意すべきと考える。

2.6.6.10.　図表

図表は本文中に示した。

2.6.6.11.　参考文献

Balagula Y, Barth Huston K, Busam KJ, et al. Dermatologic side effects associated with the MEK 1/2 inhibitor selumetinib (AZD6244, ARRY-142886). *Invest New Drugs.* 2011;29:1114-21.

Bissonauth V, Roy S, Gravel M, et al. Requirement for Map2k1 (Mek1) in extra-embryonic ectoderm during placentogenesis. *Development.* 2006;133:3429-40.

Brown AP, Courtney CL, King LM, et al. Cartilage dysplasia and tissue mineralization in the rat following administration of a FGF receptor tyrosine kinase inhibitor. *Toxicol Pathol.* 2005;33:449-55.

Cappon GD, Fleeman TL, Chapin RE, et al. Effects of feed restriction during organogenesis on embryo-fetal development in rabbit. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2005;74:424-30.

Deng C, Wynshaw-Boris A, Zhou F, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 is a negative regulator of bone growth. *Cell.* 1996;84:911-21.

DeSilva DR, Jones EA, Favata MF, et al. Inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase blocks T cell proliferation but does not induce or prevent anergy. *J Immunol.* 1998;160:4175-81.

Downey GP, Butler JR, Tapper H, et al. Importance of MEK in neutrophil microbicidal responsiveness. *J Immunol.* 1998;160:434-43.

Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med.* 1998;4:336-40.

Giroux S, Tremblay M, Bernard D, et al. Embryonic death of Mek1-deficient mice reveals a role for this kinase in angiogenesis in the labyrinthine region of the placenta. *Curr Biol.* 1999;9:369-72.

GlaxoSmithKline Document Number CD2008/00141/00 Study ID 05039. Two-Week Oral Dose Toxicity Study of JTP-74057 Acetic Acid Solvate in Rats with a Two-Week Recovery Period. Report Date 26-Dec-2007.

GlaxoSmithKline Document Number CD2008/00267/00 Study ID 04134. Two-Week Oral Dose Toxicity Study of JTP-74057 Acetic Acid Solvate and JTP-75201 in Rats. Report Date 26-Sep-2005.

GlaxoSmithKline Document Number 2011N123720_00 Study ID Ames-1121. 不純物B*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) With Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study). Report Date 7-Nov-2011.

Hatano N, Mori Y, Oh-hora M, et al. Essential role for ERK2 mitogen-activated protein kinase in placental development. *Genes Cells*. 2003;8:847-56.

Haura EB, Ricart AD, Larson TG, et al. A phase II study of PD-0325901, an oral MEK inhibitor, in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16:2450-7.

Kehat I, Davis J, Tiburcy M, et al. Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 regulate the balance between eccentric and concentric cardiac growth. *Circ Res.* 2011;108:176-83.

Kihara S, Yamamoto H, Ohba T, et al. Activation of follistatin promoter by GnRH in L beta T2 gonadotroph cells. *Endocr J.* 2006;53:225-35.

Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2002;41:21-6.

Kosters A, Karpen SJ. The role of inflammation in cholestasis - clinical and basic aspects. *Semin Liver Dis.* 2010;30:186-94.

Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, et al. Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol.* 2005;19:379-90.

O'Reilly LA, Kruse EA, Puthalakath H, et al. MEK/ERK-mediated phosphorylation of Bim is required to ensure survival of T and B lymphocytes during mitogenic stimulation. *J Immunol.* 2009;183:261-9.

Pearse G. Histopathology of the thymus. *Toxicol Pathol.* 2006;34:515-47.

Ranch D, Zhang MY, Portale AA, et al. Fibroblast growth factor 23 regulates renal 1,25-dihydroxyvitamin D and phosphate metabolism via the MAP kinase signaling pathway in Hyp mice. *J Bone Miner Res.* 2011;26:1883-90.

Saba-El-Leil MK, Vella FD, Vernay B, et al. An essential function of the mitogen-activated protein kinase Erk2 in mouse trophoblast development. *EMBO Rep*. 2003;4:964-8.

Scholl FA, Dumesic PA, Barragan DI, et al. Mek1/2 MAPK kinases are essential for Mammalian development, homeostasis, and Raf-induced hyperplasia. *Dev Cell.* 2007;12:615-29.

Shiota M, Sugai N, Tamura M, et al. Correlation of mitogen-activated protein kinase activities with cell survival and apoptosis in porcine granulosa cells. *Zoolog Sci.* 2003;20:193-201.

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

Sriraman V, Modi SR, Bodenburg Y, et al. Identification of ERK and JNK as signaling mediators on protein kinase C activation in cultured granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2008;294:52-60.

Zeiger E, Anderson B, Haworth S, et al. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen*. 1998;11 Suppl.12:1-158.

薬食審査発 0521 第 1 号通知. 医薬品の光安全性評価ガイドラインについて. *平成 26 年 5 月 21 日*. 2014.

2.6.7. 毒性試験概要表

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Acute toxicity										
	Dog (beagle)	1M/1F	Oral (gavage)	B (non-micronized)	0.15, 0.5, 3	Single	No	GSK	CD2006/00919/01 (D06241)	4.2.3.1.

Key:
DMSO = Dimethyl sulfoxide. M = Males. F = Females.
Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Testing Facility:
GSK = GlaxoSmithKline.

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Repeat dose toxicity										
	Mouse (CD-1)	12M/12F[a]	Oral (gavage)	B (micronized)	M: 0.1, 0.3, 1.0 F: 0.1, 0.3, 1.0/0.6	26 weeks	Yes	[redacted]	2012N150025_00 (G11237)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	4M/4F[b]	Oral (gavage)	B (non-micronized)	0.1, 0.3, 1	14 days	No	GSK	CD2006/01117/00 (D06269)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	4M/4F[b]	Oral (gavage)	B (non-micronized)	1, 2, 3	up to 12 days	No	GSK	CD2006/01957/00 (D06431)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	10M/10F[b,c]	Oral (gavage)	B (micronized)	0.016, 0.031, 0.0625, 0.125	3 weeks	Yes	GSK	CD2007/00984/00 (G07042)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	12M/12F[d]	Oral (gavage)	B (micronized)	M: 0.031, 0.0625, 0.125 F: 0.016, 0.031, 0.0625	13 weeks	Yes	[redacted]	CD2010/00178/00 (G09108)	4.2.3.2.

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Repeat dose toxicity (Continued)										
	Dog (beagle)	1M/1F	Oral (gavage)	B (non-micronized)	0.125, 0.25, 0.5	10 days	No	GSK	CD2006/01539/00 (D06330)	4.2.3.2.
	Dog (beagle)	3M/3F[e]	Oral (gavage)	B (micronized)	M: 0.025, 0.038, 0.075 F: 0.015, 0.020, 0.025	3 weeks	Yes	GSK	CD2007/00966/00 (G07043)	4.2.3.2.
	Dog (beagle)	4M/4F[f]	Oral (gavage)	B (micronized)	0.0075, 0.015, 0.03/0.023	13 weeks	Yes	[redacted]	CD2010/00179/00 (G09109)	4.2.3.2.

Key:

a = Additional 3/sex/group for control group, 15/sex/group for 0.1, 0.3 and 1.0 mg/kg/day, and 15 females/group for 0.6mg/kg/day included for toxicokinetic evaluation only.

b = Additional 3/sex/group included for toxicokinetic evaluation only.

c = Additional 6/sex/group included at 0.0625 and 0.125 mg/kg/day to evaluate a 2 week recovery period.

d = Additional 3/sex/group included for toxicokinetic evaluation only; additional 6/sex/group included in the 0.0625 and 0.125 mg/kg/day male groups, and 0.031 and 0.0625 mg/kg/day female groups to evaluate a 4 week recovery period.

e = Additional 2/sex/group included at 0.038 and 0.075 mg/kg/day (males) and 0.020 and 0.025 mg/kg/day (females) to evaluate a 2 week recovery period.

f = Additional 2/sex/group included in the 0.015 and 0.03/0.023 mg/kg/day groups to evaluate a 4 week recovery period.

DMSO = Dimethyl sulfoxide. SD = Sprague-Dawley. M = Males. F = Females.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Testing Facility:
[redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.
[redacted]

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Genotoxicity										
Ames test	Salmonella typhiurium; Escherichia coli	NA	In vitro	B (non-micronized)	1.5 to 2500 µg/plate	NA	Yes	[redacted]	WD2007/00304/00 (V27490)	4.2.3.3.1.
Mouse lymphoma assay	L5178Y cells	NA	In vitro	B (non-micronized)	5 to 150 µg/mL	NA	Yes	[redacted]	WD2007/00303/00 (V27491)	4.2.3.3.1.
Micronucleus assay	Rat (SD)	7M	Oral (gavage)	B (micronized)	1, 2	2 days	Yes	[redacted]	WD2007/01240/01 (R27719)	4.2.3.3.2.

Key:
M = Males.
NA = Not applicable.
SD = Sprague-Dawley.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Testing Facility: [redacted]

Apr 14 2015 10:15:41

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex /Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Reproductive and developmental toxicity										
Embryofetal development	Rat (SD)	22F[a,b]	Oral (gavage)	B (micronized)	0.062/0.016, 0.094/0.031, 0.125/0.062, 0.375/0.125	12 days (Days 6 to 17 post coitum)	Yes	GSK	2010N109544_02 (G10218)	4.2.3.5.2.
Dose range finding	Rabbit (Haz:(DB)SPF)	4F	Oral (gavage)	B (micronized)	0.077/0.0385, 0.154/0.077, 0.308/0.154, 0.616/0.308	13 days (Days 7 to 19 post coitum)	No	GSK	2011N117363_01 (D11104)	4.2.3.5.2.
Embryofetal development	Rabbit (Haz:(DB)SPF)	22F	Oral (gavage)	B (micronized)	0.077/0.0385, 0.154/0.077, 0.308/0.154	13 days (Days 7 to 19 post coitum)	Yes	GSK	2011N124059_00 (G11166)	4.2.3.5.2.

Key:
a = Additional 3 non-pregnant females/group included for toxicokinetic evaluation only.
b= Two additional groups of 4 pregnant females included for tolerability evaluation only.
DMSO = Dimethyl sulfoxide. DB = Dutch Belted. F = Females. M= Males. SD = Sprague-Dawley.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Testing Facility:
GSK = GlaxoSmithKline.
[redacted]

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Cardiotoxicity										
Cardiomyocyte cytotoxicity	Adult rat ventricular cardiomyocyte cultures	NA	In vitro	B (micronized)	0.05, 0.5 µM	18 hours	No	GSK	2012N135966_00 (I12021)	4.2.3.7.3.
Cardiac structure and function	Mouse (CD-1)	15M	Oral (gavage)	B (micronized)	0.25, 0.5	3 weeks	No	GSK	2011N128277_00 (I11228)	4.2.3.7.3.
Phototoxicity	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	NA	In vitro	B (micronized)	0.1638 to 40 µg/mL	1 hr	Yes	[redacted]	2014N205653_00 (V30907)	4.2.3.7.7.
Combination Toxicity										
GSK2118436B and GSK1120212B	Dog (beagle)	3	Oral (gavage)	B (micronized)	5/0.0075[a], 20/0.0225[a]	4 weeks	Yes	GSK	2011N112335_00 (G10260)	4.2.3.7.7.

Key:
a = Doses shown as GSK2118436/GSK1120212.
GSK2118436B = BRAF kinase inhibitor.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
SD = Sprague-Dawley.
NA = Not applicable.
M = Males. F = Females.
Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Testing Facility:
[redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

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

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Acute toxicity	Dog (beagle)	Oral (gavage)	0.15, 0.5, 3	No	CD2006/00919/01 (D06241)	4.2.3.1.
Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	Oral (gavage)	0.1, 0.3, 0.6, 1.0	Yes	2012N150025_00 (G11237)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Rat (SD)	Oral (gavage)	0.1, 0.3, 1	No	CD2006/01117/00 (D06269)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Rat (SD)	Oral (gavage)	1, 2, 3	No	CD2006/01957/00 (D06431)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Rat (SD)	Oral (gavage)	0.016, 0.031, 0.0625, 0.125	Yes	CD2007/00984/00 (G07042)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Rat (SD)	Oral (gavage)	M: 0.031, 0.0625, 0.125 F: 0.016, 0.031, 0.0625	Yes	CD2010/00178/00 (G09108)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	Oral (gavage)	0.125, 0.25, 0.5	No	CD2006/01539/00 (D06330)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	Oral (gavage)	M: 0.025, 0.038, 0.075 F: 0.015, 0.020, 0.025	Yes	CD2007/00966/00 (G07043)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	Oral (gavage)	0.0075, 0.015, 0.03/0.023	Yes	CD2010/00179/00 (G09109)	4.2.3.2.

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（続き）

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Embryofetal development	Rat (SD)	Oral (gavage)	0.062/0.016, 0.094/0.031, 0.125/0.062, 0.375/0.125	Yes	2010N109544_02 (G10218)	4.2.3.5.2.
Embryofetal development	Rabbit (Haz:(DB)SPF)	Oral (gavage)	0.077/0.0385, 0.154/0.077, 0.308/0.154, 0.616/0.308	No	2011N117363_01 (D11104)	4.2.3.5.2.
Embryofetal development	Rabbit (Haz:(DB)SPF)	Oral (gavage)	0.077/0.0385, 0.154/0.077, 0.308/0.154	Yes	2011N124059_00 (G11166)	4.2.3.5.2.
Combination toxicity GSK2118436/GSK1120212	Dog (beagle)	Oral (gavage)	5/0.0075[a], 20/0.0225[a]	Yes	2011N112335_00 (G10260)	4.2.3.7.7.

Key:
a = Doses shown as GSK2118436/GSK1120212.
DMSO = Dimethyl sulfoxide. M = Males. F = Females.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

GSK1120212 AUC (ng.h/mL)*

Dose (mg/kg/day)	Mouse		Rat		Dog		Rabbit	Human
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	
0.0075					45.6[i]	51.8[i]		
0.015					95.5[i]	120[h]		
						107[i]		
0.016			35.0[e]	102[f]				
				60.2[e]				
				52.3[j]				
0.020						211[h]		
0.025					159[h]	205[h]		
0.03/0.023					128[i]	150[i]		
0.031			64.2[e]	126[e]				
			95.4[f]	158[f]				
				110[j]				
0.038					282[h]			
0.0385							46.4[k]	
							31.9[l]	
0.04								375[m]
0.05								
0.0625			277[f]	149[j]				
			129[e]	211[e]				
0.075					NA[h]	NA[h]		
0.077				NA[f]			56.4[l]	
							103[k]	
0.1	523[a]	382[a]	72[c]	73				
0.125			218[e]	460[e]	538[g]	666[g]		
			NA[f]	NA[f]				
				684[j]				
0.15					462[b]	365[b]		

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

GSK1120212 AUC (ng.h/mL)*

Dose (mg/kg/day)	Mouse		Rat		Dog		Rabbit	Human
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	
0.154							127[l]	
							175[k]	
0.17			219[o]	392[o]				
0.25					NA[g]	NA[g]		
0.3	3265[a]	1800[a]	65.3[c]	135[c]				
0.308							537[k]	
0.5					1830[b]	2218[b]		
					NA[g]	NA[g]		
0.6		5584[a]						
1	11333[a]	6232[a]	304[c]	384[c]				
			311[d]	201[d]				
2			1081[d]	635[d]				
3			505[d]	NC[d]	14714[b]	14737[b]		

Key:

* = Last time point used where possible, however, some values are based on Day 1 data.
a = Report 2012N150025_00, 26 week study, Week 4.
b= Report CD2006/00919/01, single dose toxicity study.
c = Report CD2006/01117/00, 14 day study, Day 14.
d = Report CD2006/01957/00, 14 day study, Day 1.
e = Report CD2007/00984/00, 3 week study, Day 21.
f = Report CD2010/00178/00, 13 week study, Week 13.
g = Report CD2006/01539/00, 10 day study, Day 10.
h = Report CD2007/00966/00, 3 week study, Day 21.
i = Report CD2010/00179/00, 13 week study, Week 13. Due to adverse effects, dosing of 0.03 mg/kg/day was stopped on Day 11 or 12, and dosing resumed at lower dose of 0.023 mg/kg/day from Day 21 or 22.
j = Report 2010N109544_02, rat embryofetal development study, Day 1 (a single loading dose was given on Day 1 to give a equivalent values to the estimated steady state AUC at selected maintenance doses during organogenesis) .
k = Report 2011N117363_01, rabbit dose range finding study, Day 11 pc (Day 5 of dosing). A single loading dose was given on Day 7 pc to achieve the steady state AUC at selected maintenance doses during organogenesis.
l = Report 2011N124059_00, rabbit embryofetal development study, Day 11 pc (Day 5 of dosing). A single loading dose was given on Day 7 pc to achieve the steady state AUC at selected maintenance doses during organogenesis.
m =Combined male and female steady state data from Clinical Study MEK114784. Subjects administered 2 mg/day.
NA = Not Applicable (due to early termination or discontinuation of dosing).

