タフィンラーカプセル50mg
タフィンラーカプセル75mg

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 08:54:37

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. 5
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. 11
2.6.6.5. がん原性試験 ..... 2.6.6 – p. 12
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. 13
2.6.6.8. その他の毒性試験 ..... 2.6.6 – p. 13
2.6.6.9. 考察及び結論 ..... 2.6.6 – p. 17
2.6.6.10. 図表 ..... 2.6.6 – p. 26
2.6.6.11. 参考文献 ..... 2.6.6 – p. 26
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
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
Cmax	最高血漿中濃度
COPV	イヌ口腔パピローマウイルス
DMBA	7,12-dimethylbenz-(a)anthracene
DMSO	ジメチルスルホキシド
DNA	デオキシリボ核酸
ECG	心電図
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
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
IC50	50%阻害濃度
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
MPCE	小核を有する多染性赤血球
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
NRU	ニュートラルレッド取り込み
pc	post coitum（妊娠）
PCE	多染性赤血球
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
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）
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
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
TK 評価	トキシコキネティクス評価
TPA	12-*O*-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate
UV	紫外線

2.6.6.　毒性試験の概要文

2.6.6.1.　まとめ

臨床使用予定である GSK2118436B（メシル酸塩）又は GSK2118436A（遊離塩基）を用いたラット及びイヌの単回投与／最大耐量試験、マウスの最長 26 週間並びにラット及びイヌの最長 13 週間反復経口投与毒性試験、遺伝毒性試験、並びにラットの雌受胎能及び胚･胎児発生に関する試験を実施した。また、その他の試験として、イヌでみられた皮膚病変に関する検討、GSK2118436 及びその代謝物と発熱との関連性に関する検討、MEK 阻害薬である GSK1120212B とのイヌ 4 週間併用経口投与毒性試験並びに光毒性試験を実施した。

投与量及び濃度はいずれも遊離塩基換算量で表記した。GSK2118436A 及び GSK2118436B 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			
単回	経口	ラット (SD)	B
漸増	経口	イヌ(ビーグル)	B
反復投与毒性			
26 週間	経口	マウス (CD-1)	B
4 週間 (2 週間休薬)	経口	ラット (SD)	A
13 週間 (4 週間休薬)	経口	ラット (SD)	A
4 週間 (2 週間休薬)	経口	イヌ (ビーグル)	A
13 週間 (4 週間休薬)	経口	イヌ (ビーグル)	B
遺伝毒性			
復帰突然変異	in vitro	ネズミチフス菌･大腸菌	A, B
マウスリンフォーマ TK	in vitro	マウスリンパ腫細胞	A
小核	経口	ラット (SD)	A
生殖発生毒性			
受胎能及び胚･胎児発生	経口	ラット (SD)	A
その他の毒性			
皮膚病変に関する検討(CPV 関与の有無)[a]	in vitro	NA	NA
発熱に関する検討	経口	マウス (CD-1)	A
併用毒性(GSK1120212B との 4 週間併用)	経口	イヌ (ビーグル)	B
光毒性	in vitro	マウス線維芽細胞	B
	経口	マウス (Crl:SKH1-*hr*)	B

A = GSK2118436A,　B = GSK2118436B
a = イヌ 4 週間投与毒性試験で採取した皮膚サンプルを使用
CPV = イヌパピローマウイルス,　NA = 該当せず

急性毒性

ラットに GSK2118436B の 20、200、400 及び 600 mg/kg を単回経口投与した結果、全投薬群で体重減少がみられたが、死亡は認められなかった。イヌに GSK2118436B の 2.5、20、40 及び 80 mg/kg を単回漸増投与又は 20 mg/kg を 1 日 2 回投与した結果、20 mg/kg（1 日 2 回）及び 80 mg/kg 投与を除く全用量で体重／摂餌量減少がみられ、20 mg/kg（1 日 2 回）の初回投与及び 80 mg/kg 投与後に嘔吐がみられたが、死亡は認められなかった。

以上より、ラット及びイヌの概略の致死量はそれぞれ 600 mg/kg 超及び 80 mg/kg/日超であった。

反復投与毒性

マウスの最長 26 週間並びにラット及びイヌの最長 13 週間投与毒性試験における主要所見を以下に示す。

心血管系への影響が主にイヌで認められ、7 日間及び 4 週間投与毒性試験でそれぞれ冠動脈壊死及び弁肥厚／出血がみられ、13 週間投与毒性試験では心房の線維血管性増殖が認められた。また、ラットでは、10 日間投与毒性試験で肝動脈変性、4 週間投与毒性試験で心筋症の発現頻度増加、マウス 26 週間投与毒性試験では種々の組織に血管及び血管周囲の炎症が認められた。

肝臓への影響として、マウス 26 週間投与毒性試験では、肝細胞壊死／炎症（ALT／AST 高値、クッパー細胞の過形成／肥大を伴う）、胆管周囲炎、色素沈着、肝細胞肥大又は有糸分裂像の増加等の肝毒性がみられた。

精巣への影響として、マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日以上の群で精細管内の精子細胞の滞留、細胞残渣増加及び精巣網拡張、ラット 4 週間投与毒性試験の 5 mg/kg/日以上の群で軽微～軽度の伸長精子細胞変性及び精子細胞滞留、13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日以上の群で軽微～重度の精上皮変性／消失及び精巣上体の精子数減少が認められた。イヌの 13 週間投与毒性試験の 5 mg/kg/日以上の群で精上皮の軽微～中等度の変性／消失及び精巣上体の精子数減少が認められた。ラット及びイヌともに精巣への影響は 4 週間の休薬後においても認められた。

上皮組織への影響として、主に前胃（マウス及びラット）、食道･舌（マウス）及び皮膚（ラット及びイヌ）の上皮に増殖性及び過角化性変化が認められた。これらの変化は休薬により回復／回復傾向を示した。

呼吸器系への影響として、マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日以上の群で気道（肺、気管及び鼻腔上皮）に上皮内好酸性小体及び細気管支上皮の肥大がみられ、イヌ 13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日以上の群で肺葉気管支肺胞炎症が観察された。

以上のように、マウス、ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験においては、低用量から上皮組織、心血管系又は精巣・精巣上体に薬物に関連した変化がみられたため、ラット 4 週間投与毒性試験の雌を除く長期反復投与毒性試験では無毒性量は推定できなかった。マウス、ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験における最大耐量は、それぞれ 150、400 及び 20 mg/kg/日であった。

遺伝毒性

GSK2118436A 及び GSK2118436B の細菌を用いる復帰突然変異試験並びに GSK2118436A のマウスリンフォーマ TK 試験及びラットを用いる小核試験において、いずれも結果は陰性であった。

生殖発生毒性

ラットの雌受胎能及び胚･胎児発生に関する試験において、300 mg/kg/日群で交配前に体重減少、20 mg/kg/日以上の群で妊娠 0～18 日に体重増加量の低値が認められた。交尾及び受胎率への影響は認められなかったが、300 mg/kg/日群では黄体数及び着床数の低値、着床後死亡率の高値並びに生存胎児数の低値が認められた。また、20 mg/kg/日以上の群では胎児体重の低値がみられた。胚･胎児発生への影響として、20 mg/kg/日以上の群で胸腺変形及び胸椎体不完全骨化、300 mg/kg/日群で胸腺分離、中手骨／胸骨分節未骨化及び波状／ノブ状肋骨の発現頻度増加が認められた。また、300 mg/kg/日群で心室中隔欠損が認められた。

その他毒性

皮膚病変に関する検討

イヌ 4 週間投与毒性試験の対照群及び 50 mg/kg/日群において皮膚病変が観察された動物から採取した皮膚サンプルを用いて、PCR 法によりイヌパピローマウイルス DNA の有無を確認した結果、いずれの皮膚サンプルについても陰性であった。

発熱に関する検討

マウスに GSK2118436A の 1000 mg/kg/日までを 29 日間投与しても体温への影響は認められなかった。

GSK1120212B（MEK 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/日では白血球数、好中球数及び単球数の高値を伴っていた。

光安全性

マウス Balb/c 3T3 線維芽細胞に GSK2118436B を処理したニュートラルレッド取込み法による in vitro 試験において、光毒性係数（PIF）は 83 超であったことから、GSK2118436B は光毒性を示すと考えられた。

ヘアレスマウスに GSK2118436B の 300 mg/kg までを単回経口投与して、UV-A／B を単回照射した結果、100 mg/kg 以上で光沢及び皺、300 mg/kg で皮膚反応（浮腫、紅斑、剥離等）が認められた。無影響量は 30 mg/kg であった。

不純物の安全性評価

不純物A*（≦[redacted]%）について安全性を評価した結果、反復投与毒性試験における最大耐量投与時又は遺伝毒性試験における陰性用量での推定曝露量はヒト推定曝露量を上回っており、安全性が確認されていると判断した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.2.　急性毒性試験

GSK2118436B の急性毒性をラット及びイヌの単回投与／最大耐量試験により評価した。

2.6.6.2.1.　ラット単回投与試験

各群雌雄各 3 匹のラットに GSK2118436B の 0（媒体）、20、200、400 及び 600 mg/kg を単回経口投与した（CD2009/00799/00）。媒体には 0.5% HPMC／0.1% Tween 80 溶液を用いた。

試験成績の概略を 2.6.7.5.に示した。いずれの群においても GSK2118436B に関連した死亡及び一般状態への影響はみられなかった。全投薬群で試験 2 日に体重減少が用量相関的に認められた。

以上より、GSK2118436B の概略の致死量は 600 mg/kg 超であった。

2.6.6.2.2.　イヌ最大耐量試験

雌雄各 2 匹のイヌに GSK2118436B の 2.5、20、40 及び 80 mg/kg（微結晶セルロース含有カプセルに充てん）を漸増経口投与した（それぞれ試験 1、8、15 及び 36 日）。また、試験 43 日に 80 mg/kg（微結晶セルロース非含有カプセルに充てん）を単回経口投与し、試験 58 日に 20 mg/kg（微結晶セルロース含有カプセルに充てん）を約 8 時間間隔で 1 日 2 回経口投与した（CD2009/00563/00）。

試験成績の概略を 2.6.7.5.に示した。

本試験において死亡はみられなかった。20 mg/kg（1 日 2 回）及び 80 mg/kg（微結晶セルロース非含有カプセル）を除く全用量で雌 2 例に体重減少がみられ、雌 1 例では全用量で摂餌量減少が認められた。また、20 mg/kg（1 日 2 回）の初回投与及び 80 mg/kg（微結晶セルロース非含有）投与後に嘔吐が観察された。

以上より、GSK2118436B の概略の致死量は 80 mg/kg 超であった。

2.6.6.3.　反復投与毒性試験

GSK2118436A 又は GSK2118436B を用いたマウスの最長 26 週間並びにラット及びイヌの最長 13 週間投与毒性試験を実施した。媒体には、特記しない限り、0.5% HPMC／0.1% Tween 80 溶液を用いた。

2.6.6.3.1.　マウス

2.6.6.3.1.1.　26 週間投与毒性試験

各群雌雄各 12 匹のマウスに GSK2118436B の 0（媒体）、15、50 及び 150 mg/kg/日を 26 週間経口投与した（2012N151126_00）。中間解析評価のため、各群雌雄各 10 匹を設け、同用量を 13 週間経口投与した。また、TK 評価のため、各投薬群及び対照群にはそれぞれ雌雄各 42 及び 12 匹を設けた。媒体には 25 mM クエン酸緩衝液含有 0.5% HPMC 溶液を用いた。

マウス 14 日間投与毒性試験（2.6.7.6.）において、GSK2118436B の 50、150、500 及び 1000 mg/kg/日を最長 14 日間経口投与した結果、150 mg/kg/日以上の群で一般状態の悪化（腹

部膨満、立毛等）が観察された。また、500 mg/kg/日以上の群では体重減少がみられ、忍容性が認められなかったことから、本試験における高用量は 150 mg/kg/日とした。

試験成績の概略を 2.6.7.7.1.に示した。GSK2118436 の曝露量はおおむね投与量増加に伴って増加し、明らかな性差はみられなかった。

GSK2118436B に関連した死亡はみられず、一般状態への影響も認められなかった。150 mg/kg/日群の雄で試験 6 週より体重低値が認められた。同群雌では、体重に有意な変化はみられなかったが、試験 13～26 週の体重増加量に低値傾向がみられた。摂餌量及び眼科学的検査で GSK2118436B に関連した変化はみられなかった。

血液学的検査では、150 mg/kg/日群の雄で好中球、好酸球又は白血球数の高値、全投薬群の雌で好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球又は白血球数の高値が認められた。血液生化学的検査では、50 mg/kg/日以上の群の雄及び全投薬群の雌で ALT 又は AST の高値、全投薬群の雌でグルコースの低値、150 mg/kg/日群の雌雄でアルブミンの低値が認められた。

器官重量測定では、150 mg/kg/日群で肝臓及び脾臓重量の高値、雌で胸腺重量の低値が認められた。剖検では、試験 13 又は 26 週に全投薬群で肝臓の退色／肥大／硬化又は脾臓の肥大、50 mg/kg/日群の雌で前胃壁肥厚が観察された。また、試験 26 週では 150 mg/kg/日群でリンパ節の肥大が認められた。

病理組織学的検査では、全投薬群で肝臓（壊死／炎症、肝細胞肥大、クッパー細胞肥大／過形成、胆管周囲炎、浸潤組織球で色素沈着、有糸分裂像増加）、骨髄（細胞密度増加）、食道･前胃･舌（粘膜上皮過形成／角化亢進、炎症、潰瘍）、脾臓（髄外造血増加）、精巣（精子細胞滞留、細胞残渣増加、精巣網拡張）、様々な組織の血管（ときに血管壁の壊死を伴った血管／血管周囲炎）又は気道（上皮内好酸性小体、細気管支上皮肥大）に変化が観察された。また、50 mg/kg/日以上の群で種々のリンパ節の炎症（主に好中球又は組織球）もしくは壊死、又は胸腺リンパ球減少、150 mg/kg/日群の雌雄で胆嚢に混合性炎症細胞浸潤及び上皮肥大／過形成が認められた。

以上より、全投薬群で気道､前胃･食道及び胃粘膜上皮、肝臓、精巣及び血管に組織学的変化等が観察されたことから、無毒性量は推定できなかった。

2.6.6.3.2.　ラット

2.6.6.3.2.1.　4 週間投与毒性試験

各群雌雄各 10 匹のラットに GSK2118436A の 0（媒体）、5、20 及び 200 mg/kg/日を 4 週間経口投与した（CD2008/01511/02）。2 週間の休薬による回復性評価のため、対照群及び 200 mg/kg/日群には雌雄各 6 匹を、TK 評価のため各群雌雄各 3 匹を設けた。

ラット 10 日間投与毒性試験（2.6.7.6.）において GSK2118436A の 30、300 及び 1000 mg/kg/日を 10 日間経口投与した結果、GSK2118436A に関連した死亡はみられなかったが、300 mg/kg/日以上の群で体重減少が認められたことから、本試験における高用量は 200 mg/kg/日とした。

試験成績の概略を 2.6.7.7.2.に示した。GSK2118436 の曝露量はおおむね投与量増加の割合を下回って増加した。200 mg/kg/日群の雌の試験 4 週では、雄よりもわずかに曝露量の高値

（AUC 及び Cmax でそれぞれ 2.2～2.3 倍）を示したが、それ以外に明らかな性差はみられず、反復投与による影響も認められなかった。

GSK2118436A に関連した死亡はみられなかった。200 mg/kg/日群の雄 1 例を試験 9 日に切迫屠殺したが、本例は剖検において後肢の腫脹、顔面に痂皮、病理組織学的検査において趾骨周囲に慢性炎症、表皮に小胞及び出血がみられたことから、死因は闘争等による外傷と考えられた。また、本例では肝臓肝門部に軽度の限局性肝動脈変性及び精巣上体に軽度の精子肉芽腫がみられたが、これらの変化は本例にのみ観察され、肝動脈変性の発現頻度は同系統のラットで報告されている背景値範囲内（10～20%）である[Short, 1998]ことからも、GSK2118436A に関連した変化ではないと考えられた。

一般状態及び眼科学的検査に GSK2118436A による影響は認められなかった。200 mg/kg/日群の多くの動物で試験 1 週に体重減少又は摂餌量低値が認められたが、試験 2 週目以降、その程度は軽減した。投与期間中の体重増加量は、対照群と比較して雌雄でそれぞれ 56 及び 30%の低値であり、摂餌量は雌雄で約 4～5%低値であった。

血液生化学的検査では、全投薬群の雌でトリグリセリドの低値がみられたが、休薬後では対照群とほぼ同程度であった。血液学的検査及び尿検査で GSK2118436A に関連した変化は認められなかった。

器官重量測定では、200 mg/kg/日群の雌で投与期間及び休薬期間終了時ともに脾臓重量の高値がみられたが、関連した組織学的変化は認められなかった。剖検では、200 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で前胃／腺胃境界縁に限局性の赤色化、雄 1 例で表面不整が観察されたが、休薬後では認められなかった。

病理組織学的検査では、全投薬群で前胃／腺胃境界縁上皮の軽微～軽度な限局性角化細胞変性が認められた。また、全投薬群で下顎／頸部リンパ節の赤血球増加（軽微）、精巣で両側性に軽微～軽度の伸長精子細胞変性及び滞留がみられ、精巣上体には精巣所見の二次的変化と考えられる軽微～軽度の細胞残屑が認められた。20 mg/kg/日以上の群の雄では心筋症（軽微）が認められたが、ラットにおいて心筋症は自然発生性所見であり、雄でより高頻度にみられることが知られており[Lewis, 1992]、投与量増加による程度の悪化もみられなかったことから、悪影響ではないと判断した。休薬後では、200 mg/kg/日群の精巣で両側性に軽度～中等度の伸長精子細胞変性及び滞留、軽度の伸長精子細胞減少、中等度の精細管萎縮、精巣上体では軽度～重度の細胞残屑がみられ、精巣及び精巣上体の影響に回復性はみられなかった。その他の変化は休薬により回復した。

以上より、全投薬群で精巣への悪影響がみられたことから、雄では無毒性量は推定できなかったが、雌では 200 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.3.2.2.　13 週間投与毒性試験

各群雌雄各 12 匹のラットに GSK2118436A の 0（媒体）、20、200 及び 400 mg/kg/日を 13 週間経口投与した（CD2010/00052/00）。4 週間の休薬による回復性評価のため、対照群並びに 200 及び 400 mg/kg/日群には雌雄各 6 匹を、TK 評価のため各群雌雄各 3 匹を設けた。

ラット 4 週間投与毒性試験（2.6.6.3.2.1.）において、高用量の 200 mg/kg/日群で体重･摂餌量及び一般状態に悪影響は観察されなかったことから、本試験における高用量は 400 mg/kg/日とした。

試験成績の概略を 2.6.7.7.3.に示した。GSK2118436 の Cmax は投与量を増加させても増加しなかったが、AUC はおおむね投与量増加の割合を下回って増加した。曝露量（Cmax 及び AUC）に明らかな性差はみられなかった。投与 4 週の AUC は全投薬群で試験 1 日に比べて減少した。20 mg/kg/日群では試験 4 週と 13 週の AUC に明らかな差はみられなかったが、200 及び 400 mg/kg/日群では試験 13 週の AUC は試験 4 週に比べて増加し、試験 1 日とおおむね同程度となった。なお、反復投与による明らかな蓄積はみられなかった。