DMSO = Dimethyl sulfoxide. NC = Not calculated, all plasma samples were below the lower limit of quantitation (LLQ). pc= postcoitum.

Note: Combination studies have not been included in this listing. All doses are expressed in terms of the parent compound.

2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Batch No.	Purity (%)	Proposed Specification (%) 不純物C* (≤[redacted])	不純物D* (≤[redacted])	不純物E* (≤[redacted])	Report No. (Study No.)	Type of Study
eE169079	99.6	0.07	0.11	0.14	CD2007/00966/00 (G07043)	3 week dog study
					CD2007/00984/00 (G07042)	3 week rat study
					WD2007/01240/01 (R27719)	Genotoxicity: Micronucleus assay
071131978 (PAD10000107)	99.5	Not determined	0.15	0.13	WD2007/00304/00 (V27490)	Genotoxicity: Ames test
					WD2007/00303/00 (V27491)	Genotoxicity: Mouse lymphoma assay
091225 (091216933)	98.6	0.10	0.11	<0.05	CD2010/00178/00 (G09108)	13 week rat study
					CD2010/00179/00 (G09109)	13 week dog study
091450	98.8	0.05	0.11	ND	2012N150025_00 (G11237)	26 week mouse study
					2010N109544_02 (G10218)	Embryofetal development in rats
					2011N124059_00 (G11166)	Embryofetal development in rabbits
					2011N112335_00 (G10260)	Combination: GSK2118436 and GSK1120212, 4 week dog study
0212AMB013	99.9	0.06	<0.05	<0.05	2014N205653_00 (V30907)	In vitro phototoxicity study

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

Apr 14 2015 10:15:43

2.6.7.5. 急性毒性試験

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; non-micronized)

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	Number of Animals /Sex	Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/ Study No.
Dog (beagle)	Oral gavage (0.5% w/v methylcellulose/ suspension)	Single dose escalation (Days 1, 8, 16)	0.15, 0.5, 3	1	0.5	3	Dogs given 3 mg/kg were killed in moribund condition with body weight loss and clinical observations that included decreased activity, dehydration and abnormal feces. Morbidity was associated with microscopic evidence of gastrointestinal damage (mild to moderate gastric ulceration and/or erosion with hemorrhage and acute inflammation in both dogs, mild esophageal ulceration in the female, and severe crypt epithelial necrosis with associated acute inflammation in small intestine), lymphoid atrophy and/or necrosis in the thymus and/or Peyers patches and reduced bone marrow cellularity. Decreased reticulocyte counts and hemoglobin concentrations were seen at ≤0.5 mg/kg in male and/or female dogs and increased total white cell counts, ALP and serum inorganic phosphorus occurred at ≥0.5 mg/kg.	CD2006/00919/01 (D06241)

Key:
a = Two groups of beagle dogs (1/sex/group) were alternately given 0.15, 0.5 and 3 mg/kg/day on Days 1, 8 and 16 respectively.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number of Animals/ Sex	Noteworthy Findings	Report No. (Study No.)
Rat (SD)	Oral (0.5% w/v methylcellulose/ suspension)	14 days	0.1, 0.3, 1	4M/4F[a]	Females given 1 mg/kg/day had ulceration involving the skin of the ventral neck region. There was gastric fundic gland mineralization with hypertrophy in males and females at 1 mg/kg/day. Mean total white cell counts were decreased for males given ≥0.3 mg/kg/day but were slightly increased for females given ≥0.1 mg/kg/day. Body weight loss and/or reduced body weight gain were seen for females given ≥0.1 mg/kg/day, associated with reduced food consumption, and transient body weight loss occurred in males given 1 mg/kg/day.	CD2006/01117/00 (D06269)
Rat (SD)	Oral (0.5% w/v aqueous methylcellulose/ suspension)	up to 12 days	1, 2, 3	4M/4F[a]	No doses were tolerated. Administration of ≥2 mg/kg/day was associated with morbidity and/or death in some rats following 6 daily doses and in some rats given 1 mg/kg/day following 8 or more daily doses. Remaining rats were killed on Day 6 at ≥2 mg/kg/day and on Day 12 at 1 mg/kg/day. Moribund killed rats given ≥1 mg/kg/day had abnormal feces (soft), body weight loss and microscopic changes in skin (exudation, erosion/ulceration, acanthosis and hyperkeratosis/parakertosis), liver (centrilobular necrosis, vacuolation, portal hypertrophy and portal lymphocytic infiltrate), kidney (tubular degeneration, mineralization), heart (myofiber necrosis and mineralization), aorta (intimal and mural mineralization of the wall), bone (subepiphyseal infarcts), stomach (mineralization of the fundic glands and erosions and hyperplasia of the glandular mucosa), lung (mineralization of alveolar septae), ovaries (cystic follicles and/or corpora lutea), mammary gland (acinar epithelium necrosis in males, vacuolation and secretions in females), and small and large intestines including rectum (hyperplasia of the glandular mucosa and/or erosion) were observed for moribund killed rats given ≥1 mg/kg/day. Test article-related findings in moribund killed rats were similar to findings noted for the remainder of rats given ≥1 mg/kg/day. In addition, mean neutrophil and monocyte counts and serum ALT and AST values were increased, and mean lymphocyte and reticulocyte counts, red cell mass, and serum glucose, cholesterol, triglyceride, total protein and albumin were decreased for rats given 1 mg/kg/day.	CD2006/01957/00 (D06431)

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number of Animals/ Sex	Noteworthy Findings	Report No. (Study No.)
Dog (beagle)	Oral (0.5% aqueous methylcellulose suspension)	10 days	0.125, 0.25, 0.5	1M/1F	Dogs given ≥0.25 mg/kg/day were killed in moribund condition due to body weight loss and clinical signs indicative of gastrointestinal injury (abnormal fecal discoloration/consistency, reduced food intake and in males only, emesis). Test article-induced microscopic observations in these moribund dogs included gastrointestinal toxicity (mucosal necrosis, hemorrhage, inflammation, mucosal and villus atrophy) with associated clinical pathology changes (decreased red blood cell parameters, lymphocytes, platelets, serum protein and albumin concentration and increased total white cell counts) and microscopic observation of lymphoid necrosis and atrophy. Test article-related increases in serum inorganic phosphorus were noted for dogs given 0.25 mg/kg/day. Dogs given 0.125 mg/kg/day survived until scheduled termination but had reduced food intake, absent/scant feces and pallor of the pinna. Body weight loss, emesis, abnormal fecal discoloration/consistency and coldness to touch were noted for the female only. Test article-induced microscopic observations for dogs given 0.125 mg/kg/day included duodenal crypt necrosis and alterations (minimally increased granulocytic and mildly decreased erythroid progenitor cells) in bone marrow cellularity with associated decreased circulating reticulocyte counts. Increases in ALP, AST, ALT, total bilirubin and cholesterol values in conjunction with hepatic findings of neutrophilia and Kupffer cell hyperplasia were observed in dogs given 0.25 mg/kg/day. Mild renal cortical tubular dilation with associated increases in serum urea and creatinine was seen only in the male dog given 0.25 mg/kg/day; however, the relationship of the renal findings to test article administration was unclear.	CD2006/01539/00 (D06330)

Key:
a = Additional 3/sex/group included for toxicokinetic evaluation only.
DMSO = Dimethyl sulfoxide. SD = Sprague-Dawley. M = Males. F = Females.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1. マウス 26 週間経口投与試験

Report Title: GSK1120212B: A 26-week Oral (Gavage) Toxicity Study in Mice

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)

Batch No.: 091450

Species/Strain: Mouse/Crl:CD1 (ICR)

Duration of Dosing: 26 weeks

Study No.: G11237

Initial Age: Approximately 6 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Report No.: 2012N150025_00

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

Vehicle/Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol and 0.2% w/v Sodium lauryl sulfate (SLS) suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, hematology, coagulation, clinical chemistry, organ weights, macroscopic and microscopic pathology.

Conclusion: GSK1120212B (DMSO solvate) given once-daily by oral gavage at doses of 0 (vehicle control), 0.1, 0.3, 1.0 or 1.0/0.6 mg/kg/day to male and female mice for up to 26 weeks resulted in test article-related death/morbidity and early termination of mice given ≥0.3 mg/kg/day as a result of gastrointestinal toxicity, including colon perforations with secondary peritonitis in the most severely affected decedents. Additional adverse microscopic findings seen in the large intestine (inflammation, erosion/ulceration, degeneration/necrosis and/or hemorrhage) at ≥0.1 mg/kg/day and stomach (degeneration/necrosis) at ≥0.3 mg/kg/day also contributed to the morbidity and early termination at ≥0.3 mg/kg/day.

Test article-related clinical observations of skin scabs, skin reddening and thin fur cover at the head region were observed in all dose groups with a dose-dependent onset (as early as Day 14); however, the incidence of these findings across dose groups was affected by the varying dosing durations. Correlative microscopic skin ulcerations of the head region were seen predominantly in animals given 0.3 mg/kg/day and in one male animal given 0.1 mg/kg/day, but were not noted for animals given 1.0 or 1.0/0.6 mg/kg/day.

Multiple microscopic changes (with associated changes in hematology parameters) were considered secondary to the inflammation present in the gastrointestinal tract and/or associated with skin ulcerations and included increased extramedullary hematopoiesis in the spleen (and to a lesser extent, liver) and myeloid hyperplasia in the bone marrow at all doses as well as plasmacytosis and/or lymphoid hyperplasia of the mandibular and mesenteric lymph nodes in males at all doses and in females given ≥0.3 mg/kg/day, and minimal neutrophilia in liver sinusoids of both sexes at 0.3 mg/kg/day.

Based on the adverse microscopic changes in the large intestine (inflammation, erosion/ulceration and degeneration/necrosis) that were also observed at 0.1 mg/kg/day, a no observed adverse effect level (NOAEL) in this study was not established. The maximum tolerated dose (MTD) was 0.1 mg/kg/day. At the MTD, mean plasma GSK1120212 $AUC_{0\text{-}24}$ values were 523 and 382 ng.h/mL, and mean plasma GSK1120212 Cmax values were 41.7 and 29.4 ng/mL, for males and females, respectively, at Week 4.

		Male				Female				
Dose (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	0.6[a]	1.0/0.6[a]
Numbers of Animals:	Main	12	12	12	12	12	12	12	-	12
	Toxicokinetic	3	15	15	15	3	15	15	15	15
AUC_{0-24} (ng.h/mL)	Week 4	NC	523	3265	11333	NC	382	1800	5584	6232
C_{max} (ng/mL)	Week 4	NQ	41.7	236	1141	NQ	29.4	145	593	599
Noteworthy Findings										
Unscheduled Deaths	Main	0	0	3[b]	2[c]	0	2	2[b]	0	2[d]
	Toxicokinetic	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		There were a total of 8 test article-related deaths/unscheduled kills during the course of the study including two main study males given 1.0 mg/kg/day on Day 16 or 26; two main study females given 1.0/0.6 mg/kg/day on Day 22 or 71; three main study males given 0.3 mg/kg/day on Day 66, 73 or 89; and one main study female given 0.3 mg/kg/day on Day 78. In addition, doses ≥0.3 mg/kg/day were not tolerated and resulted in early termination of remaining animals in these dose groups [b, c, d]. Non-test article-related deaths/euthanasia included one main study female given 0.3 mg/kg/day (euthanized on Day 25) and one toxicokinetic female given 1.0 mg/kg/day (euthanized on Day 11) as a result of gavage accidents. In addition, non-test article-related chronic progressive nephropathy was considered contributory to the euthanasia/death of two main study females given 0.1 mg/kg/day which were either found dead on Day 110 or euthanized on Day 156.								
Clinical Observations		Test article-related clinical signs were mostly observed in decedent and/or moribund animals given ≥0.3 mg/kg/day and included: decreased activity, cold to the touch, prominent backbone, hunched posture, generalized weakness, dehydration (as observed by the technician testing for tonicity of the skin), muscle tone decrease, generalized thinness, sunken eyeballs/partly closed eyes, skin pallor/blue (various locations), distended/swollen abdomen and firm internal structure, erected fur, breathing difficulties, uncoordination, and tremors. Although some of the above clinical signs were also observed in individual surviving males given 0.3 mg/kg/day and in individual surviving females given ≥0.3 mg/kg/day, they were not so marked. These were noted from Days 42 to 93. Test article-related clinical observations of skin scabs, skin reddening and thin fur cover at the head region were observed in all dose groups with a dose-dependent onset (as early as Day 14); however, the incidence of these findings across dose groups was affected by the varying dosing durations. Correlative microscopic skin ulcerations of the head region were seen predominantly in animals given 0.3 mg/kg/day and in one male animal given 0.1 mg/kg/day, but were not noted for animals given 1.0 or 1.0/0.6 mg/kg/day.								

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Body Weight (X control)[e]								
Day -1	32.28 g	0.99X	0.98X	0.98X	25.10 g	0.98X	0.98X	0.99X
Day 21	36.09 g	0.98X	0.97X	0.86X***	26.88 g	0.97X	1.00X	0.94X
Day 28	37.31 g	0.99X	0.95X	0.92X**	27.33 g	0.99X	0.99X	1.02X
Day 35	38.23 g	1.00X	0.94X	0.93X*	27.74 g	1.00X	1.01X	1.05X
Day 39	38.52 g	1.01X	0.94X	0.94X	27.95 g	0.99X	1.00X	1.03X
Day 53	39.69 g	1.02X	0.92X*	-	28.67 g	1.00X	0.99X	1.01X
Day 63	40.54 g	1.03X	0.90X*	-	29.57 g	1.03X	0.97X	1.01X
Day 77	41.93 g	1.01X	0.89X*	-	30.93 g	1.00X	0.91X	0.89X
Day 81	42.40 g	1.02X	0.88X*	-	31.04 g	0.99X	0.89X*	-
Day 91	42.43 g	1.01X	0.87X*	-	30.48 g	1.00X	0.90X*	-
Day 137	45.40 g	0.98X	-	-	31.63 g	1.03X	-	-
Day 182 (last occasion)	47.79 g	0.95X	-	-	32.60 g	1.03X	-	-
Food Consumption (X control)								
Days 15 to 22	4.8 g/m/day	0.90X	0.90X	0.56X	3.8 g/m/day	1.00X	0.92X	0.87X
Days 134 to 141	5.0 g/m/day	0.86X	-	-	3.3 g/m/day	0.91X	-	-
Days 176 to 183 (last interval)	4.5 g/m/day	0.84X	-	-	3.0 g/m/day	1.10X	-	-
Hematology – Week 27								
White Blood Cells (10^9/L)	4.816	7.608	-	-	4.958	4.386	-	-
Neutrophils (10^9/L)	0.816	3.415 (9.00, 19.36)[g]	-	-	0.682	0.713	-	-
Monocytes (10^9/L)	0.164	0.200	-	-	0.125	0.181	-	-
Reticulocytes (10^9/L)	273	330*	-	-	291	305	-	-
Platelets (10^9/L)	1333	1793*	-	-	1373	1366	-	-
Clinical Chemistry – Week 27								
Albumin (g/L)	32.7	30.9 (26, 19)[g]	-	-	36.9	35.0**	-	-
Creatinine (µmol/L)	9.8	12.0	-	-	12.4	12.9	-	-
Organ Weights[f] (X control)								
Spleen Absolute	0.10623 g	1.45X	-	-	0.11261 g	0.85X	-	-
Relative-to-Body Weight	0.22690 %	1.60X	-	-	0.35168 %	0.85X	-	-