400 mg/kg/日群の雌 1 例が死亡（試験 22 日）したが、頸部／胸部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た。全投薬群の多くの動物で皮膚病変（乾燥、剥離、腫脹、発赤、多くは後肢で観察）が試験 1 週から投与期間終了時又は休薬期間終了時まで観察され、数例では獣医師による補助的治療を要した。全投薬群で試験 1 週に体重減少／体重増加量・摂餌量の低値がみられ、400 mg/kg/日群の雌数例では削痩及び脱水症状が認められた。これらの変化は補助飼料給餌及び給水ボトルの個別設置により、試験 4 週までにおおむね回復した。投与期間中の体重増加量は全投薬群で低値を示したが、休薬期間中に体重増加量及び摂餌量は回復した。

血液学的検査では、400 mg/kg/日群の雄及び全投薬群の雌でリンパ球数の高値、200 mg/kg/日以上の群の雌雄で好酸球数の高値、400 mg/kg/日群の雌で好中球及び単球数の高値が認められた。これらの変化は休薬により回復した。

血液生化学的検査では、400 mg/kg/日群の雄及び 200 mg/kg/日以上の群の雌で総蛋白の低値、200 mg/kg/日以上の群の雌雄でトリグリセリドの低値、200 mg/kg/日以上の群の雌でアルブミンの低値が観察された。また、全投薬群で血清リンの低値が認められた。これらの変化は休薬により消失した。

器官重量測定では、全投薬群の雄及び 200 mg/kg/日以上の群の雌で脾臓相対重量に可逆的な高値がみられたが、これに伴った組織学的変化は認められなかった。また、200 mg/kg/日以上の群で精巣の絶対／相対重量の低値がみられ、休薬後にも認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、全投薬群で前／後肢足蹠部及び趾間の皮膚に軽微～重度の表皮肥厚／角化亢進、400 mg/kg/日群で軽微～軽度の混合性炎症細胞浸潤、及びこれらに関連した肉眼的変化（痂皮、肥厚、潰瘍、結節等）が認められた。また、剖検では前胃に隆起又は肥厚がみられ、全投薬群で軽微～重度の前胃粘膜上皮過形成（ときに混合性炎症細胞浸潤又は可逆性の膵リンパ節過形成を伴う）、全投薬群の雄及び 200 mg/kg/日以上の群の雌では軽微～中等度の粘膜上皮の粘膜筋板への下層増殖が認められた。休薬後では回復傾向がみられ、皮膚及び胃病変の発現頻度／程度は低下し、胃粘膜上皮組織の下層増殖も認められなかった。精巣では全投薬群で軽微～重度の精上皮変性／消失及び精巣上体中の精子数減少／無精子がみられた。これらの所見の程度は、精子細胞滞留又は精子細胞／精母細胞の変性／減少を示したものから、精細管が完全に萎縮（セルトリ細胞のみ存在）したものまで様々であったが、明らかな用量相関性が認められた。休薬後においても、200 mg/kg/日以上の群（20 mg/kg/日では回復群を設定せず）のほぼ全例で精巣及び精巣上体への影響が認められた。

その他に、200 mg/kg/日以上の群の数例に軽微～軽度の小葉中間帯肝細胞空胞化が認められた。膵リンパ節及び肝臓への影響は休薬によりおおむね回復した。

以上より、20 mg/kg/日以上の群で皮膚、胃及び精巣に組織学的変化が観察されたことから、無毒性量は推定できなかった。

2.6.6.3.3.　イヌ

2.6.6.3.3.1.　4 週間投与毒性試験

各群雌雄各 3 匹のイヌに GSK2118436A の 0（媒体）、1、5 及び 50 mg/kg/日を 4 週間経口投与した（CD2008/01503/02）。2 週間の休薬による回復性評価のため、対照群及び 50 mg/kg/日群に雌雄各 2 匹を設けた。また、一般状態観察においてみられた皮膚病変について検討するため、変化が観察された動物から採取した皮膚サンプルを用いて電子顕微鏡検査及びリアルタイム PCR 法による分析を実施し、ウイルス粒子の有無を検討した。PCR 分析の結果については 2.6.6.8.1.に示す。

イヌ 7 日間投与毒性試験（2.6.7.6.）において GSK2118436B の 10、100 及び 300 mg/kg/日を投与した結果、300 mg/kg/日群の雌で体調不良（異常便、腹部膨満等）による切迫屠殺例がみられ、また、全投薬群の雄及び 100 mg/kg/日以上の群の雌で用量相関的な体重減少が認められた。これらのことから、本試験における高用量は 50 mg/kg/日とした。

試験成績の概略を 2.6.7.7.4.に示した。GSK2118436 の曝露量はおおむね投与量増加の割合を下回って増加した。曝露量に反復投与による影響はみられず、明らかな性差はみられなかった。

死亡はみられず、体重に GSK2118436A に関連した変化は観察されなかった。全投薬群で投与期間中に異常便（粘液／軟／水様便、変色便（黄／緑／褐色））が認められた。全投薬群で摂餌量の低値がみられた。休薬期間中（試験 35～39 日）では 50 mg/kg/日群で摂餌量高値がみられた。対照群の雌 1 例及び 50 mg/kg/日群の 4 例で試験 3～4 週に軽度～重度の皮膚（耳／鼻口部（上／下口唇））の隆起又は顎／耳に有茎性腫瘤が認められた。これらの変化を呈した動物のうち 2 例は回復群（ともに 50 mg/kg/日群）であり、休薬期間終了までに消失した。眼科学的検査、心電図検査、血液･血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定及び精子形成サイクル検査に GSK2118436A に関連した変化は認められなかった。

剖検では、対照群の雌 1 例及び 50 mg/kg/日群の雌雄それぞれ 2 及び 1 例に皮膚病変（鼻口部／顎部の褐色化、隆起性／有茎性病変、外耳の肥厚／結節）がみられた。

病理組織学的検査では、対照群及び 50 mg/kg/日群の各雌 1 例の皮膚に潰瘍を伴う乳頭腫がみられ、50 mg/kg/日群（雌雄それぞれ 2 及び 1 例）では軽度の限局性表皮肥厚（鼻口部／外耳）又は軽微な角化亢進（外耳）が観察された。皮膚病変の電子顕微鏡検査においてウイルス粒子に一致する構造はみられず、イヌパピローマウイルス DNA は検出されなかった（2.6.6.8.1.）。心臓では、50 mg/kg/日群の雄 1 例で三尖弁（右房室弁）に重度の肥厚及び軽度の限局性出血がみられ、これらの変化は主に粘液腫状基質の増加及び多巣性の血管新生（多数の毛細血管及び細動脈を特徴とする）によるものであった。なお、弁内の細動脈及び冠動脈の血管壁に異常はみられなかった。休薬後では GSK2118436A に関連した変化は認められなかった。

以上より、50 mg/kg/日群で皮膚及び心臓への悪影響が観察されたことから、無毒性量は5 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.3.3.2.　　13 週間投与毒性試験

各群雌雄各 4 匹のイヌに GSK2118436B の 0（空カプセル）、5、20 及び 60/100（雄/雌） mg/kg/日（2.5、10 及び 30/50 mg/kg を約 8 時間間隔で 1 日 2 回投与）を最長 13 週間経口投与した（CD2010/00051/00）。4 週間の休薬による回復性評価のため、対照群及び60/100 mg/kg/日群には雌雄各 3 匹を設けた。

イヌ 4 週間投与毒性試験（2.6.6.3.3.1.）において GSK2118436A の 1、5 及び 50 mg/kg/日を投与した結果、いずれの投薬群においても死亡及び体重への影響はみられなかったが、50 mg/kg/日群の雄 1 例で心臓弁に組織学的変化が認められたことから、本試験における高用量は 60/100 mg/kg/日（雄/雌）とした。

試験成績の概略を 2.6.7.7.5.に示した。GSK2118436 の曝露量はおおむね投与量増加の割合を下回って増加した。60 mg/kg/日群の雄及び 100 mg/kg/日群の雌における試験 1 日の曝露量は同程度であった。5 mg/kg/日群の雄では試験 1 日及び試験 13 週に雌に比べてわずかに高値（それぞれ 2.5 及び 2.1 倍）を示したが、それ以外に明らかな性差はみられなかった。反復投与により、20 mg/kg/日群の雌では 2.3～2.4 倍の高値（試験 1 日に対して）がみられたが、20 mg/kg/日群の雄及び 5 mg/kg/日群の雌雄で反復投与による影響は認められなかった。

60/100 mg/kg/日群では、体重減少、食欲不振、削痩、脱水症状、歯肉発赤／歯肉炎、液状便の発現頻度の高値、散発又は一過性の嘔吐等がみられたため、試験 14/15 日に投与を中止した。なお、本群における試験 7 日の初回投与 12 時間後の血漿中濃度は、試験 1 日の約 3 倍であった。投与中止後の補助療法により脱水症状及び削痩は回復したが、依然として体調不良を呈したことから、この群の動物は 1 週間休薬後の試験 22/23 日に剖検し、回復性評価用動物は 4 週間休薬後の試験 46/47 日に剖検した。病理組織学的検査では、肺（軽度な気管支肺胞の炎症）、胸骨骨髄（軽微～軽度の骨髄過形成）、胸腺（中等度～重度のリンパ球減少）、精巣（軽微～軽度の精上皮変性／精子数減少）、精巣上体（軽度の精子数減少／無精子、軽微～軽度の精巣上体管内細胞残屑）、肝臓（軽微～中等度の肝細胞空胞化）及び口腔（中等度の亜急性炎症）に GSK2118436A に関連した変化が認められた。4 週間の休薬後では、胸骨骨髄、胸腺、肝臓、肺及び口腔に影響はみられなかったが、精巣及び精巣上体の一部変化は依然として認められた。また、雄 1 例で 4 週間の休薬後に心臓の右心房に線維血管性増殖がみられた。血液･血液生化学的検査及び尿検査（試験 19～21 日）では、好中球及び単球数の高値、網状赤血球数及び赤血球系パラメータの低値、血清 ALP、ナトリウム、リン及びクロールの高値、血清カリウム、尿素、クレアチニン、アルブミン及び総蛋白の低値、並びに尿比重及び尿 pH の低値がみられた。これらの変化は 4 週間の休薬後には回復した。

20 mg/kg/日群では、投与開始から数週間にわたり、ときに摂餌量減少を伴う体重減少がみられたため、補助飼料給餌を行ったが、投与期間終了後の体重は雌雄ともに対照群よりも低値であった。5 及び 20 mg/kg/日群では主に試験 3 週以降に、様々な部位（鼻口部、耳介、下顎、鼠径部、陰嚢、腹側胸部）に皮膚病変（丘疹、発赤、痂皮形成）、四肢腫脹又は耳漏がみられたため、必要に応じて獣医師による補助的治療を実施した。また、5 及び 20 mg/kg/日

群で試験 2 週以降から投与期間終了時まで散発的又は一過性の嘔吐又は脱水症状がみられ、一部の動物では歯肉発赤又は液状／黒色便の発現頻度の増加も認められた。20 mg/kg/日群の雄 2 例で試験 71～92 日に努力呼吸／浅呼吸、試験 71～77 日に軽度の振戦が認められた。

血液･血液生化学的検査では、20 mg/kg/日群の雌雄で好中球及び単球数の高値、血清 ALP の高値並びに尿素、クレアチニン、アルブミン、コレステロール、リン又はカリウムの低値が認められた。

器官重量測定では、5 及び 20 mg/kg/日群で胸腺相対及び絶対重量の低値が認められた。剖検では、5 及び 20 mg/kg/日群の雄で膝窩リンパ節の肥大／暗色化がみられ、20 mg/kg/日群で胸腺小型化及び肺の癒着、退色、暗色化、硬化／胸膜肥厚がみられ、雌 1 例では右心房の肥大が認められた。

病理組織学的検査では、20 mg/kg/日群の雌 1 例で右心房壁に重度の線維血管性増殖がみられたが、心電図及び心エコー検査異常は認められなかった。また、20 mg/kg/日群では皮膚（軽微～重度の表皮肥厚、角化亢進、混合性炎症細胞浸潤、びらん、痂皮）、胸骨骨髄（軽微～軽度の骨髄過形成）、胸腺（軽度～重度のリンパ球減少）、精巣（軽微～中等度の精上皮変性／消失）、精巣上体（軽度～重度の精子数減少／無精子、細胞残渣）、肺（軽度～重度の気管支肺胞の炎症）及び膝窩リンパ節（軽微～軽度の形質細胞増加及び赤血球増加／赤血球貪食像増加）に変化がみられ、5 mg/kg/日群においても、20 mg/kg/日群と比較して程度は軽度であったが、皮膚、精巣、精巣上体及び膝窩リンパ節に同様の変化が観察された。

以上より、5 mg/kg/日以上の群で精巣及び皮膚等への悪影響がみられたため、無毒性量を推定することはできなかった。

2.6.6.4.　遺伝毒性試験

GSK2118436 の遺伝毒性評価のため、GSK2118436A 及び GSK2118436B の細菌を用いる復帰突然変異試験、並びに GSK2118436A の哺乳類細胞を用いるマウスリンフォーマ TK 試験及びラット小核試験を実施した。

2.6.6.4.1.　細菌を用いる復帰突然変異試験

2.6.6.4.1.1.　GSK2118436A

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2 *urvA* (pKM101)）を用いて、プレート法により GSK2118436A の変異原性を検討した（WD2008/01655/00）。媒体には DMSO 溶液を使用し、処理濃度は 15～1500 µg/plate（最高処理濃度：溶解限界）とした。

試験成績の概略を 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、1500 µg/plate までの処理濃度で変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.1.2.　GSK2118436B

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2 *urvA* (pKM101)）を用いて、プレート法により GSK2118436B の変異原性を検討した

（2013N180401_00）。媒体にはDMSO溶液を使用し、処理濃度は1.5～1500 µg/plate（最高処理濃度：溶解限界）とした。

試験成績の概略を2.6.7.8.2.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、1500 µg/plateまでの処理濃度で変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.2.　マウスリンフォーマTK試験

マウスリンパ腫細胞（L5178Y $TK^{+/-}$細胞）を用いてGSK2118436Aの突然変異及び染色体異常誘発性について検討した（WD2008/01806/00）。媒体にはDMSO溶液を用いた。予備試験において、3時間処理時ではS9-mixの存在／非存在下でそれぞれ50及び45 µg/mL以上、24時間処理時ではS9-mix非存在下で4 µg/mL以上で相対浮遊細胞増殖率の低下が認められた。これらの結果から、最高濃度は3時間処理時のS9-mixの存在／非存在下ともに100 µg/mL、24時間処理時のS9-mix非存在下では50 µg/mLとしたが、細胞毒性により、本試験における評価は、3時間処理時のS9-mix存在／非存在下でそれぞれ54及び48 µg/mL（相対増殖率はそれぞれ17.29及び15.05%）、24時間処理時のS9-mix非存在下で25 µg/mL（相対増殖率は17.35%）までの濃度で実施した。

試験成績の概略を2.6.7.8.3.に示した。いずれの条件下においても、GSK2118436AはS9-mixの有無にかかわらず、遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.4.3.　小核試験

GSK2118436Aの0（媒体）、100及び1000 mg/kg/日を各群6匹の雄ラットに24時間間隔で2回経口投与した（WD2009/00233/00）。媒体には0.5% HPMC／0.1% Tween 80溶液を用いた。最終投与24時間後に屠殺し、大腿骨骨髄塗抹標本を作製して小核を有する多染性赤血球の出現頻度及び全赤血球に対する多染性赤血球の比率を評価した。

用量設定試験においてGSK2118436Aの2000 mg/kg/日をラットに単回経口投与した結果、本薬の全身曝露が確認され、また、ラット10日間投与毒性試験（CD2008/00951/02）におけるTKデータから、血漿中濃度は1000 mg/kg/日以上で定常状態に達することが示されたため、本試験における高用量は1000 mg/kg/日とした。また、曝露量に明らかな性差はみられなかったことから、本試験では雄のみを用いた。

試験成績の概略を2.6.7.9.1.に示した。100 mg/kg/日群の雄1例で試験1日に頭部反転動作がみられたが、それ以外にGSK2118436Aに関連した一般状態への影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群で体重増加量の低値が認められた。いずれの投薬群においても全赤血球に対する多染性赤血球比は陰性対照群と同程度であり、また、赤芽球の増殖に影響はみられず、骨髄毒性を示唆する変化は認められなかった。いずれの投薬群においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度は陰性対照群と同程度であった。

以上より、GSK2118436Aは染色体異常誘発性を示さないと考えられた。

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

2.6.6.6.1.　雌受胎能及び胚･胎児発生に関する試験

各群 25 匹の雌ラットに GSK2118436A の 0（媒体）、5、20 及び 300 mg/kg/日を交配前 15 日から妊娠 17 日まで経口投与した。妊娠ラットは妊娠 21 日に帝王切開し、胎児検査を実施した（2011N113146_01）。媒体には 0.5% HPMC／0.1% Tween 80 溶液を用いた。TK 評価を試験 1 及び 12 日並びに妊娠 10 日に実施した。

雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（2.6.7.11.1.）において、GSK2118436A の 5、20 及び 200 mg/kg/日を雌ラットに交配 2 週間前から妊娠 17 日まで経口投与した結果、20 mg/kg/日以上の群で交配前に母体毒性（体重･体重増加量・摂餌量の減少）がみられたが、雌受胎能への影響はみられなかった。また、全投薬群で胎児体重がわずかに低下し、20 mg/kg/日以上の群で着床前死亡率の増加、200 mg/kg/日群で胸腺形態異常が認められた。これらのことから、300 mg/kg/日の投与により母動物及び胎児における毒性発現が予測されることから、高用量は 300 mg/kg/日とした。

試験成績の概略を 2.6.7.12.1.に示した。300 mg/kg/日群の雌 1 例で体重減少、嗜眠（後肢開脚を伴う）、脱水症状がみられ、試験 6 日に接触反応過敏がみられたことから切迫屠殺した。また、対照群の 1 例で自発運動低下及び頸部腫脹がみられたため、投与を継続できず、妊娠 15 日に切迫屠殺した。

300 mg/kg/日群では、投与開始 2 日後より体重減少がみられ、20 mg/kg/日以上の群で妊娠 0～18 日の体重増加量の低値が認められた。

いずれの投薬群においても性周期及び交尾･受胎率に影響はみられなかった。300 mg/kg/日群で黄体数及び着床数の低値、着床後死亡率の高値／高値傾向（主に早期吸収による）並びに生存胎児数の低値が認められた。いずれの投薬群においても性比及び胎盤の形態学的異常も認められなかった。

20 mg/kg/日以上の群で胎児体重及び子宮重量の低値が認められた。

胎児検査では、20 mg/kg/日以上の群で胸腺変形及び胸椎体不完全骨化、300 mg/kg/日群で胸腺分離、中手骨／胸骨分節未骨化及び波状／ノブ状肋骨の発現頻度増加が認められた。また、300 mg/kg/日群で心室中隔欠損（膜性）がみられ（胎児 3 例､発現頻度：2.42%）､その発現頻度は試験施設における背景値（0.54～0.79%）を上回っていた。

以上より、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 5 mg/kg/日、雌受胎能に対する無毒性量は 20 mg/kg/日、胚･胎児発生に対する無毒性量は 5 mg/kg/日と推定された。

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.　皮膚病変に関する検討

イヌ 4 週間投与毒性試験（2.6.6.3.3.1.）において観察された皮膚病変がイヌパピローマウイルス感染に起因したものか否かを検討するため、当該試験の対照群及び 50 mg/kg/日群か