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Macroscopic Examination (number of main study animals; terminal and preterminal euthanasia)	12	12	12	12	12	12	12	12
Colon								
Perforation	0	0	1	1	0	0	0	0
Thickening	0	1	1	0	0	0	0	0
Area pale	0	1	1	0	0	0	0	0
Adhesion	0	0	0	0	0	0	1	0
Cecum								
Thickening	0	1	0	0	0	0	0	0
Area dark	0	0	1	0	0	0	0	0
Area pale	0	1	0	0	0	0	0	0
Foci dark	0	0	1	0	0	0	0	1
Adhesion	0	1	0	0	0	0	0	0
Rectum								
Thickening	0	0	0	0	0	0	0	1
Forci dark	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin miscellaneous								
Scab	0	1	4	0	0	0	2	0
Spleen								
Enlargement	1	3	6	3	0	0	8	9
Mandibular lymph node								
Enlargement	0	1	5	1	0	0	6	4
Mesenteric lymph node								
Enlargement	0	0	7	2	0	0	8	8
Thymus								
Small	0	0	3	2	0	0	0	2

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Microscopic Examination (number of main study animals; terminal and preterminal euthanasia)		12	12	12	12	12	12	12	12
Colon	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation									
	Minimal	0	1	3	2	0	1	0	5
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	2
	Moderate	0	1	0	1	0	0	1	0
Erosion/ulceration									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
	Slight	0	0	1	0	0	0	0	0
	Moderate	0	1	0	0	0	0	1	0
Degeneration/necrosis									
	Minimal	0	0	2	1	0	1	0	6
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
	Moderate	0	1	0	1	0	0	0	0
Cecum	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation									
	Minimal	0	0	3	0	0	0	2	4
	Slight	0	0	2	2	0	0	0	0
	Moderate	0	1	0	0	0	0	1	1
Erosion/ulceration									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	0
Degeneration/necrosis									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	0	4
	Slight	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage									
	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Microscopic Examination (Continued):									
Rectum	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation									
	Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2
Erosion/ulceration									
	Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Degeneration/necrosis									
	Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Stomach	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Degeneration/necrosis									
	Minimal	0	0	1	2	0	0	0	0
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	0
Inflammation: subacute, mucosa, non-glandular portion	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Ileum	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Atrophy: villi									
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Abdomen	No. examined	0	0	3	1	0	0	2	2
Inflammation									
	Minimal	NA	NA	1	0	NA	NA	0	0
	Slight	NA	NA	1	0	NA	NA	1	1
	Moderate	NA	NA	1	1	NA	NA	1	1
Skin miscellaneous (head)	No. examined	0	1	4	0	0	0	2	0
Ulceration									
	Minimal	NA	0	2	NA	NA	NA	0	NA
	Slight	NA	1	1	NA	NA	NA	1	NA
	Moderate	NA	0	1	NA	NA	NA	1	NA

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Microscopic Examination (Continued):								
Spleen No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Increased Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	3	3	7	0	4	7	6
Slight	0	0	5	1	0	1	3	4
Moderate	0	2	1	2	0	0	0	2
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Necrosis: lymphoid								
Minimal	0	0	1	2	0	1	2	0
Slight	0	0	1	1	0	0	0	1
Bone Marrow No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Hyperplasia: myeloid								
Minimal	0	2	1	4	0	0	3	1
Slight	0	1	4	2	0	0	2	3
Moderate	0	0	0	1	0	1	2	3
Marked	0	2	3	1	0	1	2	3
Severe	0	0	0	1	0	1	1	1
Degeneration/necrosis								
Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
Liver No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	1	1	1	0	0	1	1
Neutrophilia: sinusoidal								
Minimal	0	0	1	1	0	0	1	0
Necrosis								
Minimal	0	0	0	1 (single cell, multifocal)	1 (focal)	0	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0	0	0.1	0.3	1.0/0.6[a]
Microscopic Examination (Continued):									
Mandibular lymph node	No. examined	11	12	12	10	11	11	12	12
Plasmacytosis									
	Minimal	0	0	4	0	0	0	1	0
	Slight	0	0	2	1	0	0	3	1
	Moderate	0	1	1	0	0	0	0	2
Hyperplasia: lymphoid									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesenteric lymph node	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Plasmacytosis									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	2	4
	Slight	0	1	3	0	0	0	3	3
	Moderate	0	0	3	1	0	0	2	1
Hyperplasia: lymphoid									
	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
Necrosis: lymphoid									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	3
Thymus	No. examined	12	12	11	12	12	12	11	12
Atrophy: lymphoid									
	Slight	0	0	0	0	0	1	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
	Marked	0	0	2	1	0	0	0	3
	Severe	0	0	0	1	0	0	0	0
Pancreas	No. examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Atrophy: acinar cell									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	1	1
	Slight	0	0	1	0	0	0	0	0
	Moderate	0	0	1	0	0	0	0	1

Key:

a = On Day 43, after a 21-day off-dose period, the dose level was lowered from 1.0 mg/kg/day to 0.6 mg/kg/day for females only. An additional 15 TK females were given 0.6 mg/kg/day for 4 weeks to provide samples for toxicokinetic evaluation.
b = All surviving males and females given 0.3 mg/kg/day were euthanized on Day 93 (males) and Day 92 (females) as this dose was no longer considered tolerated.
c = All surviving males given 1.0 mg/kg/day were euthanized on Day 42 as this dose was no longer considered tolerated in males.
d = All surviving females given 1.0/0.6 mg/kg/day were euthanized on Day 78 as the test article at this dose was no longer considered tolerated in females.
e = Mean body weight changes of the Main Study animals (X-fold) are expressed in comparison to the body weight mean of the control population on a given occasion.
f = Absolute and relative organ weights different from controls in the direction indicated. Numbers indicate X change for absolute and relative-to organ weights.
g = Group mean values are presented. Values for individual affected animals (male Nos. 2001 and 2008) are also presented in parentheses.
* = $p < 0.05$. ** = $p < 0.01$. *** = $p < 0.001$.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NA = Not applicable.
NC = Not calculable (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC).
NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).
- = Not examined/could not be evaluated. g/m/day = gram/mouse/day.

Note: All doses and concentrations are expressed in terms of the parent compound.

2.6.7.7.2. ラット 3 週間経口投与試験

Report Title: GSK1120212B: 3-Week Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats Followed by a 2-Week Recovery Period.

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate;micronized)
Batch No.: eE169079

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley

Duration of Dosing: Approximately 3 weeks
Duration of Recovery: Approximately 2 weeks

Study No.: G07042

Initial Age: Approximately 10 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Report No.: CD2007/00984/00

Date of First Dose: [redacted]20

Vehicle/Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol P60 and 0.2% w/v Sodium dodecyl sulfate (SDS) suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, macroscopic and microscopic pathology (including stage-dependant evaluation of spermatogenesis).

Conclusion: GSK1120212 (0, 0.016, 0.031, 0.0625, 0.125 mg/kg/day [0, 0.125, 0.250, 0.500 or 1.00 mg/m^2/day]) was given by oral gavage to male and female Sprague-Dawley rats for approximately 21 days followed by a 2 week off-treatment period. Test article-related effects in skin (acanthosis, ulceration, inflammation and exudation) contributed to morbidity in a female given 0.125 mg/kg/day and were dose-dependent in both incidence and severity at the end of treatment in males and females given ≥0.0625 mg/kg/day. Following the 2 week recovery period, microscopic findings in skin were still evident in rats given ≥0.0625 mg/kg/day, but were less prevalent and/or severe than at the end of treatment. Microscopic findings in the glandular stomach (mineralization) were seen at the end of treatment in males given ≥0.031 mg/kg/day and females given ≥0.016 mg/kg/day with associated increases in serum phosphorus and calcium phosphorus product in males given 0.125 mg/kg/day and females given ≥0.0625 mg/kg/day. At the end of the 2 week recovery period, gastric changes (mineralization) were present in males given ≥0.0625 mg/kg/day and females given 0.125 mg/kg/day and were absent in females given 0.0625 mg/kg/day. A dose of 0.125 mg/kg/day was not tolerated in females based on skin lesions (mean AUC 460 ng.h/mL, range 442 to 473 ng.h/mL; mean C_{max} 29.4 ng/mL, range 28.0 to 31.3 ng/mL; based on female Day 21 values). Compared to male values, mean female AUC values were generally higher (up to 3.0-fold) on Day 1 and/or 21 in all test article-treated groups for which sufficient GSK1120212 plasma concentrations were obtained to allow for exposure comparisons.

2.6.7.7.2. ラット 3 週間経口投与試験（続き）

		Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Numbers of Animals:	Main	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	6	0	0	6	6	6	0	0	6	6
	Toxicokinetic	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng.h/mL):	Day 1	NC	NC	3.65[b]	33.3	64.2	NC	NC	18.1	52.2	193
	Day 21	NC	35.0	64.2	129	218	NC	60.2	126	211	460
C_{max} (ng/mL):	Day 1	NQ	NQ	0.780	2.16	5.48	NQ	0.596[b]	1.19	3.53	11.2
	Day 21	NQ	1.78	3.50	7.78	13.3	NQ	3.33	6.28	13.0	29.4
Noteworthy Findings:											
Unscheduled Deaths:		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1[c]
Clinical Observations:		There was a dose-related increase in incidence and severity of skin lesions in rats given ≥0.0625 mg/kg/day. Skin lesions were primarily characterized by raised scabs located around the snout, lower lip, periocular area and/or dorsal neck with an earlier onset and greater severity in females than males. More severe cases were generally limited to rats given 0.125 mg/kg/day, where the lesions were more widespread and/or progressed from raised scabs to exudative lesions. Skin lesions were still evident clinically at the end of the off-treatment period for rats given 0.125 mg/kg/day, while lesions for rats given 0.0625 mg/kg/day had generally resolved.									
Hematology:											
Hemoglobin (g/L)											
	Day 21 (End of treatment)	143.9	143.2	145.4	143.3	142.1	145.4	143.1	146.0	143.3	127.9**
	Day 30 (Recovery Day 9)	159.2	NA	NA	NE	154.8	154.7	NA	NA	NE	135.6**
	Day 36 (Recovery Day 15)	146.5	NA	NA	NE	142.5	147.2	NA	NA	NE	138.3*
Hematocrit (L/L)											
	Day 21 (End of treatment)	0.426	0.421	0.429	0.416	0.424	0.423	0.416	0.423	0.424	0.381**
	Day 30 (Recovery Day 9)	0.460	NA	NA	NE	0.445	0.427	NA	NA	NE	0.382**
	Day 36 (Recovery Day 15)	0.432	NA	NA	NE	0.422	0.423	NA	NA	NE	0.417

	Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]	0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Hematology (Continued):										
Red blood cells (10^{12}/L)										
Day 21(End of treatment)	7.778	7.760	7.897	7.707	7.717	7.577	7.552	7.632	7.550	6.684**
Day 30 (Recovery Day 9)	8.705	NA	NA	NE	8.270	8.080	NA	NA	NE	7.064**
Day 36 (Recovery Day 15)	8.082	NA	NA	NE	7.657*	7.815	NA	NA	NE	7.232
Reticulocytes (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	162.54	131.61*	131.21*	122.40*	147.39*	142.97	129.87	132.77	122.28	171.21*
Day 30 (Recovery Day 9)	196.75	NA	NA	NE	192.13	193.65	NA	NA	NE	291.12
Day 36 (Recovery Day 15)	180.10	NA	NA	NE	181.17	163.53	NA	NA	NE	229.50
Red cell distribution width (%)										
Day 21 (End of treatment)	12.17	12.03	11.79	12.04	12.27	11.89	11.69	11.66	11.71	13.02**
Day 30 (Recovery Day 9)	12.58	NA	NA	NE	12.20	12.52	NA	NA	NE	14.66*
Day 36 (Recovery Day 15)	12.90	NA	NA	NE	12.28*	12.33	NA	NA	NE	13.70
White blood cells (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	6.606	6.311	6.390	5.009	6.733	3.700	6.041**	5.796**	5.822**	6.844**
Day 30 (Recovery Day 9)	17.935	NA	NA	NE	17.860	11.188	NA	NA	NE	17.316*
Day 36 (Recovery Day 15)	8.545	NA	NA	NE	4.815*	5.342	NA	NA	NE	3.432*
Neutrophils (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	1.010	0.856	0.759	1.059	1.660*	0.489	0.759**	0.812**	1.202**	3.547**
Day 30 (Recovery Day 9)	1.947	NA	NA	NE	3.868	1.087	NA	NA	NE	5.540**
Day 36 (Recovery Day 15)	1.060	NA	NA	NE	0.808	0.508	NA	NA	NE	0.720*
Monocytes (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	0.133	0.128	0.120	0.120	0.169	0.070	0.123**	0.122**	0.126**	0.291**
Day 30 (Recovery Day 9)	0.303	NA	NA	NE	0.830*	0.168	NA	NA	NE	0.560**
Day 36 (Recovery Day 15)	0.158	NA	NA	NE	0.135	0.090	NA	NA	NE	0.083

	Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]	0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Hematology (Continued):										
Eosinophils (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	0.069	0.049*	0.049*	0.036**	0.024**	0.042	0.041	0.042	0.063	0.070
Day 30 (Recovery Day 9)	0.235	NA	NA	NE	0.258	0.132	NA	NA	NE	0.352*
Day 36 (Recovery Day 15)	0.070	NA	NA	NE	0.075	0.065	NA	NA	NE	0.065
Basophils (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	0.030	0.025	0.031	0.020	0.028	0.018	0.027	0.029	0.027	0.036*
Day 30 (Recovery Day 9)	0.165	NA	NA	NE	0.170	0.105	NA	NA	NE	0.182
Day 36 (Recovery Day 15)	0.032	NA	NA	NE	0.022	0.022	NA	NA	NE	0.013
Large unstained cells (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	0.060	0.068	0.061	0.046	0.071	0.037	0.058	0.062	0.058	0.092*
Day 30 (Recovery Day 9)	0.222	NA	NA	NE	0.215	0.127	NA	NA	NE	0.240
Day 36 (Recovery Day 15)	0.130	NA	NA	NE	0.038**	0.055	NA	NA	NE	0.030
Platelets (10^9/L)										
Day 21 (End of treatment)	1096.9	1047.4	1067.4	1083.7	1100.3	1120.4	1110.9	1050.5	1124.6	1369.0**
Day 30 (Recovery Day 9)	1007.0	NA	NA	NE	1004.5	927.4	NA	NA	NE	1541.5**
Day 36 (Recovery Day 15)	1078.8	NA	NA	NE	1021.8	1151.7	NA	NA	NE	1338.3*
Clinical Chemistry:										
Inorganic phosphorus (mmol/L)										
Day 3	2.755	2.750	2.823	2.931*	3.364**	2.014	2.182	2.101	2.292**	2.788**
Day 21 (End of treatment)	2.100	2.117	2.248	2.256	2.803**	2.116	2.253	2.284	2.690**	2.847**
Day 36 (Recovery Day 15)	2.282	NA	NA	NE	2.047	1.855	NA	NA	NE	2.058
Calcium phosphorus product ($mmol^2/L^2$)										
Day 3	6.611	6.686	6.858	7.179**	8.224**	4.814	5.376	5.036	5.544**	6.791**
Day 21 (End of treatment)	5.047	5.076	5.477	5.403	6.881**	5.263	5.511	5.690	6.666*	6.759*
Day 36 (Recovery Day 15)	5.607	NA	NA	NE	4.972	4.605	NA	NA	NE	5.082

		Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Clinical Chemistry (Continued):											
Albumin (g/L)											
Day 21 (End of treatment)		36.0	35.6	35.2	34.7	33.7**	37.7	37.4	36.9	35.3**	28.9**
Day 36 (Recovery Day 15)		36.2	NA	NA	NE	35.0	40.0	NA	NA	NE	37.3
Alanine aminotransferase (U/L)											
Day 21 (End of treatment)		28.1	26.7	35.9**	37.3**	41.1**	22.1	31.4*	25.2*	38.5**	45.6**
Day 36 (Recovery Day 15)		34.3	NA	NA	NE	31.0	24.7	NA	NA	NE	27.0
Aspartate aminotransferase (U/L)											
Day 21 (End of treatment)		120.6	106.9	117.1	146.6*	156.9**	100.1	115.0	94.1	131.1*	181.7**
Day 36 (Recovery Day 15)		121.0	NA	NA	NE	101.3	98.3	NA	NA	NE	108.5
Urinalysis:											
Total protein excretion (mg/cp)	Day 21	11.78	10.27	11.57	9.08	9.89	1.45	1.20	1.40	1.64	3.80**
	Day 36	12.08	NA	NA	NE	16.83	1.38	NA	NA	NE	2.15
Protein:creatinine ratio											
Day 21 (End of treatment)		1109.0	1051.8	998.4	841.3	939.1	232.4	212.3	234.5	257.4	587.4**
Day 36 (Recovery Day 15)		1079.2	NA	NA	NE	1378.5	200.2	NA	NA	NE	297.2
Macroscopic Examination											
Skin											
Terminal Necropsy	No. examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
Crust		0	0	0	1	3	0	0	0	2	9
Recovery Necropsy	No. examined	6	NA	NA	6	6	6	NA	NA	6	6
Crust		0	NE	NE	0	0	0	NE	NE	0	3

		Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Microscopic Examination:											
Skin											
Terminal Necropsy	No. examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
Acanthosis; localized	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	2	3
	Mild	0	0	0	1	2	0	0	0	0	6
Ulcer; focal	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Ulcer; multifocal	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Recovery Necropsy	No. examined	6	NA	NA	6	6	6	NA	NA	6	6
Acanthosis; localized	Minimal	0	NA	NA	1	0	0	NA	NA	0	1
	Mild	0	NA	NA	0	0	0	NA	NA	0	2
Fibrosis; dermis; localized	Minimal	0	NA	NA	0	0	0	NA	NA	0	1
Ulcer; focal	Mild	0	NA	NA	0	0	0	NA	NA	0	1
Ulcer; multifocal	Mild	0	NA	NA	0	0	0	NA	NA	0	1

		Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Microscopic Examination (Continued):											
Stomach											
Terminal Necropsy	No. examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
Mineralization; glandular region	Minimal	0	0	1	0	1	0	2	2	5	5
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Recovery Necropsy	No. examined	6	NA	NA	6	6	6	NA	NA	6	6
Mineralization; glandular region	Minimal	1	NA	NA	1	0	0	NA	NA	0	2
	Moderate	0	NA	NA	0	1	0	NA	NA	0	0
Liver											
Terminal Necropsy	No. examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
Vacuolation; periportal; multifocal	Minimal	0	2	2	6	6	0	1	3	4	8
	Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Recovery Necropsy	No. examined	6	NA	NA	0	6	6	NA	NA	0	6
Vacuolation; periportal; multifocal	Minimal	0	NA	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	1[d]
Bone Marrow											
Terminal Necropsy	No. examined	10	0	0	0	10	10	10	10	10	9
Hyperplasia, myeloid	Minimal	0	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	1
	Mild	0	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	5
	Moderate	0	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Recovery Necropsy	No. examined	0	NA	NA	0	0	6	NA	NA	0	6
Hyperplasia, myeloid		NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA	0

		Male					Female				
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.016	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625	0.125
Microscopic Examination (Continued):											
Lymph Node - Mandibular/Cervical											
Terminal Necropsy	No. examined	10	0	0	0	10	10	10	10	10	9
Cellularity increased;lymphoplasmacytic	Mild	0	NA	NA	NA	1	0	0	0	1	2
	Moderate	0	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	6
Recovery Necropsy	No. examined	0	NA	NA	0	0	6	NA	NA	0	6
Cellularity increased; lymphoplasmacytic		NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA	0
Lymph Node - Axillary											
Terminal Necropsy	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Cellularity increased; lymphoplasmacytic	Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
	Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1

Key:

a = Doses are expressed in terms of the parent compound.

b = n=2. No or insufficient quantifiable plasma concentration data in the third animal. Data excluded from toxicokinetic comparisons.

c = A female rat given 0.125 mg/kg/day was killed on Day 20 due to progressively worsening exudative skin lesions and body weight loss (0.90X Day 1 values). The skin lesions were first apparent around Day 11 and were described in the clinical observation raw data as scab(s), skin reddening and skin wet. Microscopic findings included minimal localized acanthosis of skin with moderate skin ulceration associated with exudation and the presence of bacteria; marked mineralization in the glandular region of the stomach and minimal hepatocellular necrosis with histiocytic inflammatory infiltrates in the liver. Other microscopic findings were considered secondary to extensive skin disruption observed in this animal and included myeloid hyperplasia of the bone marrow and marked increased cellularity (lymphoplasmacytic) of the axillary and mandibular/cervical lymph nodes.

d = Periportal hepatocellular vacuolation seen in the recovery period was not considered test article-related because of similar incidence and severity between the test-article-treated and control groups.

* = p<0.05. ** = p<0.01.

DMSO = Dimethyl sulfoxide. NA = Not applicable. NC = Not calculable (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC). NE = Not examined.

NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).

2.6.7.7.3. ラット 13 週間経口投与試験

Report Title: GSK1120212B: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study in the Rat with a 4 Week Recovery

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: 091216933

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

Duration of Dosing: Up to 13 weeks
Duration of Recovery: 4 weeks

Study No.: G09108

Initial Age: Approximately 10 to 12 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Report No.: CD2010/00178/00

Date of First Dose: [redacted]20

Vehicle/Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC; Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol P60 and 0.2% w/v Sodium lauryl sulfate (SLS) suspensions

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, macroscopic and microscopic pathology.

Conclusion: Adverse skin findings (acanthosis, ulcer/erosion, exudate/crust and inflammation) were observed in males given ≥0.0625 mg/kg/day and females given ≥0.031 mg/kg/day and were responsible for mortality in rats given ≥0.0625 mg/kg/day and the early termination (Day 50) of high dose male and female rats given 0.125 and 0.0625 mg/kg/day, respectively. Additionally, adverse stomach changes (erosions, hyperplasia, inflammation and glandular dilatation) were observed at all dose levels in males and at ≥0.031 mg/kg/day for females. A low incidence and severity of skin findings was noted in males at 0.031 mg/kg/day but was not considered adverse. All adverse findings had reversed or partially reversed at the end of the recovery period. A maximum tolerated dose (MTD) was established for males at 0.031 mg/kg/day (low dose) and females at 0.031 mg/kg/day (mid dose) based on morbidity and mortality at higher doses. In males there were adverse stomach lesions at all doses and in females there were adverse decreases in the number of corpora lutea in the ovary at all doses; therefore, a no observed adverse effect level (NOAEL) was not determined for either sex. Systemic exposures at the MTD in males (0.031 mg/kg/day) were as follows: mean $AUC_{0\text{-}t}$ of 95.4 ng.h/mL (range 82.0 to 104 ng.h/mL), and a mean C_{max} of 5.34 ng/mL (range 4.57 to 6.45 ng/mL [based on Week 13 values]). Systemic exposures at the MTD in females (0.031 mg/kg/day) were as follows: mean $AUC_{0\text{-}t}$ 158 ng.h/mL, range 132 to 192 ng.h/mL, mean C_{max} 8.03 ng/mL, range 6.79 to 9.91 ng/mL [based on Week 13 values]).

2.6.7.7.3. ラット 13 週間経口投与試験（続き）

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Numbers of Animals:	Main	12	12	12	12	12	12	12	12
	Recovery	6	0	6	6	6	0	6	6
	Toxicokinetic	3	3	3	3	3	3	3	3
AUC_{0-t} (ng.h/mL):	Day 1	NC	NC	33.1	76.5	NC	NC	18.7	49.1
	Week 4	NC	72.7	188	285	NC	80.1	122	287
	Week 13	NC	95.4	277 (n=2)	NA[b]	NC	102 (n=2)	158	NA[b]
C_{max} (ng/mL):	Day 1	NQ	0.635	1.82	4.19	NQ	NC	1.03	2.82
	Week 4	NQ	3.47	10.1	19.3	NQ	3.92	6.63	16.1
	Week 13	NQ	5.34	15.4 (n=2)	NA[b]	NQ	5.30 (n=2)	8.03	NA[b]
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Deaths[c]:	Main	0	0	1	3	0	0	1[a]	3[a]
	Recovery	0	NA	1	0	0	NA	0	1
	Toxicokinetic	0	0	1	0	0	1[a]	0	1[a]
Clinical Observations:		Test article-related clinical signs including skin scabs, skin lesions, dry skin, red skin/fur, thin fur cover and/or hypersensitivity when handled were observed in all GSK1120212-treated groups. The incidence and severity of these findings increased in a dose-dependent fashion. After euthanasia of the high dose males given 0.125 mg/kg/day and females given 0.0625 mg/kg/day on Day 50 (beginning of Week 8), these clinical signs were still observed throughout the treatment period in all remaining GSK1120212-treated groups with a higher incidence in mid dose male and females rats given 0.0625 and 0.031 mg/kg/day, respectively. At the end of the 4 week recovery period, skin findings such as skin scabs and/or red skin were still present in a few mid dose animals but were very slight in nature suggesting partial recovery.							
Body Weight:		Test article-related reduced mean body weight gain was seen beginning between Weeks 3 to 4 and continuing until termination (Week 8, Day 50) for high dose male rats given 0.125 mg/kg/day. The mean body weight gain from Week 3 to Week 7 for high dose males given 0.125 mg/kg/day (unscheduled deaths) was only 12.3 g (0.14X control value of 89.5 g for the same period). Body weight gain for these males was impacted by body weight loss (to 0.87X Week 3 values by Week 7) for 7/18 male rats at this dose. Mild mean body weight loss (0.99X) was seen in high dose female rats given 0.0625 mg/kg/day between Week 6 and Week 7.							

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Body Weight Gain (g):								
Total from Weeks 3 to 7	89.5	78.7	83.4	27.8	30.3	31.0	33.3	20.3
Food Consumption:	Test article-related decreases in mean food consumption (to 0.88X concurrent control means) occurred during the abbreviated 7 week treatment period in the high dose male rats given 0.125 mg/kg/day.							
Hematology:								
Neutrophils (10^9/L)								
Week 4	1.691	1.820	2.398	4.926***	1.369	1.553	1.336	3.285***
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	6.266[b]	NE	NE	NE	3.437[b]
Week 13 (end of treatment)	1.844	2.376	4.363*	NA	1.033	1.312	1.781*	NA
Week 17 (end of recovery)	1.598	NA	2.582	NA	0.897	NA	1.275	NA
Monocytes (10^9/L)								
Week 4	0.247	0.245	0.322	0.571***	0.211	0.238	0.165	0.335
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	0.615[b]	NE	NE	NE	0.297[b]
Week 13 (end of treatment)	0.300	0.303	0.395	NA	0.169	0.152	0.141	NA
Week 17 (end of recovery)	0.317	NA	0.378	NA	0.138	NA	0.150	NA
Lymphocytes (10^9/L)								
Week 4	9.615	7.018**	7.308**	6.319***	7.437	7.062	5.134**	5.270**
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	4.781[b]	NE	NE	NE	2.746[b]
Week 13 (end of treatment)	8.143	6.841	6.178	NA	5.921	5.072	3.473***	NA
Week 17 (end of recovery)	9.390	NA	7.892	NA	5.107	NA	3.872	NA
Red blood cells (10^{12}/L)								
Week 4	8.896	8.908	8.817	8.665	8.466	8.323	8.188	7.882**
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	6.714[b]	NE	NE	NE	6.482[b]
Week 13 (end of treatment)	9.429	9.485	9.062*	NA	8.397	8.263	8.239	NA
Week 17 (end of recovery)	9.620	NA	9.242	NA	8.327	NA	8.008	NA

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Hematology (Continued):								
Hemoglobin (g/L)								
Week 4	165.6	163.2	164.0	159.1	159.3	155.7	155.1	149.4**
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	125.7[b]	NE	NE	NE	129.5[b]
Week 13 (end of treatment)	162.6	161.2	156.5**	NA	153.4	150.3	150.1	NA
Week 17 (end of recovery)	169.8	NA	163.4*	NA	158.7	NA	154.3	NA
Hematocrit (%)								
Week 4	50.19	49.48	50.23	48.89	47.24	47.17	46.21	45.15
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	35.02[b]	NE	NE	NE	35.34[b]
Week 13 (end of treatment)	50.88	50.09	48.85**	NA	46.16	45.71	45.82	NA
Week 17 (end of recovery)	50.30	NA	47.08*	NA	45.10	NA	44.37	NA
Clinical Chemistry:								
Aspartate aminotransferase (U/L)								
Week 4	126.9	139.7	153.7*	182.7***	166.6	172.9	175.5	188.4
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	254.3[b]	NE	NE	NE	239.6[b]
Week 13 (end of treatment)	175.3	184.6	190.3	NA	177.0	143.9	164.9	NA
Week 17 (end of recovery)	144.5	NA	138.4	NA	108.7	NA	168.0*	NA
Alanine aminotransferase (U/L)								
Week 4	47.6	55.1	66.4***	80.8***	47.4	52.2	53.9	75.3***
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	72.0[b]	NE	NE	NE	71.1[b]
Week 13 (end of treatment)	51.2	54.8	63.3**	NA	60.5	51.0	74.0	NA
Week 17 (end of recovery)	53.2	NA	46.4	NA	46.7	NA	63.8	NA

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Clinical Chemistry (Continued):								
Phosphorus (mmol/L)								
Week 4	2.527	2.605	2.878***	3.106***	2.281	2.619*	2.623*	3.056***
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	3.103[b]	NE	NE	NE	2.771[b]
Week 13 (end of treatment)	2.284	2.324	2.484	NA	1.749	1.908	2.030*	NA
Week 17 (end of recovery)	2.072	NA	1.962	NA	1.452	NA	1.405	NA
Creatinine (μmol/L)								
Week 4	39.6	38.0	41.0	40.6	47.2	44.0	47.2	47.0
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	28.1[b]	NE	NE	NE	31.6[b]
Week 13 (end of treatment)	43.0	42.5	47.6	NA	51.5	50.8	49.5	NA
Week 17 (end of recovery)	39.7	-	35.2	NA	48.5	NA	53.0	NA
Total protein (g/L)								
Week 4	66.3	64.8	64.9	64.2	72.8	71.3	69.5*	67.5***
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	59.2[b]	NE	NE	NE	60.7[b]
Week 13 (end of treatment)	72.3	70.6	69.3*	NA	76.0	75.9	76.4	NA
Week 17 (end of recovery)	74.5	-	72.6	NA	76.7	NA	83.0	NA
Albumin (g/L)								
Week 4	43.7	41.3	39.7***	35.2***	49.7	47.7	44.6***	40.8***
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	22.8[b]	NE	NE	NE	31.1[b]
Week 13 (end of treatment)	46.0	43.7	38.1***	NA	52.2	50.7	48.1**	NA
Week 17 (end of recovery)	45.7	-	43.8	NA	52.5	NA	55.2	NA
Potassium (mmol/L)								
Week 4	5.549	5.483	5.873	5.684	5.780	5.974	5.605	5.483
Week 8 (Day 50)	NE	NE	NE	4.862[b]	NE	NE	NE	4.528[b]
Week 13 (end of treatment)	6.119	5.834	5.837	NA	4.982	4.910	4.949	NA
Week 17 (end of recovery)	5.557	-	5.582	NA	4.367	NA	4.565	NA

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Organ Weights[c] (X Control):								
Adrenal								
Absolute								
Week 13 (end of treatment)	0.06271 g	0.96X	1.03X	NA	0.06663 g	1.08X	1.13X	NA
Week 17 (end of recovery)	0.05775 g	NA	1.20X	NA	0.06127 g	NA	1.08X	NA
Relative to Body								
Week 13 (end of treatment)	0.01013 %	1.06X	1.07X	NA	0.02129 %	1.07X	1.14X	NA
Week 17 (end of recovery)	0.00872 %	NA	1.24X	NA	0.01958 %	NA	1.03X	NA
Ovary								
Absolute								
Week 13 (end of treatment)	NA	NA	NA	NA	0.09543 g	0.93X	0.84X	NA
Week 17 (end of recovery)	NA	NA	NA	NA	0.08408 g	NA	0.85X	NA
Relative to Body								
Week 13 (end of treatment)	NA	NA	NA	NA	0.03055%	0.93X	0.84X	NA
Week 17 (end of recovery)	NA	NA	NA	NA	0.02665%	NA	0.81X	NA