ら採取した皮膚サンプルを用いて、リアルタイム PCR 法によりイヌパピローマウイルス DNA の有無を確認した（CD2009/00966/02）。

試験成績の概略を 2.6.7.16.1.に示した。いずれの皮膚サンプルからもイヌパピローマウイルス DNA は検出されなかった。

以上より、本試験結果及びイヌ 4 週間投与毒性試験の電子顕微鏡検査においてウイルス粒子が認められなかった（2.6.6.3.3.1.）ことから、イヌの皮膚病変はイヌパピローマウイルス感染によるものではないと考えられた。

2.6.6.8.2.　　発熱に関する検討

GSK2118436B を投与した患者において発熱が報告されている（2.5.5.2.4.2.）。マウスはラットよりもヒトに類似した代謝物プロファイルを示すと予想される（2.6.4.9.1.）ことから、マウスを用いて GSK2118436A が体温に及ぼす影響について検討した。

各群 6 匹の雄マウスに GSK2118436A の 100 及び 1000 mg/kg/日を 29 日間経口投与し、投与開始前並びに試験 1、3、7、14、21 及び 29 日に、約 24 時間にわたり継続的に体温をモニターした（2012N132180_00）。

試験成績の概略を 2.6.7.16.2.に示した。いずれの投薬群においても体温への影響は認められなかった。

2.6.6.8.3.　　GSK2118436B 及び GSK1120212B の 4 週間併用投与毒性試験

GSK1120212B/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（2011N112335_00）。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。

GSK1120212B の 13 週間投与毒性試験では、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（メキニスト CTD 2.6.6.3.5.）。一方、GSK2118436B の 13 週間投与毒性試験［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（小葉の炎症）、胸骨（骨髄低形成）、精巣、精巣上体等に病理組織学的変化がみられた（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 2.6.7.17.3.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。試験 1 日と比べて試験 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、本例を試験 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、試験 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。

2.6.6.8.4.　光安全性

GSK2118436 は光安全性上の懸念がある 290～700 nm の波長の光を吸入し、331 nm に極大吸収を有する（2.3.S.3.1.2.）ことから、GSK2118436B の光毒性を in vitro ニュートラルレッド取込み試験及びヘアレスマウスを用いる in vivo 単回経口投与試験により評価した。

2.6.6.8.4.1.　Balb/c 3T3 線維芽細胞を用いるニュートラルレッド取込み試験

Balb/c 3T3 線維芽細胞株に GSK2118436B の 0.316、1、3.16、10、31.6、100、316 及び 1000 µg/mL を処理した（2012N141617_00）。UV-A 照射の有無にかかわらず、GSK2118436B 処理により細胞生存率の低下がみられ、UV-A 照射及び非照射時でそれぞれ 0.316～1000 及び 31.6～1000 µg/mL において細胞毒性が認められた。なお、1000 µg/mL では UV-A 照射の有無にかかわらず析出がみられたため、評価には用いなかった。

試験成績の概略を 2.6.7.16.4.1.に示した。UV-A 非照射時の GSK2118436B の IC50 は 26.076 µg/mL であったが、UV-A 照射時では正確には算出されなかったため、IC50 は最低用量である 0.316 µg/mL 未満とした。これらのデータより算出した光毒性係数（PIF）は 83 超であり、陽性基準を上回ったことから、GSK2118436B は光毒性を示すものと考えられた。

2.6.6.8.4.2.　　ヘアレスマウスを用いる光毒性試験

各群 10 匹の雄 Crl:SKH1-*hr* ヘアレスマウスに GSK2118436B の 0（媒体）、10、30、100 及び 300 mg/kg を単回経口投与し、その約 8 分後に UV-A／B を単回照射した（2014N193267_00）。媒体には 25 mM クエン酸緩衝液含有 0.5% HPMC 溶液を用いた。

試験成績の概略を 2.6.7.16.4.2.に示した。300 mg/kg 群では全例で光毒性反応（浮腫、紅斑、剥離等）がみられ、100 mg/kg 群でも 1 例に光沢及び皺が認められた。

以上より、光毒性に対する無影響量は 30 mg/kg であった。

2.6.6.8.5.　　不純物の安全性評価

原薬中では安全性確認が必要となる閾値（0.15%）を超えて規格が設定されている不純物として　不純物A*　（[redacted]%）がある（2.3.S.4.1.）。なお、原薬の規格において個別規格設定した類縁物質は合成由来のものであることから、ICHQ6A に従い、製剤では類縁物質の規格設定はしていない（2.3.P.5.6.）。

不純物A* の安全性について、反復投与毒性試験及び小核試験に使用した被験物質中の不純物の推定曝露量、並びにヒトでの推定最大曝露量から算出した安全域を基に評価した（表 2.6.6-2）。なお、マウス、ラット及びイヌの反復投与毒性試験では低用量から薬物に関連した変化（上皮組織、精巣又は心臓への影響）がみられ、イヌ 4 週間投与毒性試験以外の試験において無毒性量は推定できなかった。そのため、不純物の安全域は各試験における最大耐量を基に算出した。

反復投与毒性試験における最大耐量投与時の不純物の曝露量は、ヒトに臨床用量（300 mg/日）を投与したときの不純物の推定曝露量を上回っていることが確認された（イヌ 13 週間投与毒性試験の 0.9 倍除く）。また、規格値を超えて不純物を含むバッチを用いた復帰突然変異試験において結果は陰性であり、小核試験の陰性用量での不純物の推定曝露量は、ヒト推定曝露量の 200 倍以上であった。

以上のことから、不純物A*　のヒトでの安全性は確認されていると判断した。

表 2.6.6-2　　GSK2118436 の毒性試験に使用したバッチにおける不純物含量

試験種/動物種 (投与期間)	最大耐量(mg/kg/日) 又は陰性用量(μg/plate)	バッチ番号	不純物含量 (%)	規格値 (%)	安全域 [a]
マウス (26 週間)	150	121361098[c]	0.17	[redacted]	14
ラット (4 週間)	200	081179173[b]	0.48	[redacted]	53
ラット (13 週間)	400	081179173[b] 091236623[b]	0.48 0.13	[redacted]	107 29
イヌ (4 週間)	50	081179173[b]	0.48	[redacted]	13
イヌ (13 週間)	20	091231057[c]	0.08	[redacted]	0.9
復帰突然変異試験	1500	081179173[b] 121361098[c]	0.48 0.17	[redacted]	
ラット小核試験	1000	081179173[b]	0.48	[redacted]	267

a.　安全域(平均体重を 50 kg、予定最大臨床用量を 300 mg/日として算出)

$$= \frac{\text{最大耐量 (mg/kg) x 不純物含量 (\%) / 100}}{\text{不純物規格値 (\%) x 臨床用量 (mg/kg) / 100}}$$

b.　GSK2118436A を使用

c.　GSK2118436B を使用

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.9.　　考察及び結論

GSK2118436 の毒性評価のため、ラット及びイヌの単回投与／最大耐量試験、マウスの最長 26 週間、ラット及びイヌの最長 13 週間経口投与毒性試験、in vitro／in vivo 遺伝毒性試験、ラットの雌受胎能及び胚･胎児発生に関する試験、in vitro／in vivo 光毒性試験、発熱に関する in vivo 試験、並びにイヌの GSK2118436B 及び GSK1120212B の 4 週間併用投与毒性試験を実施した。また、不純物の安全性評価を実施した。

GSK2118436 はラット及びイヌの野生型 BRAF に対して阻害活性（IC50：4.0～4.3 nM）を示すが（2.6.2.2.1.1.2.）、マウスの野生型 BRAF に対する阻害活性については検討されていない。しかしながら、マウスでは、ラット又はイヌでみられた BRAF 阻害に関連すると考えられる所見（精巣、上皮又は心血管系等への影響）が同様に認められている。このことから、GSK2118436 はマウス野生型 BRAF に対しても阻害活性を示す可能性が考えられる。

動物を用いた主要な反復投与毒性試験における曝露量及びヒトとの曝露量比を表 2.6.6-3 に示した。

2.6.6.9.1.　　急性毒性

ラット及びイヌに GSK2118436B のそれぞれ 600 及び 80 mg/kg までを単回経口投与した結果、いずれの動物種においても死亡はみられず、概略の致死量はラット及びイヌでそれぞれ 600 mg/kg 超及び 80 mg/kg 超であった。

2.6.6.9.2.　　反復投与毒性

マウスの最長 26 週間並びにラット及びイヌの最長 13 週間経口投与毒性試験において、死亡／瀕死状態、心血管系、精巣／精巣上体、上皮組織、肝臓、造血／リンパ組織及び呼吸器系に主要な毒性所見が認められた。以下にその詳細を示す。

2.6.6.9.2.1.　　死亡／瀕死状態及び最大耐量

マウス 14 日間投与毒性試験の 500 mg/kg/日（臨床曝露量（AUC）の約 7 倍）以上の群で体重減少及び一般状態の変化（円背位、冷感、行動抑制、腹部膨満等）がみられたため、数例を早期切迫屠殺した（2012N140412_00）。ラットでは薬物に関連した死亡は認められなかった。イヌでは、7 日間投与毒性試験の 300 mg/kg/日群の雌 1 例（臨床曝露量の約 14 倍）において、主に重度の腹部膨満によると考えられる体調不良がみられたため、本例を切迫屠殺した（2.6.7.6.）。また、イヌ 13 週間投与毒性試験の 60/100 mg/kg/日（雄/雌）（雌雄ともに臨床曝露量の約 10 倍）群において、顕著な体重減少、食欲不振、削痩、脱水症状、液状便及び嘔吐等がみられたことから、早期（試験 14/15 日）に投与を中止した。

マウス、ラット及びイヌの反復投与毒性試験における最大耐量は、それぞれ 150、400 及び 20 mg/kg/日であった。

2.6.6.9.2.2.　　心血管系への影響

イヌでは、7 日間投与毒性試験の 300 mg/kg/日群で右心房又は乳頭筋に軽度～重度の冠動脈変性及び壊死並びにこれに関連した心筋変性／壊死が認められた（2.6.7.6.）。4 週間投与毒性試験の 50 mg/kg/日群の雄 1 例（臨床曝露量の約 4 倍）では右房室弁（三尖弁）の限局性の出血及び肥厚（重度の血管新生及び粘液腫様基質増加等を特徴とする）がみられた。13 週間投与毒性試験の 60 mg/kg/日群の雄 1 例及び 20 mg/kg/日群の雌 1 例（臨床曝露量の約 10 倍）では右心房壁に線維血管性増殖が認められたが、いずれの動物においても心室及び弁に薬物に関連した変化はみられず、血清心筋トロポニン I、心電図波形及び心エコー検査において影響は認められなかった。

ラットでは、10 日間投与毒性試験の 30 mg/kg/日（臨床曝露量の約 1.0 倍）以上の群で肝臓の血管周囲に炎症細胞浸潤を伴った動脈変性の発現頻度増加（用量との関連性なし）がみられ、1000 mg/kg/日群の 1 例で腸間膜に軽度の限局性血管周囲炎が観察された（CD2008/00951/02）。4 及び 13 週間投与毒性試験では、それぞれ 200 及び 400 mg/kg/日までを投与しても心血管系への悪影響は認められなかった。マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.5 倍）以上の群では、様々な組織にときに血管壁の壊死を伴う血管／血管周囲炎が認められた。

動物に認められた心血管系病変の発現機序は不明だが、マウス Braf 欠損胚では、心血管系への影響として心臓に血管拡張、出血及び血管内皮でのアポトーシスのパターン異常が報告されている[Wojnowski, 1997]ことから、これらの変化は BRAF 阻害が関与している可能性が考えられる。

2.6.6.9.2.3.　　上皮への影響

マウスでは 15 mg/kg/日（臨床曝露量の 0.8 倍）以上の群で舌･食道･前胃に、ときに炎症／潰瘍を伴う粘膜上皮過形成／角化亢進が観察された。ラットでは、4 週間投与毒性試験の 5 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.2 倍）以上の群で前胃／腺胃境界縁の粘膜上皮に軽微～軽度の変性、13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.7 倍）以上の群で前胃に軽微～重度の粘膜上皮の過形成及び下層増殖が認められた。ラットにおいて休薬後は回復／回復傾向を示し、胃粘膜上皮の下層増殖は認められなかった。

同様の上皮に対する影響として、ラット 13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日以上の群で足蹠及び趾間皮膚に表皮肥厚及び角化亢進がみられ、イヌの 4 及び 13 週間投与毒性試験（それぞれ 50 mg/kg/日及び 5 mg/kg/日以上の群）においても乳頭腫、表皮肥厚又は角化亢進が認められた。これらの皮膚病変はラット及びイヌともに休薬により回復／回復傾向を示した。なお、リアルタイム PCR 分析及び電子顕微鏡検査の結果、イヌの皮膚病変はウイルス感染によるものではないことが確認された。

マウス及びラットの前胃及びその他の組織（皮膚、心臓、食道、膀胱、腎盂等）における上皮過形成は他の RAF 阻害薬でもみられている[Wisler, 2011; Carnahan, 2010]。BRAF 野生型細胞において、RAF 阻害は CRAF の活性化を介して MEK/ERK 経路のシグナル伝達を逆説的に活性化（パラドキシカル機構）し、その結果、細胞増殖を促進すると考えられている[Hatzivassiliou, 2010]。これらのことから、皮膚及び前胃上皮の増殖性変化は GSK2118436 の

薬理作用に関連したものと考えられる。しかしながら、MEK 阻害薬である GSK1120212B とのイヌ 4 週間併用投与毒性試験（20 mg/kg/日まで）では、GSK2118436 のイヌ 4 週間単独投与毒性試験において皮膚病変の発現用量（50 mg/kg/日）を投与したときの曝露量を上回る曝露においても増殖性変化又は角化亢進を示す皮膚病変は認められなかった。このことは、BRAF 阻害によるパラドキシカル機構を介した MEK/ERK 経路のシグナル伝達を GSK1120212 が遮断した結果と考えられる。他の BRAF 阻害薬においても、MEK 阻害薬との併用投与によりマウスにおいて同様の結果が示されており[Carnahan, 2010]、RAF 阻害薬 PLX4720 では、DMBA-TPA 誘発マウス皮膚癌モデルにおいて HRAS 変異陽性の皮膚癌の発現を促進させるが、MEK 阻害薬である PD184352 を併用投与することにより腫瘍形成促進作用が抑制されることが報告されている[Su, 2012]。なお、臨床においても GSK2118436B 単独投与患者において皮膚有棘細胞癌、扁平上皮癌等が認められており（2.5.5.2.1.2.及び 2.5.5.2.4.）、この発現にもパラドキシカル機構が関与していると考えられる。

2.6.6.9.2.4.　　造血系及びリンパ組織への影響

ラット 10 日間投与毒性試験の 30 mg/kg/日（臨床曝露量の約 1.1 倍）以上の群で赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット）の低値がみられ、イヌ 13 週間投与毒性試験の 60 mg/kg/日（臨床曝露量の約 10 倍）群でも赤血球系パラメータ及び網状赤血球数の低値が認められた。マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日（臨床曝露量の 0.6 倍）以上の群では脾臓の髄外造血増加又は重量高値並びに骨髄細胞密度の増加が認められたが、本薬投与に関連した炎症性変化に対する二次的な適応反応と考えられた。また、マウス、ラット及びイヌでそれぞれ 15、20 及び 20 mg/kg/日（臨床曝露量のそれぞれ約 0.6、0.9 及び 8.4 倍）以上で白血球系パラメータ（好中球、リンパ球、好酸球又は単球数等）の高値が認められた。ラット及びイヌともにこれらの変化は休薬により回復した。赤血球系パラメータへの影響の発現機序は不明だが、造血前駆細胞の分化及び巨核球産生には BRAF の発現及びこれに関連した ERK の活性化が不可欠であること[Chung, 2011; Kamata, 2005]から、GSK2118436 の薬理作用に関連したものと考えられる。白血球系パラメータの増加は、前胃（ラット）、皮膚（ラット、イヌ）、肺（イヌ）又は肝臓・リンパ組織（マウス）等での炎症に関連した変化と考えられた。臨床においても血球減少（好中球、リンパ球、白血球数）や貧血が認められている（2.5.5.2.1.2.及び 2.5.5.2.1.3.）。

一方、リンパ組織への影響として、マウスでは 50 mg/kg/日以上の最長 26 週間投与、イヌでは 5～100 mg/kg/日の最長 13 週間投与により、軽微～重度の胸腺のリンパ球減少及び器官重量低値がみられ、マウスの 50 mg/kg/日以上の群ではいくつかのリンパ節で軽微～中等度の壊死及び炎症が認められた。これらの所見はヒトでの免疫系への影響を示唆するものであり、臨床試験においても血球減少（好中球、リンパ球、白血球数）が認められている。しかしながら、GSK2118436 を投与した健康成人又は患者において、末梢 T 細胞の機能･生存性、更には腫瘍抗原特異的 T 細胞の誘導に悪影響は認められていない[Vella, 2014; Schilling, 2014; Hong, 2012]。

2.6.6.9.2.5.　　肝臓への影響

マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.5 倍）以上の群で用量相関的な肝臓への影響（肝細胞の壊死／炎症・肥大、有糸分裂像の増加、クッパー細胞の肥大／過形成、胆管周囲炎、色素沈着）がみられ、150 mg/kg/日群（臨床曝露量の約 4.7 倍）ではときに上皮過形成／肥大を伴った胆嚢炎が認められた。マウスにおいて観察された肝臓への影響の発現機序については不明である。ラット及びイヌでは GSK2118436 投与による肝臓への悪影響は認められていないが、臨床においては ALT／AST 増加等の肝機能検査値異常が観察されている（2.5.5.2.1.3.）。

2.6.6.9.2.6.　　呼吸器系への影響

マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.6 倍）以上の群（ほとんどは 150 mg/kg/日群）において気道（肺、気管及び鼻腔上皮）に上皮内好酸性小体及び細気管支上皮の肥大が認められた。イヌ 13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日（臨床曝露量の約 8.4 倍）以上の群においても軽度～重度の気管支肺胞の炎症がみられ、一般状態観察では浅呼吸及び努力呼吸が観察された。

マウス及びイヌで認められた呼吸器系への影響の発現機序は不明であり、臨床試験において GSK2118436B 投与により観察された呼吸器系の有害事象との関連性も明らかではないが、その重症度はほとんどがグレード 1 又は 2 であった（2.5.5.2.1.2.）。

2.6.6.9.2.7.　　精巣・精巣上体への影響

マウス 26 週間投与毒性試験の 15 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.8 倍）以上の群で精細管内の精子細胞滞留、細胞残渣増加及び精巣網拡張がみられた。ラットでは、4 週間投与毒性試験の 5 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.2 倍）以上の群で軽微～軽度の伸長精子細胞変性及び精子細胞滞留、13 週間投与毒性試験の 20 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.5 倍）以上の群で軽微～重度の精細管変性／精子数減少及び精巣上体の精子数減少が認められた。また、イヌ 13 週間投与毒性試験の 5 mg/kg/日（臨床曝露量の約 2.4 倍）以上の群で精細管上皮の軽微～中等度の変性／消失及び精巣上体の精子数減少が認められた。ラット及びイヌともに精巣への影響は最長 4 週間の休薬後においても認められた。