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Macroscopic Examination									
(Number of Animals):	Main Study	12	12	13	18[b]	12	12	12	18[b]
Lymph node									
Enlargement		0	1	5	18	0	0	3	17
Lymph nodes - Mandibular									
Enlargement		0	2	7	16	1	1	5	18
Skin miscellaneous									
Scab		1	1	8	17	0	0	7	17
Stomach									
Area depressed		0	3	3	1	1	0	1	0
Foci dark		1	2	3	5	0	0	0	3
Thickening		0	2	5	2	1	1	2	3
Microscopic Examination									
(Number of Animals):	Main Study	12	12	13	18[b]	12	12	12	18[b]
Adrenal	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Hypertrophy/hyperplasia:	Cortical								
	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	5
	Slight	0	0	0	4	0	0	0	3
Bone Marrow	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Hypercellularity: Myeloid	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
	Slight	0	0	2	9	0	0	4	11
	Moderate	0	0	0	1	0	0	1	2
Degeneration/necrosis	Minimal	0	0	3	2	0	0	0	0
	Slight	0	0	4	7	0	0	0	1
	Moderate	0	0	4	7	0	0	0	0
	Marked	0	0	1	0	0	0	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Microscopic Examination (Continued):									
Joint Femorotibial	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Thickening: Physis	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Vacuolation: Periportal	Minimal	6	5	8	14	0	1	2	5
	Slight	0	0	3	1	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Necrosis	Minimal	1	0	0	1	1	0	0	3
	Slight	0	0	0	3	0	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node[d]:	No. examined	0	1	7	18	0	0	3	17
Hyperplasia: Lymphoplasmacytic									
	Minimal	NA	1	1	1	NA	NA	1	1
	Slight	NA	0	3	4	NA	NA	2	9
	Moderate	NA	0	1	5	NA	NA	0	6
	Marked	NA	0	0	6	NA	NA	0	0
Lymph Node Mandibular[d]	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Hyperplasia: Lymphoplasmacytic									
	Minimal	0	0	2	4	0	0	1	7
	Slight	0	0	2	3	0	0	0	6
	Moderate	0	0	0	5	0	0	0	2
	Marked	0	0	0	2	0	0	0	0

			Male				Female			
Dose (mg/kg/day)			0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Microscopic Examination (Continued):										
Ovary		No. examined	NA	NA	NA	NA	12	12	12	18
Cyst		Minimal	NA	NA	NA	NA	0	0	2	1
		Slight	NA	NA	NA	NA	1	3	3	4
Corpora Lutea:	Decreased	Slight	NA	NA	NA	NA	1	0	2	4
		Moderate	NA	NA	NA	NA	0	0	2	4
		Marked	NA	NA	NA	NA	0	2	3	2
Skin[e]		No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Acanthosis		Minimal	0	0	2	5	0	0	0	2
		Slight	0	0	1	10	0	0	1	5
		Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Ulcer/erosion		Minimal	0	0	1	3	0	0	0	1
		Slight	0	0	1	8	0	0	1	5
		Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Exudate/crust		Minimal	0	0	1	5	0	0	0	2
		Slight	0	0	1	8	0	0	1	5
		Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Inflammation:	Acute	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
		Slight	0	0	0	1	0	0	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Microscopic Examination (Continued):									
Skin Miscellaneous[e]:	No. examined	1	1	8	17	0	1	7	17
Acanthosis	Minimal	0	0	1	1	NA	0	0	1
	Slight	1	1	6	7	NA	0	5	8
	Moderate	0	0	1	9	NA	0	2	7
	Marked	0	0	0	0	NA	0	0	1
Ulcer/erosion	Minimal	0	0	0	0	NA	0	0	3
	Slight	0	1	5	6	NA	0	4	4
	Moderate	0	0	1	8	NA	0	2	8
	Marked	0	0	0	1	NA	0	0	1
	Severe	0	0	0	1	NA	0	0	0
Exudate/crust	Minimal	0	0	1	1	NA	0	0	1
	Slight	1	1	6	6	NA	0	5	9
	Moderate	0	0	1	7	NA	0	2	6
	Marked	0	0	0	3	NA	0	0	1
Inflammation: Acute/subacute									
	Minimal	0	0	1	0	NA	0	0	0
	Slight	0	0	2	7	NA	0	0	3
	Moderate	0	0	0	3	NA	0	0	1
Hypotrichosis/alopecia	Slight	0	0	0	6	NA	1	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Microscopic Examination (Continued):									
Spleen	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Hematopoiesis/extramedullary:									
Increased	Minimal	0	0	1	5	0	0	2	0
	Slight	0	0	0	1	1	2	4	3
Stomach	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Mineralization: Glandular mucosa									
	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	5
	Slight	0	0	0	3	0	0	0	3
	Moderate	0	0	1	12	0	0	0	0
	Marked	0	0	0	1	0	0	0	0
Erosion: Squamous mucosa									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	0	0
	Slight	0	0	2	1	0	0	0	0
	Moderate	0	1	4	2	0	0	1	2
	Marked	0	1	0	1	1	0	1	1
Hyperplasia: Squamous mucosa									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	0	0
	Slight	0	1	0	6	0	0	0	1
	Moderate	0	4	2	3	0	0	0	2
	Marked	0	0	4	0	1	0	2	1
Dilatation: Glandular	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	1
	Slight	0	0	1	7	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	2	0	0	0	0

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)		0	0.031	0.0625	0.125	0	0.016	0.031	0.0625
Microscopic Examination (Continued):									
Stomach (continued)	No. examined	12	12	13	18	12	12	12	18
Inflammation:	Squamous mucosa								
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
	Slight	0	1	0	2	0	0	0	1
	Moderate	0	3	3	2	1	0	1	2
	Marked	0	0	2	1	0	0	1	1
	Severe	0	0	1	0	0	0	0	0

Key:

a = The deaths of one toxicokinetic female given 0.016 mg/kg/day, one main study female given 0.031 mg/kg/day, and one main study female and one toxicokinetic female given 0.0625 mg/kg/day were not considered test article-related. The toxicokinetic female given 0.0625 mg/kg/day was replaced by a spare animal on Day 2.

b = As a result of poor and/or deteriorating condition related to skin lesions, all surviving high dose male rats (0.125 mg/kg/day) and high dose female rats (0.0625 mg/kg/day) were euthanized on Day 49 or 50. Clinical pathology parameters from Day 50 (Week 8) were compared to Week 4 control means; however, statistical analysis was not performed.

c = For controls group means are shown, for treated groups X change as compared to controls. Statistical significance is based on actual data not change.

d = The mandibular lymph node was collected and examined from all groups as part of the protocol required tissue list. The tissue “lymph nodes” refers to various lymph nodes collected as a result of macroscopic observations at necropsy.

e = Tissues listed as “skin” were from the standard abdominal section collected and examined from all groups as part of the protocol required tissue list. "Skin miscellaneous” refers to samples collected as a result of macroscopic observations at necropsy.

* = p<0.05. ** = p<0.01. *** = p<0.001.

DMSO = Dimethyl sulfoxide.

NA = Not applicable.

NC = Not calculated (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC).

NE = Not examined.

NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).

Note: Dose is expressed in terms of the parent compound.

2.6.7.7.4. イヌ 3 週間経口投与試験

Report Title: GSK1120212B: 3-Week Oral Toxicity Study in Dogs followed by a 2-Week Recovery Period

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: eE169079

Species/Strain: Dog/beagle

Duration of Dosing: Up to 3 weeks
Duration of Recovery: 2 weeks

Study No.: G07043

Initial Age: Approximately 12.5 to 21.3 months

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Report No.: CD2007/00966/00

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: 1.5% HPMC (Pharmacoat 603) / 5% Mannitol 60 / 0.2% SLS (sodium lauryl sulfate) suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, macroscopic and microscopic observations.

Conclusion: GSK1120212 was given by oral gavage (0.025, 0.038 or 0.075 mg/kg/day for males and 0.015, 0.020 or 0.025 mg/kg/day for females [0.5, 0.75 or 1.5 mg/m^2/day for males and 0.3, 0.4 or 0.5 mg/m^2/day for females]) to dogs for up to 22 days. Two male dogs/group given 0, 0.038 and 0.075 mg/kg/day, and 2 female dogs/group given 0, 0.020 or 0.025 mg/kg/day were designated for a 2 week recovery period. Changes in red cell parameters were seen in males and females at all doses and were fully reversible following a 2 week recovery period. Test article-related microscopic findings were restricted to male dogs given GSK1120212. A dose of ≥0.038 mg/kg/day was not tolerated in males. Three male dogs given 0.075 mg/kg/day were killed on Day 8 (following 7 daily doses) and one male dog given 0.038 mg/kg/day was killed on Day 11 (following 9 daily doses) due to adverse clinical signs. Morbidity in males given ≥0.038 mg/kg/day was considered due to erosive effects in the esophagus and/or gastrointestinal tract; this was accompanied by neutrophilic inflammation and findings in the bone marrow and spleen. These findings were fully reversible following a 2 week recovery period. Male dogs tolerated a dose of 0.025 mg/kg/day (mean AUC_{0-t} 159 ng.h/mL [range of 140 to 192 ng.h/mL], mean C_{max} 9.37 ng/mL [range of 8.50 to 9.93 ng/mL], based on Day 21 values). Females tolerated all doses of GSK1120212 for 22 days and there were no test article-related microscopic observations (at 0.025 mg/kg/day, mean AUC_{0-t} 205 ng.h/mL [range of 129 to 277 ng.h/mL], mean C_{max} 12.3 ng/mL [range of 7.20 to 17.7 ng/mL], based on Day 21 values).

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Numbers of Animals:	Main	3	3	3	3	3	3	3	3
	Recovery	2	0	2	2	2	0	2	2
AUC_{0-t} (ng.h/mL):	Day 1	NC	12.2	27.6	73.2	NC	3.59	17.2	23.8
	Day 21	NC	159	282[b]	NA[c]	NC	120	211	205
C_{max} (ng/mL):	Day 1	NQ	1.70	3.25	7.31	NQ	1.42	2.14	2.48
	Day 21	NQ	9.37	19.0[b]	NA[c]	NQ	7.19	11.6	12.3
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Deaths:		0	0	1	3	0	0	0	0
Clinical Observations - Unscheduled Death Animals:		Test article-related clinical signs (e.g., inappetence, soft/mucoid feces) were seen in 4/5 males given 0.075 mg/kg/day by Day 5, but progressively worsened by Day 8 (additional signs of absent or loose/watery feces, red discharge from penis, unkempt coat and/or delayed capillary refill times). Due to the severity of clinical signs and body weight loss, 3/5 males given 0.075 mg/kg/day were killed on Day 8 (following 7 daily doses). Test article administration was discontinued for the remaining 2 males and the dogs were placed in recovery until Day 22. On Days 6 to 10, 1/5 males given 0.038 mg/kg/day also presented with adverse clinical signs, including subdued behavior, inappetence, absent or mucoid and loose watery feces, brown or red discharge from the penis and discolored red to brownish-red urine, and this dog was killed in moribund condition on Day 11 (following 9 daily doses).							
Clinical Observations - Terminal Necropsy Animals:		The remaining 2 dogs given 0.075 mg/kg/day continued to show adverse clinical signs (e.g., inappetence, subdued behavior, abnormal feces [mucoid, loose/watery and/or absent], red discharge from penis and/or salivation) beyond Day 8 (after dosing was stopped) and supportive care was provided by the veterinary staff between Days 8 and 17. This supportive care included 3 days of Normasol™ injections, 11 doses of Baytril™ (5 to 10 mg/kg) over 10 days and 6 or 7 flushes of the mouth over 5 days with Chlorhexiderm™. By Day 17, these dogs had fully recovered and necropsy was performed on Day 22. There was also evidence of inappetence and/or abnormal feces (absent, mucoid, soft or watery) in male dogs given ≥ 0.025 mg/kg/day GSK1120212 and episodes of salivation in 2/5 male dogs given 0.038 mg/kg/day.							

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Body Weight (kg)[d]:	Day -1	9.680	8.887	9.776	9.696	7.604	7.480	7.552	7.284
	Day 4	9.548	8.687	9.732	9.474	7.636	7.473	7.472	7.252
	Day 8	9.638	8.703	9.544	8.782	7.716	7.433	7.488	7.200
	Day 11	9.666	8.637	9.156	9.035[e]	7.644	7.173	7.464	7.136
	Day 22	9.538	8.747	9.390[b]	9.110[e]	7.652	7.280	7.728	7.248
	Day 36[e]	8.920	NA	9.480	NA	6.920	NA	7.810	7.380
Food Consumption (g)[d]:	Day -5	264.0	273.7	266.4	274.4	217.0	205.0	136.6	211.2
	Day 3	282.8	212.7	234.4	209.2	216.2	180.3	164.8	173.6
	Day 4	266.0	176.0	201.4	177.8	197.2	184.3	152.6	214.8
	Day 10	225.8	185.0	182.8	NA	215.2	201.3	172.8	188.6
	Day 32[e]	254.0	NA	191.5	NA	187.5	NA	283.0	206.5
Hematology[d]:									
Hemoglobin (g/L)	Day -11	182.6	172.7	180.2	169.6	174.0	174.0	164.2	173.4
	Day 8	NE	NE	NE	149.4	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	160.8	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	180.2	157.0	166.5[b]	148.5[e]	166.6	163.3	148.0	167.8
	Day 28[e]	184.5	NA	172.5	NA	162.0	NA	164.0	175.0
	Day 35[e]	183.0	NA	167.0	NA	162.0	NA	172.0	171.5
Red blood cells (10^{12}/L)	Day -11	7.652	7.187	7.610	7.218	7.284	7.177	7.064	7.290
	Day 8	NE	NE	NE	6.370	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	6.836	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	7.518	6.540	7.183[b]	6.180[e]	6.936	6.727	6.306	7.074
	Day 28[e]	7.735	NA	7.435	NA	6.910	NA	6.935	7.425
	Day 35[e]	7.660	NA	7.175	NA	6.840	NA	7.220	7.220

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Hematology[d] (Continued):									
Hematocrit (L/L)	Day -11	0.532	0.500	0.520	0.498	0.502	0.503	0.478	0.504
	Day 8	NE	NE	NE	0.432	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	0.466	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	0.524	0.453	0.480[b]	0.435[e]	0.482	0.470	0.424	0.482
	Day 28[e]	0.535	NA	0.490	NA	0.475	NA	0.470	0.505
	Day 35[e]	0.535	NA	0.480	NA	0.470	NA	0.495	0.495
Reticulocytes (10^9/L)	Day -11	47.34	48.17	34.78	31.36	32.44	36.17	37.42	23.08
	Day 8	NE	NE	NE	7.40	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	13.78	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	43.72	13.83	12.20[b]	5.90[e]	24.08	10.77	9.16	11.68
	Day 28[e]	59.45	NA	69.00	NA	41.45	NA	72.20	47.85
	Day 35[e]	39.35	NA	58.05	NA	25.10	NA	100.30	45.85
White blood cells (10^9/L)	Day -11	8.182	9.257	7.058	7.124	7.680	7.647	7.144	7.404
	Day 8	NE	NE	NE	17.002	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	12.474	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	8.314	12.607	10.555[b]	8.180[e]	8.760	8.553	8.422	10.202
	Day 28[e]	8.495	NA	7.725	NA	8.730	NA	8.365	10.180
	Day 35[e]	9.105	NA	7.335	NA	8.700	NA	7.970	11.915
Neutrophils (10^9/L)	Day -11	5.338	5.920	4.348	4.322	4.792	4.290	4.268	4.250
	Day 8	NE	NE	NE	13.320	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	8.820	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	5.100	8.263	6.430[b]	4.790[e]	5.506	4.690	4.810	5.830
	Day 28[e]	5.485	NA	4.245	NA	5.390	NA	5.085	5.990
	Day 35[e]	5.760	NA	4.110	NA	5.380	NA	4.875	7.090

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Hematology[d] (Continued):									
Monocytes (10^9/L)	Day -11	0.286	0.367	0.274	0.332	0.192	0.223	0.242	0.240
	Day 8	NE	NE	NE	1.128	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	0.592	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	0.282	0.483	0.388[b]	0.365[e]	0.268	0.260	0.274	0.408
	Day 28[e]	0.335	NA	0.330	NA	0.305	NA	0.235	0.360
	Day 35[e]	0.325	NA	0.325	NA	0.235	NA	0.250	0.470
Clinical Chemistry[d]:									
Alkaline phosphatase (U/L)	Day -11	30.4	34.3	35.2	47.8	43.2	38.3	40.4	44.4
	Day 8	NE	NE	NE	115.0	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	57.0	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	27.0	43.3	47.5[b]	68.5[e]	45.2	45.0	48.2	55.6
	Day 35[e]	23.5	NA	25.5	NA	39.0	NA	61.0	40.5
Total bilirubin (μmol/L)	Day -11	2.28	1.90	2.18	1.76	2.32	2.17	2.40	1.96
	Day 8	NE	NE	NE	2.56	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	2.14	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	2.00	1.27	1.33[b]	1.15[e]	2.36	1.53	1.82	1.56
	Day 35[e]	1.60	NA	1.35	NA	1.75	NA	1.50	1.30
Glutamate dehydrogenase (U/L)	Day -11	4.00	5.00	3.80	4.00	4.60	5.67	3.80	5.20
	Day 8	NE	NE	NE	4.20	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	6.00	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	3.40	3.67	5.00[b]	9.50[e]	4.20	5.67	5.40	6.20
	Day 35[e]	2.50	NA	2.50	NA	4.50	NA	4.00	5.50

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Clinical Chemistry[d] (Continued):									
Alanine aminotransferase (U/L)	Day -11	35.2	41.0	42.0	36.2	30.0	28.7	26.0	39.0
	Day 8	NE	NE	NE	26.2	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	41.8	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	33.0	40.0	50.8[b]	56.5[e]	29.4	31.7	33.4	43.4
	Day 35[e]	50.0	NA	41.5	NA	32.0	NA	35.0	52.0
Total cholesterol (mmol/L)	Day -11	4.116	2.707	3.892	3.506	4.050	4.540	4.936	3.828
	Day 8	NE	NE	NE	6.636	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	5.166	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	3.816	2.877	3.975[b]	5.195[e]	3.850	4.317	5.148	4.178
	Day 35[e]	3.685	NA	3.745	NA	4.515	NA	5.100	2.590
Triglycerides (mmol/L)	Day -11	0.416	0.357	0.424	0.328	0.440	0.447	0.492	0.354
	Day 8	NE	NE	NE	0.546	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	0.370	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	0.412	0.323	0.395[b]	0.625[e]	0.408	0.443	0.444	0.400
	Day 35[e]	0.410	NA	0.325	NA	0.395	NA	0.415	0.265
Albumin (g/L)	Day -11	37.0	34.0	36.0	35.2	35.2	34.7	34.2	35.8
	Day 8	NE	NE	NE	29.8	NE	NE	NE	NE
	Day 11	NE	NE	32.0	NE	NE	NE	NE	NE
	Day 18	36.2	28.7	31.3[b]	26.5[e]	33.8	32.0	31.4	32.8
	Day 35[e]	35.5	NA	33.0	NA	34.5	NA	33.5	32.0

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]	0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Macroscopic Examination, Unscheduled Deaths (Number of Animals):	0	0	1	3	0	0	0	0
Colon								
Contents discolored, mucosa, red	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Duodenum								
Discolored, mucosa, red, several; moderate	NA	NA	0	2	NA	NA	NA	NA
Jejunum								
Discolored, mucosa, brown	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Esophagus								
Discolored, mucosa, red, multifocal	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Rectum								
Discolored, mucosa, red, multifocal	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Stomach								
Discolored, mucosa; red; mild - fundic region	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Discolored, glandular region; red; several; mild - pyloric region	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Discolored, mucosa; red; mild - cardia and pyloric regions	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Microscopic Examination, Unscheduled Deaths (Number of Animals):		0	0	1	3	0	0	0	0
Adrenals									
Hypertrophy; zona fasciculata	moderate	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Bone Marrow									
Hyperplasia, myeloid	minimal	NA	NA	0	3	NA	NA	NA	NA
Cecum									
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Lymphoid depletion; GALT	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Colon									
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa/submucosa	moderate	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Lymphoid depletion; GALT	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Duodenum									
Inflammation; neutrophilic; mucosa	mild	NA	NA	0	3	NA	NA	NA	NA

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Microscopic Examination, Unscheduled Deaths (Number of Animals):		0	0	1	3	0	0	0	0
Esophagus									
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa/submucosa	mild	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Ileum									
Inflammation; neutrophilic and erosive; transmural	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Jejunum									
Inflammation; neutrophilic; mucosa	mild	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Liver									
Sinus neutrophilia, centrilobular	minimal	NA	NA	1	1	NA	NA	NA	NA
	mild	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Kupffer cell activation	mild	NA	NA	1	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Hyperplasia; bile duct	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Pigment; hepatocyte	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Lymph Node - Mandibular/Cervical									
Sinus neutrophilia	minimal	NA	NA	1	1	NA	NA	NA	NA

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Microscopic Examination, Unscheduled Deaths (Number of Animals):		0	0	1	3	0	0	0	0
Rectum									
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Inflammation; neutrophilic and erosive; mucosa/submucosa	moderate	NA	NA	1	1	NA	NA	NA	NA
Lymphoid depletion; GALT	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Spleen									
Sinus neutrophilia; red pulp	minimal	NA	NA	1	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	2	NA	NA	NA	NA
Stomach									
Inflammation; neutrophilic and erosive, mucosa; fundic region	moderate	NA	NA	1	0	NA	NA	NA	NA
Inflammation; neutrophilic and erosive, mucosa; pyloric region	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Thymus									
Lymphoid depletion	minimal	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
	moderate	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA
Tongue									
Inflammation; neutrophilic; perivascular; mucosa/submucosa	mild	NA	NA	0	1	NA	NA	NA	NA

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.025	0.038	0.075	0	0.015	0.020	0.025
Microscopic Examination, Terminal Necropsy (Number of Animals):		3	3	2	0	3	3	3	3
Bone Marrow									
Hyperplasia, myeloid	minimal	0	0	1	NA	0	0	0	0
Spleen									
Sinus neutrophilia; red pulp	minimal	0	0	2	NA	0	0	0	0
Microscopic Examination, Recovery Necropsy (Number of Animals):		2	0	2	2	2	0	2	2
Thymus									
Lymphoid depletion	moderate	0	NA	0	2	0	NA	0	0

Key:
a = Doses are expressed in terms of the parent compound.
b = n=4. Dog D07M-2596 received only 9 daily doses on Days 1 to 9 and was killed and necropsied on Day 11.
c = The last day of dosing for these animals was Day 7.
d = Group means are shown.
e = n=2.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
GALT = Gut associated lymphoid tissue.
NA = Not applicable.
NC = Not calculated (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC).
NE = Not examined.
NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).

2.6.7.7.5. イヌ 13 週間経口投与試験

Report Title: GSK1120212B: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study in the Beagle Dog with a 4 Week Recovery

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: 091216933

Species/Strain: Dog/beagle

Duration of Dosing: Up to 13 weeks
Duration of Recovery: 4 weeks

Study No.: G09109

Initial Age: Approximately 11 to 12 months

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Report No.: CD2010/00179/00

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

Vehicle/Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC; Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol P60 and 0.2% w/v Sodium lauryl sulfate (SLS) suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, macroscopic and microscopic observations.

Conclusion: GSK1120212 was administered to male and female beagle dogs (4 or 6/sex/group) orally by gavage for up to 13 weeks as once daily doses of 0 (vehicle), 0.0075, 0.015 or 0.03/0.023 mg/kg/day followed by a 4 week recovery period. A dose of 0.03 mg/kg/day was not tolerated for longer than 12 days due to severe skin lesions and/or gastrointestinal toxicity characterized by body weight loss, reductions in food consumption and/or abnormal feces, and dosing was suspended. One male dog given 0.03 mg/kg/day was killed on Day 14 (following 12 daily doses) in moribund condition which was attributed to ulcerations/erosions in the digestive tract associated with neutrophilic inflammation or infiltrates in the digestive tract, lymph nodes and spleen and myeloid hyperplasia in the bone marrow. The remaining dogs recovered and dosing resumed at the reduced dose of 0.023 mg/kg/day for Weeks 4 to 13, at which time there were no adverse findings noted. Thus, the no observed adverse effect level (NOAEL) was considered to be 0.023 mg/kg/day. Week 13 gender averaged (male and female combined) toxicokinetic values at 0.023 mg/kg/day were as follows: mean $AUC_{0\text{-}t}$ 139 ng.h/mL (range 113 to 197 ng.h/mL), mean C_{max} 9.10 ng/mL (range 6.73 to 11.7 ng/mL).

		Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]		0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]	0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]
Numbers of Animals:	Main	4	4	4	4	4	4	4	4
	Recovery	2	0	2	2	2	0	2	2
AUC_{0-t} (ng.h/mL):	Day 1	NC	NC	2.96	28.9/NA	NC	NC	6.98	33.3/NA
	Week 4	NC	46.0	94.5	NA/131	NC	60.7	116	NA/177
	Week 13	NC	45.6	95.5	NA/128	NC	51.8	107	NA/150
C_{max} (ng/mL):	Day 1	NQ	0.838	1.57	4.63/NA	NQ	0.870	2.44	5.42/NA
	Week 4	NQ	2.55	5.45	NA/8.91	NQ	3.56	7.73	NA/12.0
	Week 13	NQ	2.32	5.15	NA/8.42	NQ	2.71	7.24	NA/9.78
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Deaths:		0	0	0	1	0	0	0	0
Noteworthy Findings for the Non-Tolerated Dose of 0.03 mg/kg/day:		A dose of 0.03 mg/kg/day was poorly tolerated with severe skin lesions (scabs or lesions with associated skin redness) and gastrointestinal toxicity characterized by body weight loss, reductions in food consumption and/or abnormal feces. Dosing of this group was stopped on Day 11 (main study females) or Day 12 (main study males and all recovery animals). One male (404) given 0.03 mg/kg/day was more severely affected. From Day 7, this animal experienced a gradual decline in food consumption (average of <50 g/day in Week 2) with an associated body weight loss of 1.3 kg from Day 4 to Day 14. Clinical signs of gastrointestinal toxicity including red/black feces, liquid feces, decreased fecal output, salivation, red/yellow vomitus began on Day 11. Additional clinical signs included a skin lesion in the prepucial area, red gums, weakness, dehydration, decreased activity, hematuria and increased rectal temperature of 40°C. This dog received veterinary treatment [Zantac, 0.7 mL twice daily subcutaneously; Baytril, 1.8 mL (conc. 50 mg/mL) once daily orally; maximum calorie diet (60 mL once or twice daily by oral gavage; Lactated Ringers solution, 20 mL once daily subcutaneously] but continued to worsen and was euthanized on Day 14. Morbidity was attributed to ulcerations/erosions throughout the digestive tract with associated neutrophilic inflammation or infiltrates in several organs including the cecum, rectum, lymph nodes (mandibular and mesenteric), gut associated lymphoid tissue (GALT) of the ileum and spleen. Secondary responses to the inflammation included myeloid hyperplasia in the bone marrow with increased circulating white blood cell count (3.01X baseline), primarily due to increased neutrophils (4.20X baseline) and monocytes (3.46X baseline) on Day 12. Lymphoid atrophy was seen in the thymus and GALT of the ileum and was likely a secondary change due to stress.							

	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)[a]	0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]	0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]
Noteworthy Findings for the Non-Tolerated Dose of 0.03 mg/kg/day (Continued):	Increased alkaline phosphatase (1.78X baseline), triglycerides (1.55X baseline) and cholesterol (1.65X baseline) and decreased glucose (0.51X baseline) were noted on Day 12 and were likely due to the poor clinical condition of this animal. GSK1120212 plasma concentration from a Day 13 trough blood sample from this animal was 2- to 4-fold higher than others in the same group. In the remaining dogs given 0.03 mg/kg/day, skin lesions, fecal abnormalities and/or reduced food consumption generally resolved during a 10 day off-drug period which allowed restarting dosing at 0.023 mg/kg/day on Day 21 for main study females and Day 22 for main study males and all recovery animals. Prior to resuming dosing, GSK1120212 plasma concentrations in this group had declined to levels that ranged from not quantifiable to 0.630 ng/mL in males and not quantifiable to 0.916 ng/mL in females.							
Noteworthy Findings - Terminal/Recovery Animals: Clinical Observations:	Miscellaneous skin scabs or lesions with associated skin redness were seen up to Week 4 in dogs given 0.023 mg/kg/day, but were attributed to the non-tolerated dose of 0.03 mg/kg/day as determined by their onset and since they generally resolved during the 10 day dose-free holiday or after the reduction in dose.							
Hematology:								
Red blood cells (10^{12}/L)								
Pretreatment (baseline)	6.727	6.015	6.363	6.163	6.403	6.413	6.363	5.908
Week 4	6.443	5.643	6.103	5.512	6.217	6.105	5.918	5.573
Week 13 (end of treatment)	7.478	6.290	6.135	5.812	6.768	7.028	6.613	5.812
Week 17 (end of recovery)	7.220	NA	6.455	6.655	6.950	NA	6.960	6.335
Hemoglobin (g/L)								
Pretreatment (baseline)	154.3	140.0	145.2	142.5	148.5	150.8	144.3	136.3
Week 4	148.7	131.8	140.8	127.4	143.0	142.3	134.5	128.8
Week 13 (end of treatment)	170.5	143.8	138.7	135.0	156.3	166.5	151.3	135.2
Week 17 (end of recovery)	170.5	NA	145.0	156.5	159.5	NA	159.0	148.5

Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]	0	0.0075	0.015	0.03/0.023[b]
Hematology (Continued):								
Hematocrit (%)								
Pretreatment (baseline)	43.77	39.83	41.80	41.20	41.57	41.90	40.98	38.78
Week 4	42.98	38.30	40.23	37.28	40.73	40.35	38.28	36.78
Week 13 (end of treatment)	50.20	42.53	40.88	39.62	45.03	47.30	43.30	38.75
Week 17 (end of recovery)	47.45	NA	41.60	44.65	44.90	NA	45.90	42.45
Reticulocytes (10^9/L)								
Pretreatment (baseline)	24.85	16.40	18.65	22.85	25.08	22.73	25.83	23.85
Week 4	23.65	20.83	20.10	28.18	31.77	30.70	12.37	16.62
Week 13 (end of treatment)	39.17	27.30	20.80	23.24	40.38	45.75	23.48	16.38
Week 17 (end of recovery)	22.05	NA	12.50	60.20	29.20	NA	23.10	20.35
Clinical Chemistry:								
Albumin (g/L)								
Pretreatment (baseline)	35.5	34.8	35.7	34.7	34.8	36.0	35.2	34.2
Week 4	35.5	32.3	32.7	30.0	33.5	31.8	31.8	31.3
Week 13 (end of treatment)	35.7	31.5	31.7	30.0	34.0	33.3	31.5	30.8
Week 17 (end of recovery)	37.0	NA	36.5	34.0	36.0	NA	36.5	35.5

Key:

a = Doses expressed in terms of parent compound, GSK1120212.

b = Dosing of 0.03 mg/kg/day was stopped on Day 11 for the main study female animals and on Day 12 for the main study and recovery male animals and recovery female animals. Dosing resumed at a lower dose of 0.023 mg/kg/day on Day 21 for the main study female animals and on Day 22 for the main study and recovery male animals and recovery female animals. Week 4 and Week 13 correspond to Week 1 and Week 10, respectively, for this group relative to the start of the lowered dose of 0.023 mg/kg/day.

DMSO = Dimethyl sulfoxide.

NA = Not applicable.

NC = Not calculated (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC).

NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).

2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: GSK1120212B: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*

Test Compound: GSK1120212B (DMSO solvate; non-micronized)
Batch No.: 071131978 (PAD1000107)
Study No.: V27490
Report No.: WD2007/00304/00

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells

No. of Independent Assays: 2

Strain: *S. typhimurium* and *E. coli*

No. of Replicate Plates: 3 (6 vehicle control, 3 positive control)

Metabolising System: Aroclor-induced rat liver S9-mix containing 50 µL S9 fraction/plate (final)

Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO or water

GLP Compliance: Yes

Treatment: Plate incorporation for 3 days

Date of Treatment: [redacted]

Cytotoxic Effects: No clear evidence of bactericidal activity observed

Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Compound	Concentration (μg/plate)[a]	Main Plate Incorporation (Ames) Test 1 Mean Number of Revertant Colonies Per Plate				
			S. Typhimurium				*E. coli*
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Activation	DMSO	100 μL/plate	23	123	17	15	152
	GSK1120212B	5	25	150	15	17	155
	GSK1120212B	15	25	133	24	15	171
	GSK1120212B	50	17	127	22	16	219
	GSK1120212B	150	23	152	16	15	204
	GSK1120212B	500	25[c]	134[c]	22[c]	16[c]	162[c]
	GSK1120212B	1500	24[c]	148[c]	22[c]	17[c]	181[c]
	GSK1120212B	2500	22[c]	156[c]	18[c]	11[c]	142[c]
	2-nitrofluorene	5	1217[b]	NT	NT	NT	NT
	Sodium azide	2	NT	1207[b]	807[b]	NT	NT
	9-aminoacridine	50	NT	NT	NT	304[b]	NT
	4-nitroquinoline-1-oxide	2	NT	NT	NT	NT	1905[b]

Key:
a = All concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = ≥ 2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* pKM101 and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.
c = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NT = Not tested.