BRAF は減数分裂後の生殖細胞に発現しており、精子形成期の細胞分化に重要な役割を担っている可能性が示唆され[Barnier, 1995]、また、マウスにおいて BRAF は円形精子細胞にわずかに、伸長精子細胞では強く発現するが、成熟精子では発現しておらず[Berruti, 2000]、精子尾形成不全を示す *hop* 及び hop^{hpy} 変異マウスの精巣では BRAF キナーゼの活性が低下している[Wojnowski, 1998]ことから、上述した精子形成に関わる影響はいずれも薬理作用に関連した変化と考えられた。

2.6.6.9.2.8.　　代謝物の安全性評価

マウスの 26 週間並びにラット及びイヌの 13 週間投与毒性試験の最大耐量における GSK2118436 及びその主代謝物（カルボン酸体、水酸化体及び脱メチル体）の曝露量並びに臨床曝露量を比較した（表 2.6.6-4）。

カルボン酸体及び水酸化体については、いずれかの動物種において臨床曝露量よりも高値を示した。脱メチル体については、ラット及びイヌでは臨床曝露量よりも低値であったが、マウスではおおむね同程度であった。

以上より、マウス、ラット又はイヌの反復投与毒性試験において、GSK2118436 の主代謝物であるカルボン酸体、水酸化体及び脱メチル体の曝露量は臨床曝露量と同程度又はそれを上回っていたことから、これらの代謝物の安全性については確認されているものと判断した。

表 2.6.6-3　　主要な毒性試験における曝露量及びヒトとの曝露量比

試験の種類 (投与期間)	用量 (mg/kg/日)	性	Cmax (μg/mL)		AUC (μg.hr/mL)		動物/ヒト 曝露量比 [a]	
			投与 1 日	投与終了時	投与 1 日	投与終了時	Cmax	AUC
反復投与毒性試験								
マウス (26 週間)[b]	15	M	NA	7.25	NA	9.60	3.5	0.8
		F	NA	5.39	NA	5.44	2.6	0.5
	50	M	NA	20.6	NA	23.5	9.9	2.0
		F	NA	19.3	NA	20.3	9.3	1.7
	150	M	NA	50.5	NA	64.4	24	5.5
		F	NA	42.6	NA	47.4	20	4.0
ラット (4 週間)[c]	5	M	0.983	0.755	3.64	1.91	0.4	0.2
		F	1.01	1.07	2.96	3.42	0.5	0.3
	20	M	1.58	1.27	9.43	4.39	0.6	0.4
		F	1.80	1.53	7.74	6.01	0.7	0.5
	200	M	2.50	1.62	23.0	12.6	0.8	1.1
		F	3.73	3.80	27.1	28.3	1.8	2.4
ラット (13 週間)[c]	20	M	1.42	1.16	11.7	6.32	0.6	0.5
		F	1.78	1.93	11.2	10.1	0.9	0.9
	200	M	1.46	1.94	14.5	18.4	0.9	1.6
		F	1.95	5.83	17.3	21.2	2.8	1.8
	400	M	1.76	1.69	31.5	16.8	0.8	1.4
		F	1.76	3.19	24.6	26.8	1.5	2.3
イヌ (4 週間)[c]	1	M	1.13	0.893	4.47	4.10	0.4	0.3
		F	1.21	0.841	5.83	4.48	0.4	0.4
	5	M	3.69	2.73	19.2	10.5	1.3	0.9
		F	3.23	2.62	17.3	14.0	1.3	1.2
	50	M	8.87	8.41	48.9	40.2	4.0	3.4
		F	6.58	6.85	35.7	45.2	3.3	3.8
イヌ (13 週間)[b]	5	M	2.08	2.65	21.9	28.7	1.3	2.4
		F	1.13	1.96	8.88	13.4	0.9	1.1
	20	M	8.27	8.07	76.3	79.4	3.9	6.7
		F	5.09	11.6	49.3	118	5.6	10
	60	M	10.7	NA	120	NA	NA	NA
	100	F	12.0	NA	116	NA	NA	NA
GSK1120212B との併用投与毒性試験								
イヌ (4 週間)[b]	5	M	4.05	2.38	36.2	23.1	1.1	2.0
		F	3.12	2.86	25.7	31.1	1.4	2.6
	20	M	8.38	6.18	76.5	82.1	3.0	7.0
		F	7.30	7.13	81.0	82.6	3.4	7.0
生殖発生毒性試験								
ラット [c,d]	5	F	1.18	0.765	3.93	2.62	0.4	0.2
	20	F	1.37	1.17	7.24	4.10	0.6	0.3
	300	F	3.47	2.17	38.3	22.6	1.0	1.9
ヒト [e]	150 mg BID	M+F	NA	2.08	NA	11.8	NA	NA

a = 投与終了時の Cmax 及び AUC を基に算出
b = GSK2118436B を用いて実施
c = GSK2118436A を用いて実施
d = 投与終了時の Cmax 及び AUC は妊娠 10 日のデータを使用
e= 国内第 I 相試験(BRF116056)において日本人の BRAF V600 変異陽性の固形癌患者に 150 mg/回を 1 日 2 回 21 日間反復投与したときのデータ。AUC は AUC(0-12)より算出 (2.7.2.4.付録 表 2.7.2.4-4)
NA = 該当せず

表 2.6.6-4　　動物及びヒトにおける GSK2118436 及びその代謝物の曝露量比

試験の種類 (投与期間)	最大耐量 (mg/kg/日)	性	動物／ヒト曝露量比 [a]							
			GSK2118436		カルボン酸体		水酸化体		脱メチル体	
			Cmax	AUC	Cmax	AUC	Cmax	AUC	Cmax	AUC
マウス (26 週間)[b]	150	M F	24 20	5.5 4.0	11 15	2.3 2.9	11 13	1.8 2.1	2.3 4.6	0.5 0.8
ラット (13 週間)[c]	400	M F	0.8 1.5	1.4 2.3	0.2 0.3	0.2 0.2	2.2 4.7	3.9 8.3	0.1 0.1	0.1 0.1
イヌ (13 週間)[b]	20	M F	3.9 5.6	6.7 10	0.03 0.03	0.03 0.03	1.4 2.3	2.5 4.1	0.3 0.4	0.2 0.3
ヒト [d]	150 mg BID	M+F	2.08	11.8	9.04	168	1.18	8.92	0.56	8.82

a = 投与終了時の Cmax 及び AUC を基に算出
b = GSK2118436B を用いて実施
c= GSK2118436A を用いて実施
d = 国内第 I 相試験(BRF116056)において日本人の BRAF V600 変異陽性の固形癌患者に 150 mg/回を 1 日 2 回 21 日間反復投与したときの Cmax (μg/mL)及び AUC(0-12)(μg.hr/mL)。
AUC は AUC(0-12)より算出 (2.7.2.4.付録 表 2.7.2.4-4、表 2.7.2.4-5、表 2.7.2.4-6 及び表 2.7.2.4-7)

2.6.6.9.3.　　遺伝毒性

GSK2118436A 及び GSK2118436B の細菌を用いる復帰突然変異試験、並びに GSK2118436A の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。なお、GSK2118436B の対イオンであるメシル酸についてはイマチニブメシル酸塩においても用いられており、遺伝毒性は認められていない[グリベックカプセル 100mg 公開資料概要, 2001]。

以上のことから、GSK2118436 は遺伝毒性を有していないと考えられた。

2.6.6.9.4.　　生殖発生毒性

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毒性試験において精巣への悪影響がみられ、ラット及びイヌでは休薬後においても明らかな回復性は認められなかった（2.6.6.9.2.）。そのため、GSK2118436 はヒトの受胎能に対して悪影響を及ぼす可能性が考えられる。

ラットを用いた雌受胎能、胚･胎児発生に関する試験において、300 mg/kg/日まで投与した結果、20 mg/kg/日（臨床曝露量の約 0.3 倍）以上で母体毒性、300 mg/kg/日（臨床曝露量の約 2 倍）で黄体数減少がみられたが、性周期、交尾･受胎率に影響は認められなかった。これらのことから､GSK2118436 は雌受胎能に悪影響を及ぼす可能性が考えられる｡また､発生毒性として、20 mg/kg/日以上で骨化遅延及び体重低値、300 mg/kg/日で胚致死、胸腺分離及び催奇形性を示唆する心室中隔欠損が認められた。

BRAF 欠損マウスでは胚致死がみられ、BRAF 欠損胚において血管への影響、神経変性、成長遅延並びに肝臓、脳及び心臓のアポトーシスのパターン異常が報告されている[Wojnowski, 1997; Galabova-Kovacs, 2006]。また、BRAF 欠損マウスでは胎盤異常（胎盤層の不連続性、血管拡張及び出血を含む）も確認されており[Galabova-Kovacs, 2006]、BRAF が正常な胎盤形成及び胚発生に重要であることが示されている。

以上より、GSK2118436 は受胎能に対する悪影響並びに催奇形性を含む胚・胎児毒性を示す可能性が考えられる。

2.6.6.9.5.　その他の毒性

2.6.6.9.5.1.　発熱に関する検討

マウス及びラットに GSK2118436A のそれぞれ 1000 mg/kg/日（29 日間）及び 200 mg/kg（単回）までを投与したが、体温への影響は認められなかった（それぞれ 2.6.6.8.2.及び 2.6.2.4.）。このように､マウス及びラットではがん患者でみられた発熱を再現できず、発熱の発現機序については不明であった。しかしながら、GSK2118436A 及び 3 種の代謝物を用いた in vitro 試験において、プロスタノイド受容体の直接的な活性化／阻害、又は未刺激のヒト末梢血単核細胞からのサイトカイン放出を介して発熱を誘発する可能性は低いことが示唆されている（2.6.2.4.4.）。

2.6.6.9.5.2.　GSK1120212B（MEK 阻害薬）との併用投与による影響

臨床において GSK2118436B は MEK 阻害薬である GSK1120212B 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（2.6.7.16.3.）。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（メキニスト CTD 2.6.7.7.4.）及び 81.8 µg･hr/mL（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（メキニスト CTD 2.6.6.9.）及び GSK2118436B 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; メキニスト CTD 2.6.6.3.5.）及び GSK2118436B（20 mg/kg/日）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（メキニスト CTD 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（2.6.7.7.4.）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、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。