Metabolic Activation	Test Compound	Concentration (μg/plate)[a]	Main Plate Incorporation (Ames) Test 1 Mean Number of Revertant Colonies Per Plate				
			S. Typhimurium				*E. coli*
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* pKM101
With Activation	DMSO	100 μL/plate	39	137	18	23	219
	GSK1120212B	1.5	45	146	20	24	223
	GSK1120212B	5	37	168	25	23	237
	GSK1120212B	15	46	158	25	20	232
	GSK1120212B	50	44	187	20	21	228
	GSK1120212B	150	49	152	19	25	224
	GSK1120212B	500	36[c]	136[c]	25[c]	15[c]	206[c]
	GSK1120212B	1500	32[c]	158[c]	14[c]	13[c]	206[c]
	Benzo[a]pyrene	10	533[b]	NT	NT	NT	NT
	2-aminoanthracene	5	NT	2110[b]	330[b]	146[b]	NT
	2-aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	1352[b]

Key:
a = All concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = ≥ 2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* pKM101 and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.
c = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NT = Not tested.

Metabolic Activation	Test Compound	Concentration (μg/plate)[a]	Main Plate Incorporation (Ames) Test 2 Mean Number of Revertant Colonies Per Plate				
			S. Typhimurium				*E. coli*
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Activation	DMSO	100 μL/plate	23	135	14	19	160
	GSK1120212B	1.5	25	109	16	19	165
	GSK1120212B	5	22	116	13	16	149
	GSK1120212B	15	24	116	14	21	159
	GSK1120212B	50	30	114	13	16	179
	GSK1120212B	150	25[c]	110[c]	16[c]	16[c]	174[c]
	GSK1120212B	500	30[c]	117[c]	19[c]	22[c]	166[c]
	GSK1120212B	1500	30[c]	122[c]	13[c]	19[c]	173[c]
	2-nitrofluorene	5	1465[b]	NT	NT	NT	NT
	Sodium azide	2	NT	1282[b]	872[b]	NT	NT
	9-aminoacridine	50	NT	NT	NT	428[b]	NT
	4-nitroquinoline-1-oxide	2	NT	NT	NT	NT	2147[b]

Key:
a = All concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* pKM101 and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.
c = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NT = Not tested.

Metabolic Activation	Test Compound	Concentration (μg/plate)[a]	Main Plate Incorporation (Ames) Test 2 Mean Number of Revertant Colonies Per Plate				
			S. Typhimurium				*E. coli*
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* pKM101
With Activation	DMSO	100 μL/plate	36	127	19	20	220
	GSK1120212B	1.5	40	127	23	23	215
	GSK1120212B	5	38	114	18	23	231
	GSK1120212B	15	40	116	14	21	223
	GSK1120212B	50	34	119	17	23	206
	GSK1120212B	150	36[c]	123[c]	19[c]	22[c]	225[c]
	GSK1120212B	500	39[c]	130[c]	13[c]	20[c]	210[c]
	GSK1120212B	1500	35[c]	129[c]	14[c]	10[c]	197[c]
	Benzo[a]pyrene	10	487[b]	NT	NT	NT	NT
	2-aminoanthracene	5	NT	2099[b]	426[b]	133[b]	NT
	2-aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	1145[b]

Key:
a = All concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* pKM101 and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.
c = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NT = Not tested.

2.6.7.8.2. マウスリンフォーマ TK 試験

Report Title: GSK1120212B: In Vitro Mutation Assay with L5178Y Mouse Lymphoma Cells at the TK Locus

Test Compound: GSK1120212B (DMSO solvate; non-micronized)
Batch No.: 071131978 (PAD1000107)

Test for Induction of: Forward mutation at the $TK^{+/-}$ locus

No. of Independent Tests: 3

GSK Ref. No.: V27491
Report No.: WD2007/00303/00

Cell Type: L5178Y mouse lymphoma cells

No. of Replicate Cultures: 4 (vehicle); 2 (treatment and positive controls)

Metabolising System: Aroclor-induced rat liver S9-mix. Final concentration of S9 fraction in cultures = 2% v/v.

Vehicles: Test Article: DMSO. **Positive Controls:** DMSO

GLP Compliance: Yes

Treatment: 3 hour treatment with and without S9-mix; 24 hour treatment without S9-mix.

Date of Treatment: [redacted]

Cytotoxic Effects: Relative total growth (RTG) was reduced to 16% at 60 μg/mL for 3 hour treatment in the absence of S9-mix, and 13% at 45 μg/mL for 24 hour treatment in the absence of S9-mix. No marked cytotoxicity occurred for 3 hour treatment in the presence of S9-mix.

Genotoxic Effects: None

2.6.7.8.2. マウスリンフォーマ TK 試験（続き）

Test Article	Dose Level [a] µg/mL	3 Hour Treatment -S9-Mix		3 Hour Treatment +S9-Mix		24 Hour Treatment -S9-Mix	
		Mean Relative Total Growth (%)	Mean Mutant Frequency ($x10^{-6}$)	Mean Relative Total Growth (%)	Mean Mutant Frequency ($x10^{-6}$)	Mean Relative Total Growth (%)	Mean Mutant Frequency ($x10^{-6}$)
DMSO	0	100	73.27	100	69.17	100	55.80
GSK1120212B	5	102	83.11	NT	NT	106	47.91
GSK1120212B	10	NE	NE	NT	NT	91	78.22
GSK1120212B	20	NE	NE	95	81.78	82	57.59
GSK1120212B	30	NE	NE	NT	NT	44	48.79
GSK1120212B	35	85	67.56	NT	NT	40	51.86
GSK1120212B	40	67	69.27	113	62.71	26	55.06
GSK1120212B	45	25	93.09	NT	NT	13	62.71
GSK1120212B	50	22	57.40	NT	NT	NE	NE
GSK1120212B	60	16	100.33	67	68.55	NE	NE
GSK1120212B	90	NT	NT	51	72.72	NT	NT
GSK1120212B	120	NT	NT	48	79.58	NT	NT
GSK1120212B	150	NT	NT	59[b]	60.21[b]	NT	NT
Methyl methane sulphonate	15	51	634.85	NT	NT	NT	NT
Methyl methane sulphonate	5	NT	NT	NT	NT	42	679.06
Benzo[a]pyrene	2	NT	NT	67	463.19	NT	NT

Key:
a = All concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = Precipitation observed by eye at the end of treatment.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
NE = Not evaluated.
NT = Not tested.

2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1. ラット小核試験

Report Title: GSK1120212B: Oral Micronucleus Assay in Rats

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: eE169079
Study No.: R27719
GSK Document No.: WD2007/01240/01

Test for Induction of: Structural chromosomal damage and/or aneuploidy
Species/Strain: Rat: (Hsd:SD)
Approximate Age: 7 weeks at time of dosing

Treatment Schedule: Two doses 24 hours apart (vehicle & test compound). Positive control dosed once only.
Sampling Time: 24 hours after final dose
Method of Administration: Oral by gavage
Dose Volume: 5 mL/kg (10 mL/kg for positive control)

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCE)
No. of Cells Analysed/Animal: 2000 PCE

Vehicle/Formulation:
Test Article: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, P603), 5% w/v Mannitol 60 and 0.2% w/v Sodium dodecyl sulfate (SDS) suspension
Positive control: Sterile water for irrigation USP

GLP Compliance: Yes
Date of first Dose: [redacted]

Special Features: None

Toxic/Cytotoxic Effects: Clinical observations included various staining of the fur (red and brown), piloerection, decreased activity and suspected slight dehydration. There was a group mean body weight loss of approximately 7 and 10% in males treated at 1 and 2 mg/kg/day, respectively.

Genotoxic Effects: Negative

Evidence of Exposure: Mean plasma concentration (range: 99.575 to 131.325 and 232.001 to 277.721 ng/mL for animals treated at 1 and 2 mg/kg/day, respectively).

2.6.7.9.1. ラット小核試験（続き）

Test Compound	Dose[a] (mg/kg/day)	No. of Animals Analysed	Group Mean % PCE	Group Mean MPCE[b]
Vehicle	0	7M	44	1.9
GSK1120212B	1	7M	45	2.1
GSK1120212B	2	7M	38	2.1
Cyclophosphamide	20	3M	37	41.3

Key:
a = All doses/concentrations are expressed in terms of the parent compound.
b = Group mean number of micronucleated polychromatic erythrocytes (MPCE) per 2000 PCE analyzed.
DMSO = Dimethyl sulfoxide. M = Males.

2.6.7.10. がん原性試験

実施せず。

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals/ Group	Noteworthy Findings	Report No. (Study No)
Dutch Belted rabbits [Haz:(DB)SPF]	Oral gavage (1.5% HPMC, 5% Mannitol, 0.2% SLS) Solution	13 days (Days 7 to 19 pc)	(Round 1)		A dose level of 0.616/0.308 mg/kg/day was not tolerated, with 1 of 4 rabbits euthanized on Day 14 pc due to body weight loss and inappetance. In addition, 100% litter resorption occurred at 0.616/0.308 mg/kg/day, abortion at ≥0.308/0.154 mg/kg/day, reduced mean fetal body weight at ≥0.154/0.077 mg/kg/day and reduced mean body weight gain at ≥0.077/0.0385 mg/kg/day.	2011N117363_01 (D11104)
			0	2F		
			0.077/0.0385[a]	4F		
			0.154/0.077[a]	4F		
			(Round 2)			
			0	2F		
			0.077/0.0385[a]	4F		
			0.308/0.154[a]	4F		
			0.616/0.308[a]	4F		

Key:

a = A single loading dose on Day 7 pc followed by repeat maintenance doses: loading dose/maintenance dose
DMSO = Dimethyl sulfoxide.
HPMC = Hydroxypropylmethylcellulose.
SLS = Sodium lauryl sulfate.
F = Females.
pc = postcoitum.

Note: Doses are expressed in terms of the parent compound.

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

実施せず。

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. ラット胚・胎児発生に関する試験

Report Title: GSK1120212B: Oral Embryo-Fetal Development Study in Rats

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: 091450

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes

Duration of Dosing: Days 6 through 17 pc

Study No.: G10218

Day Sperm/Plug Present: Day 0 of postcoitum (pc)

Route/Frequency: Oral gavage , once daily

Report No.: 2010N109544_02

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

Day of C-Section: Day 21 pc

Initial Age: Approximately 10 weeks

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle / Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol 60 and 0.2% w/v Sodium lauryl sulfate (SLS) suspension

GLP Compliance: Yes

Special Features: A main study was performed followed by a study to assess tolerability at a higher dose (due to the minimal maternal toxicity observed in the main study). Additional groups for toxicokinetic analysis (non-pregnant females) were added to the test-article treatment groups.

No Observed Adverse Effect Level:

F_1 Litters: 0.062/0.016 mg/kg/day

Data Collected: F_0 females: Mortality, clinical observations, body weight, food consumption, necropsy, uterine weight and corpora lutea; F_1 litters: Implantations, resorptions, live and dead fetuses, fetal weight, sex, and placental and fetal morphology (external, visceral and skeletal).

Conclusion: A dose-responsive decrease in mean maternal body weight gain occurred between Days 6 and 9 pc at all dose levels with decreased maternal food consumption evident at 0.375/0.125 mg/kg/day during the same interval. Decreased mean fetal body weights occurred at ≥0.094/0.031 mg/kg/day. There were no test article-related fetal malformations at any dose. Based on the decreased mean fetal body weights, the no observed adverse effect level (NOAEL) for rat embryofetal development is 0.062/0.016 mg/kg/day.

Dose (mg/kg)[a]		0 (Control)	0.062/0.016	0.094/0.031	0.125/0.062	0	0.375/0.125
Toxicokinetics (Day 1 of dosing, AUC_{0-t} (ng.h/mL))		NA	52.3	110	149	NA	684
Dams:	No. Animals/Group	22	22	22	22	4	4
	No. Pregnant	21	22	21	22	4	4
	No. Pregnant Evaluated	21	22	21	22	4	4
	No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0	0
	Clinical Observations:						
	Scabs	0	0	0	2	0	3
	Necropsy Observations	No test article-related findings					
	Body Weight Gain (Days 6 to 9 pc)[b]	22.51 g	0.69X*	0.63X*	0.61X*	19.03 g	0.59X
	Body Weight Gain (Days 12 to 15 pc)[b]	18.13 g	1.08X	1.10X	1.07X	18.05 g	0.73X
	Body Weight Gain (Days 6 to 18 pc)[b]	98.77 g	0.93X	0.91X	0.90X	91.43 g	0.90X
	Food Consumption (Days 6 to 9 pc)[b]	67.90 g	0.95X	0.94X	0.94X	70.00 g	0.79X
	Food Consumption (Days 6 to 18 pc)[b]	298 g	0.97X	0.94X	0.96X	298 g	0.91X
	Mean No. Corpora Lutea	13.4	12.7	13.7	12.9	12.5	14.0
	Mean No. Implantations	13.0	11.7	13.0	12.3	12.0	13.3
	Mean % Pre-Implantation Loss	2.96	6.88	5.16	4.47	3.57	5.27
Litters:	No. Litters Evaluated	21	22	21	22	4	4
	Mean No. Live Fetuses	12.4	10.9	12.1	11.3	10.5	9.8
	Mean Total Post-Implantation Loss (%)	3.65	7.02	6.65	8.86	12.69	26.22
	Mean Fetal Body Weight (g) - Males	5.85	5.82	5.58*	5.58*	5.95	4.62
	Mean Fetal Body Weight (g) - Females	5.50	5.47	5.33	5.29	5.62	4.33
	% Male Fetuses	50	50	48	51	50	55
	Fetal Malformations or Variations:						
	External, Visceral and Skeletal	No test article-related findings					

Key:
a = A single loading dose on Day 6 pc followed by repeat maintenance doses on Days 7 through 17 pc: loading dose / maintenance dose.
b = For controls, group means are shown. For treated groups, change from controls is shown.
Method of fetal evaluation [external, visceral, skeletal].
* = Statistical significance ($p \leq 0.05$) is based on raw data (not on the change from controls).
DMSO = Dimethyl sulfoxide. pc = postcoitum. NA = Not applicable.

2.6.7.13.2. ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Report Title: GSK1120212B: Oral Embryo Fetal Development Study in Rabbits

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: 091450
Study No.: G11166
Report No.: 2011N124059_00

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Day of Mating: Day 0 postcoitum (pc)
Species/Strain: Dutch Belted rabbit [Haz:(DB)SPF]
Initial Age: 6 months
Date of First Dose: Approximately [redacted]20[redacted]

Duration of Dosing: Days 7 to 19 pc
Day of C-Section: Day 29 pc
Route/Frequency: Oral gavage, once daily
Vehicle/Formulation: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, Pharmacoat 603), 5% w/v Mannitol and 0.2% Sodium lauryl sulfate (SLS) suspension

GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
F_1 Litters: Not determined

Data Collected: F_0 females: Mortality, clinical observations, body weight, food consumption, toxicokinetics, necropsy, uterine weight and corpora lutea;
F_1 litters: Implantations, resorptions, live and dead fetuses, fetal weight, sex, and placental and fetal morphology (external, visceral and skeletal).

Conclusion: Maternal toxicity occurred at all dose levels, evidenced by decreased maternal mean body weight gain between Days 20 and 29 pc. Dose-dependent decreases in mean fetal body weights occurred at all doses and correlated with an increased incidence of fetal ossification defects at ≥0.077/0.0385 mg/kg/day. Based on the developmental toxicity evidenced by decreased fetal body weights and increased incidence of ossification defects observed at ≥0.077/0.0385 mg/kg/day, a no observed adverse effect level (NOAEL) has not been determined for rabbit embryofetal development. Exposure at 0.077/0.0385 mg/kg/day, the lowest dose tested, was 31.9 ng.h/mL (AUC_{0-24}) and the C_{max} was 2.10 ng/mL.

Dose (mg/kg/day)[a]	0 (Control)	0.077/0.0385	0.154/0.077	0.308/0.154
Dams:				
Toxicokinetics: AUC_{0-t} (ng.h/mL)	NC	31.9	56.4	127
No. Animals/Group	22	22	22	22
No. Pregnant	22	22	22	21
No. Pregnant Evaluated	22	22	21	20
No. Died or Euthanized Moribund	0	0	1	0
No. Aborted	0	0	0	1
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain[b]				
Days 7 to 14 pc	0.09 kg	1.3X*	1.2X	1.2X*
Days 7 to 17 pc	0.13 kg	1.2X*	1.0X	1.0X
Days 7 to 20 pc	0.15 kg	1.2X*	1.1X	1.1X
Days 20 to 25 pc	0.06 kg	0.67X	0.50X*	0.33X*
Days 20 to 29 pc	0.09 kg	0.89X	0.78X*	0.67X*
Food Consumption[b,c]				
Mean daily; Days 7 to 29 pc	65 g	1.0X	1.0X	0.98X
Mean No. Corpora Lutea	8.0	8.4	8.1	8.4
Mean No. Implantations	7.1	7.5	7.4	7.5
Mean % Pre-Implantation Loss	10.43%	11.13%	8.95%	10.20%
Mean Gravid Uterine Weight (g)	319	299	280	263*
Litters:				
No. Litters Evaluated[d]	22	22	21	20
Mean No. Live Fetuses	6.7	7.1	7.0	6.9
Mean Total Post-Implantation Loss - No. (%)	0.4 (5.96)	0.4 (5.29)	0.4 (5.16)	0.7 (7.47)
Mean Fetal Body Weight (g) - Males	33.24	30.69	29.28*	27.12***
Mean Fetal Body Weight (g) - Females	32.82	29.35*	28.14**	25.98***
% Male Fetuses	49.54	49.37	54.25	48.16

Dose (mg/kg/day)[a]	0 (Control)	0.077/0.0385	0.154/0.077	0.308/0.154
Fetal Malformations or Variations[d]: No. Fetuses (Litters) Examined	148 (22)	156 (22)	147 (21)	137 (20)
External Anomalies		No test article-related external findings		
Visceral Anomalies		No test article-related visceral findings		
Skeletal Anomalies: No. Fetuses (Mean % Per Litter)				
Pubis not ossified #	1 (0.57)	0 (0.00)	2 (1.63)	2 (2.00)
Scapula curved #	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (4.00)
Anterior fonticulus markedly enlarged #	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	5 (5.00)
Caudal vertebrae arch and/or centrum incompletely ossified	0 (0.00)	2 (1.33)	1 (0.95)	6 (5.27) *
Metacarpal less than the expected number ossified	5 (4.20)	16 (7.56)	14 (10.68)	31 (24.05) ***
Incompletely ossified parietal	20 (12.77)	24 (15.10)	30 (19.38)	43 (31.08) *
Anterior fonticulus slightly enlarged	2 (1.14)	1 (0.51)	3 (1.89)	12 (8.92) *
Phalanges less than the expected number ossified	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (2.00)
Talus not ossified	1 (0.57)	1 (0.41)	2 (1.36)	4 (4.00)
Incompletely ossified frontal	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (2.16)	2 (1.55)
Incompletely ossified interparietal	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (2.00)
Incompletely ossified hyoid	2 (0.96)	4 (2.13)	6 (5.17)	8 (7.27)
Nasal bone variation in shape	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	5 (5.00)
Incompletely ossified sternebrae	1 (0.57)	3 (2.23)	3 (1.89)	6 (4.67)

Key:

a = A single loading dose on Day 7 pc followed by repeat maintenance doses on Days 8 through 19 pc: loading dose/maintenance dose.

b = For controls, group means are shown. For treated groups, change from controls is shown.

c = Mean of mean daily food consumption between Days 7 and 29 pc. A slight, but statistically significant, decrease in mean food consumption (0.95X control mean) was noted at 0.308/0.154 mg/m^2/day between Days 12 and 13 pc. The amount of food consumed during this interval is within normal variation for Dutch Belted rabbits and so is not considered test article-related.

d = Method of fetal evaluation [external, visceral, skeletal].

DMSO = Dimethyl sulfoxide. pc = postcoitum. NC = Not calculated.

* = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001 (Statistical significance is based on raw data [not on the change from controls]).

= Malformation. - = No noteworthy findings.

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

実施せず。

2.6.7.15. 新生児を用いた試験

該当する試験なし。

2.6.7.16. 局所刺激性試験

該当する試験なし。

2.6.7.17. その他の毒性試験

2.6.7.17.1. 心毒性に関する検討

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate)

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) or concentration	Number of Animals/Sex	Noteworthy Findings	Report (Study No.)
Isolated adult rat myocytes (SD)	In vitro	18 hours	0.05, 0.5 μM	NA	GSK1120212B had no effect on cell viability or mitochondrial function in cultured adult rat ventricular myocytes.	2012N135966_00 (I12021)
Mouse (CD-1)	Oral gavage (1.5% HPMC, 5% Mannitol and 0.2% SLS)	21 days	0.25 0.50	15 males	Dose-dependent decreases in mean heart rate and lower mean absolute and relative heart weights were observed in mice given ≥0.25 mg/kg/day. Mice given ≥0.25 mg/kg/day had lower left ventricular functional parameters, but preserved response to dobutamine-induced contractility. There were no test article-related macroscopic or microscopic observations. On Day 7, at 0.25 and 0.50 mg/kg/day, C_{max} values were 89.9 and 328 ng/mL, respectively, and AUC_{0-t} values were 1110 and 2640 ng.h/mL, respectively.	2011N128277_00 (I11228)

Key:
DMSO = Dimethyl sulfoxide. HPMC = Hydroxypropylmethylcellulose. SLS = Sodium lauryl sulfate. NA = Not applicable. SD = Sprague-Dawley.

2.6.7.17.2. 3T3 NRU 光毒性試験

Report Title: GSK1120212B: Evaluation of in vitro phototoxicity on Balb/c 3T3 fibroblasts using the Neutral Red Uptake assay

Test Compound: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized)
Batch No.: 0212AMB013
Study No.: V30907
Report No.: 2014N205653_00

Test for Induction of: Phototoxicity

No. of Independent Assays: 1

Strain: Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells (Clone A31)

No. of Replicate Plates: 6 wells/test article and positive control concentration; 12 wells each for untreated and vehicle controls.

Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** Phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4

GLP Compliance: Yes

Treatment: 1 hour treatment with the test article, + and - UV-A (5 J/cm^2)

Date of Treatment: [redacted]

Phototoxic Effects: Phototoxic

Test article	IC50 in the absence of UV-A (µg/mL) [a]	IC50 in the presence of UV-A (µg/mL) [a]	PIF value
GSK1120212B	18.98	2.92	6.50 [b]
Chlorpromazine (positive control)	37.93	0.650	58.36 [c]

Key:

a = Concentrations expressed in terms of parent compound.
b = Photo-irritation factor (PIF) > 5 indicates a phototoxic response for the test article.
c = PIF > 6 indicates a phototoxic response for the positive control.
DMSO = Dimethyl sulfoxide.

2.6.7.17.3. GSK1120212B 及び GSK2118436B のイヌ 4 週間併用経口投与試験

Report Title: GSK1120212B and GSK2118436B: 4-Week Twice Daily Oral Toxicity Study in Dogs

Test Article: GSK1120212B (DMSO solvate; micronized); GSK2118436B (mesylate salt of GSK2118436A)
Batch No.: GSK1120212B (Batch 091450)
GSK2118436B (Batch 091220223)

Species/Strain: Dog/beagle

Duration of Dosing: 4 weeks

Study No.: G10260

Initial Age: Approximately 18 to 19 months

Route/Frequency:
GSK1120212B [Oral gavage, once daily]
GSK2118436B [Oral capsule, twice daily (BID), approximately 8 hours between doses]

Report No.: 2011N112335_00

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation:
GSK1120212B: 1.5% w/v Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, Pharmacoat 603), 5% w/v D-Mannitol and 0.2% w/v Sodium lauryl sulfate (SLS) suspension
GSK2118436B: Gelatin capsule(s), Size 12

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, macroscopic and microscopic pathology, and stage-dependent evaluation of spermatogenesis.

Conclusion: GSK1120212 (gavage) and GSK2118436 (BID capsule, approximately 8 hours between doses) were given in combination orally to dogs at doses of 0/0 (vehicle control), 0.0075/5 and 0.0225/20 mg/kg/day, respectively, for 4 weeks. One male given 0.0225/20 mg/kg/day was killed early on Day 11 due to poor clinical condition including increased body temperature, decreased food consumption, abnormal feces (dark red/black liquid feces) and body weight loss consistent with previous findings noted in dogs given GSK1120212. Microscopic findings in this dog were consistent with previous findings noted in dogs given GSK2118436 or GSK1120212 and included extramural right coronary artery degeneration/necrosis with transmural and perivascular inflammation (GSK2118436), neutrophilic inflammation of the colonic and rectal mucosa (GSK1120212) and marked decreased thymic lymphoid cellularity (GSK1120212 or GSK2118436). In dogs that survived to study termination, test article-related clinical observations included dose-dependent reductions in food consumption and associated decreases in body weight and/or body weight gain at all doses, and fecal consistency changes. One male dog given 0.0225/20 mg/kg/day had a reddened muzzle and/or scab formation (ear/neck) by Day 26. Test article-related microscopic findings in dogs given ≥0.0075/5 mg/kg/day were noted in stomach (granulomatous inflammation associated with foreign material, with or without eosinophils in the pyloric mucosa, associated with mild increases in total white blood cell, neutrophil and monocyte counts and decreased albumin values in females given 0.0225/20 mg/kg/day), mesenteric lymph node (foreign material in histiocytes or sinus histiocytosis), testis (degeneration of germinal epithelium), thymus (increased incidence and severity of decreased lymphoid cellularity and decreased thymic weights) and epididymis (oligospermia and luminal germ cells) in dogs given 0.0225/20 mg/kg/day.

		Male			Female		
Dose (mg/kg/day)[a]	GSK1120212B	0	0.0075	0.0225	0	0.0075	0.0225
	GSK2118436B	0	5	20	0	5	20
Numbers of Animals:		3	3	3	3	3	3
GSK1120212							
AUC_{0-t} (ng.h/mL):	Day 1	NC	7.72	26.0	NC	6.13	22.8
	Day 28	NC	66.9	223	NC	66.5	182
GSK1120212							
C_{max} (ng/mL):	Day 1	NQ	0.728	1.95	NQ	0.534	1.65
	Day 28	NQ	3.67	11.5	NQ	3.47	9.45
GSK2118436							
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Day 1	NC	36.2	76.5	NC	25.7	81.0
	Day 28	NC	23.1	82.1	NC	31.1	82.6
GSK2118436							
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	4.05	8.38	NQ	3.12	7.30
	Day 28	NQ	2.38	6.18	NQ	2.86	7.13
Noteworthy Findings							
Unscheduled Deaths:		0	0	1	0	0	0
Clinical Observations:		One male (D11M-124) given 0.0225/20 mg/kg/day was killed on Day 11 due to poor clinical condition with increased body temperature (range 39.7 to 40.4 °C), decreased food consumption (greater than half the daily allotment remaining), abnormal feces (dark red/black liquid feces) and body weight loss (0.88X Day 1). Test article-related clinical observations included dose-dependent reductions in food consumption (greater than half the daily portion offered remaining; canned food supplementation given to females given 0.0225/20 mg/kg/day as early as Day 12 and one female given 0.0075/5 mg/kg/day), associated decreases in individual body weights and/or body weight gain at all doses, and abnormal feces (loose/watery, black/dark). One male given 0.0225/20 mg/kg/day had a reddened muzzle and/or scab formation (ear/neck) by Day 26.					

		Male			Female		
Dose (mg/kg/day)[a]	GSK1120212B	0	0.0075	0.0225	0	0.0075	0.0225
	GSK2118436B	0	5	20	0	5	20
Numbers of Animals:		3	3	3[b]	3	3	3
Body Weight (Relative to Baseline):							
Day 5		1.00X	1.02X	0.98X	1.00X	1.00X	0.98X
Day 8		0.98X	0.99X	0.97X	0.99X	0.98X	0.94X
Day 12		1.00X	0.99X	0.96X	0.99X	0.97X	0.94X
Day 15		0.99X	0.99X	0.97X	1.00X	0.97X	0.94X
Day 19		0.98X	0.99X	0.98X	0.99X	0.99X	0.97X
Day 22		0.99X	0.99X	0.99X	1.01X	1.00X	0.97X
Day 26		0.99X	1.00X	1.00X	1.02X	1.00X	0.99X
Day 28		0.98X	0.99X	0.99X	1.01X	0.99X	0.99X
Hematology:							
White blood cells (10^9/L)	Day -23	8.41	9.97	9.00	9.16	7.54	9.90
	Day 27	7.65	9.61	9.08	7.29	7.42	20.07
Neutrophils (10^9/L)							
	Day -23	5.27	6.19	5.39	5.60	4.10	5.87
	Day 27	4.48	5.84	5.24[e]	4.27	4.24	14.46
Monocytes (10^9/L)							
	Day -23	0.34	0.34	0.40	0.25	0.26	0.34
	Day 27	0.34	0.23	0.44	0.23	0.23	0.83
Clinical Chemistry:							
Alkaline phosphatase (U/L)	Day -23	51	35	39	49	40	25
	Day 27	51	33	62	39	50	66
Albumin (g/L)							
	Day -23	34	33	33	33	33	31
	Day 27	33	33	30	35	33	22

		Male			Female		
Dose (mg/kg/day)[a]	GSK1120212B	0	0.0075	0.0225	0	0.0075	0.0225
	GSK2118436B	0	5	20	0	5	20
Numbers of Animals:		3	3	2	3	3	3
Organ Weights[c]:							
Thymus (Absolute)		10.8433 g	1.07X	1.37X	9.4333 g	0.82X	0.59X
Animal D11M-123[d]		NA	NA	0.62X	NA	NA	NA
Animal D11M-125[e]		NA	NA	2.12X	NA	NA	NA
(Relative to Body Weight)		0.107 %	1.06X	1.31X	0.123 %	0.84X	0.65X
Animal D11M-123		NA	NA	0.65X	NA	NA	NA
Animal D11M-125		NA	NA	1.96X	NA	NA	NA
(Relative to Brain Weight)		13.823 %	1.17X	1.48X	14.193 %	0.76X	0.60X
Animal D11M-123		NA	NA	0.69X	NA	NA	NA
Animal D11M-125		NA	NA	2.26X	NA	NA	NA
Microscopic Examination (Number of Animals):		3	3	2	3	3	3
Epididymides							
Degenerate germ cells; lumen	Mild	0	0	2	NA	NA	NA
Oligospermia	Mild	0	0	2	NA	NA	NA
Lymph Node - Mesenteric							
Foreign material	Minimal	0	0	2	0	2	0
Histiocytosis; sinus	Minimal	0	1	0	0	0	1
Stomach							
Inflammation; granulomatous, mucosa; pyloric region	Minimal	0	2	2	0	3	3
Testes							
Degeneration; germinal epithelium	Minimal	0	1	0	NA	NA	NA
	Mild	0	0	2	NA	NA	NA
Thymus							
Cellularity decrease; lymphoid	Minimal	1	0	0	0	0	0
	Mild	0	1	0	0	1	1
	Moderate	0	0	1	0	1	1

Key:
a = Doses are expressed in terms of the parent compound.
b = n=2, one male (D11M-124) was killed on Day 11 due to declining clinical condition.
c = For controls, group means are shown for absolute and/or relative weights. For test article-treated groups, change from control is shown.
d = One male (D11M-123), thymus weight consistent with females given 0.0225/20 mg/kg/day.
e = One male (D11M-125), thymus weight ≥2X control thymus weights.
f = Individual values are presented in parenthesis.
DMSO = Dimethyl sulfoxide
NA = Not applicable.
NC = Not calculated (due to insufficient plasma concentration data to calculate AUC).
NQ = Not quantifiable (or below the lower limit of quantification).