2.6.6.9.5.3.　　光安全性

GSK2118436B は 3T3 線維芽細胞を用いた in vitro 光毒性試験で陽性を示し、また、ヘアレスマウスにおいて臨床曝露量（Cmax：2.08 μg/mL；表 2.6.6-3）の約 31 倍以上で光毒性が認められた（2014N193267_00）。有色ラットに[^{14}C]GSK2118436 を単回経口投与した定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験において、薬物関連物質は広く組織に分布し、眼及び皮膚の組織内濃度は血液中よりも低く、メラニン含有組織への選択的な結合はみられなかった（2.6.4.4.1.1.、2.6.5.5.1.1.及び 2.6.5.5.1.2.）。

また、光線過敏症の発現頻度及び発現率は、海外第 III 相試験（BRF113683 試験及び MEK115306 試験）のダブラフェニブ単独投与群でそれぞれ 3/187 例（2%）及び 6/211 例（3%）であり、海外第 III 相試験（MEK115306 試験及び MEK116513 試験）のダブラフェニブ及びトラメチニブ併用投与群でそれぞれ 5/209 例（2%）及び 13/350 例（4%）であった。

以上より、GSK2118436B は in vitro 及び in vivo 光毒性試験において陽性を示したが、これまでの臨床試験における光線過敏性反応の発現頻度は低く、重篤な事象は認められていない（2.7.4.2.1.1.1.）ことから、臨床使用により重篤な光線過敏症が発現するリスクは低いと考えられる。

2.6.6.9.6.　　不純物の安全性評価

原薬中において安全性の確認が必要である 不純物A*　（[redacted]%）について安全性を評価した結果、反復投与毒性試験における最大耐量投与時又は遺伝毒性試験における陰性用量での推定曝露量はヒト推定曝露量を上回っていたことから、安全性は確認されていると判断した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた

2.6.6.9.7.　結論及び結語

マウス、ラット及びイヌを用いたGSK2118436の反復投与毒性試験における主要所見は心血管系、上皮（皮膚及び胃）、造血／リンパ組織、肝臓、呼吸器系及び精巣・精巣上体への影響であった。

心血管系への影響として、イヌで冠動脈／心筋の変性／壊死、右房室弁の出血／肥厚、右心房壁の線維血管性増殖がみられ、ラットでも血管周囲炎（肝臓、腸間膜）、肝動脈変性及び心筋症、マウスでは様々な組織にときに血管壁の壊死を伴う血管・血管周囲炎が観察された。

上皮への影響として、マウス（消化管）、ラット（前胃、皮膚）及びイヌ（皮膚）においてGSK2118436の薬理作用に関連すると考えられる上皮の増殖性及び過角化性変化が認められたことから、ヒトにおいてもこれらの事象について注意が必要と考える。なお、これらの変化は休薬により回復／回復傾向が認められた。

マウス、ラット及びイヌにおいて精巣毒性がみられ、ラット及びイヌでは休薬後においても明らかな回復性は示されなかった。そのため、GSK2118436Bは雄受胎能に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。また、ラットを用いた生殖発生毒性試験から、GSK2118436Bは雌受胎能､催奇形性及び母体毒性を含む胚･胎児への悪影響を示す可能性が考えられることから、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。

なお、非臨床試験ではいずれの動物においても体温への影響はみられなかったが、ヒトにおいて発熱がみられていることから、臨床使用においてはモニタリングが必要と考える。

2.6.6.10.　図表

図表は本文中に示した。

2.6.6.11.　参考文献

Barnier JV, Papin C, Eychène A, et al. The mouse B-raf gene encodes multiple protein isoforms with tissue-specific expression. *J Biol Chem.* 1995;270:23381-9.

Berruti G. A novel Rap1/B-Raf/14-3-3 θ protein complex is formed in vivo during the morphogenetic differentiation of postmeiotic male germ cells. *Exp Cell Res.* 2000;257:172-9.

Carnahan J, Beltran PJ, Babij C, et al. Selective and potent Raf inhibitors paradoxically stimulate normal cell proliferation and tumor growth. *Mol Cancer Ther.* 2010;9:2399-410.

Chung E, Kondo M. Role of Ras/Raf/MEK/ERK signaling in physiological hematopoiesis and leukemia development. *Immunol Res.* 2011;49:248-68.

Galabova-Kovacs G, Matzen D, Piazzolla D, et al. Essential role of B-Raf in ERK activation during extraembryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:1325-30.

Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature.* 2010;464:431-5.

Hong DS, Vence L, Falchook G, et al. BRAF(V600) inhibitor GSK2118436 targeted inhibition of mutant BRAF in cancer patients does not impair overall immune competency. *Clin Cancer Res.* 2012;18:2326-35.

Kamata T, Kang J, Lee TH, et al. A critical function for B-Raf at multiple stages of myelopoiesis. *Blood.* 2005;106:833-40.

Lewis DJ. Nonneoplastic lesions in the cardiovascular system. In: U Mohr, DL Dungworth, CC Capen, editor. *Pathobiology of the Aging Rat.* Washington DC:ILSI Press, 1992:301-09.

Schilling B, Sondermann W, Zhao F, et al. Differential influence of vemurafenib and dabrafenib on patients' lymphocytes despite similar clinical efficacy in melanoma. *Ann Oncol.* 2014;25:747-53.

Short BG, Louden C, Schwartz LW, et al. Degeneration and periarteritis of hepatic arteries in young Sprague-Dawley rats. *Toxicologic Pathology.* 1998;26:843.

Su F, Viros A, Milagre C, et al. RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *N Engl J Med.* 2012;366:207-15.

Vella LJ, Pasam A, Dimopoulos N, et al. MEK inhibition, alone or in combination with BRAF inhibition, affects multiple functions of isolated normal human lymphocytes and dendritic cells. *Cancer Immunol Res.* 2014;2:351-60.

Wisler JA, Afshari C, Fielden M, et al. Raf inhibition causes extensive multiple tissue hyperplasia and urinary bladder neoplasia in the rat. *Toxicol Pathol.* 2011;39:809-22.

Wojnowski L, Berna R, Park CM, et al. Reduced activity of BRAF protein kinase in hop and hop^{hpy} mouse mutants. *Mamm Genome.* 1998;9:905-6.

Wojnowski L, Zimmer AM, Beck TW, et al. Endothelial apoptosis in Braf-deficient mice. *Nat Genet.* 1997;16:293-7.

グリベックカプセル 100mg 公開資料概要. (イマチニブメシル酸塩). *平成 13 年 11 月承認.* 2001

2.6.7. 毒性試験概要表

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Type of Study	Species (Strain)	Animals/ Group	Method of Administration	Salt Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location (Module)
Single Dose Toxicity										
	Rat (SD)	3M/3F	Oral (gavage)	B	20, 200, 400, 600	Single	No	GSK	CD2009/00799/00 (D09171)	4.2.3.1.
	Dog (beagle)	2M/2F	Oral (capsule)	B	2.5, 20, 40, 80, 20(BID)	Single	No	GSK	CD2009/00563/00 (D09094)	4.2.3.1.
Repeat dose toxicity										
	Mouse (CD-1)	3M/3F [a]	Oral (gavage)	B	50, 150, 500, 1000	14 days	No	GSK	2012N140412_00 (M30002)	4.2.3.2.
	Mouse (CD-1)	22M/22F [j]	Oral (gavage)	B	15, 50, 150	26 weeks	Yes	[redacted]	2012N151126_00 (G12071)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	4M/4F [b]	Oral (gavage)	A	30, 300, 1000	10 days	No	GSK	CD2008/00951/02 (D08193)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	10M/10F [b, c]	Oral (gavage)	A	5, 20, 200	4 weeks	Yes	GSK	CD2008/01511/02 (G08219)	4.2.3.2.
	Rat (SD)	12M/12F [b, d]	Oral (gavage)	A	20, 200, 400	13 weeks	Yes	[redacted]	CD2010/00052/00 (G09168)	4.2.3.2.
	Dog (beagle)	1M/1F	Oral (gavage)	B	10, 100, 300	7 days	No	GSK	R2008/01229/00 (D42349)	4.2.3.2.
	Dog (beagle)	3M/3F [k]	Oral (gavage)	A	1, 5, 50	4 weeks	Yes	GSK	CD2008/01503/02 (G08218)	4.2.3.2.
	Dog (beagle)	4M/4F [l]	Oral (capsule)	B	5, 20, 60(M)/100(F) [e]	13 weeks	Yes	[redacted]	CD2010/00051/00 (G09131)	4.2.3.2.

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: GSK2118436A

Type of Study	Species (Strain)	Animals/ Group	Method of Administration	Salt Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location (Module)
Genotoxicity										
Ames assay	*S. typhimurium* and *E. coli*	NA	In vitro	A	15 to 1500 µg/plate	NA	Yes	GSK	WD2008/01655/00 (V28471)	4.2.3.3.1.
	S. typhimurium and *E. coli*	NA	In vitro	B	1.5 to 1500 µg/plate	NA	Yes	[redacted]	2013N180401_00 (V30772G)	4.2.3.3.1.
Mouse lymphoma assay	L5178Y mouse cells	NA	In vitro	A	1 to 54 µg/mL	NA	Yes	GSK	WD2008/01806/00 (V28465)	4.2.3.3.1.
Micronucleus	Rat (SD)	6M	Oral (gavage)	A	100, 1000 [h]	2 days	Yes	GSK	WD2009/00233/00 (R28503)	4.2.3.3.2.
Reproductive and Development Toxicity										
Preliminary Female fertility, early embryonic and embryofetal development	Rat (SD)	7F	Oral (gavage)	A	5, 20, 200	5 weeks	No	GSK	2010N107959_00 (D10205)	4.2.3.5.1.
Female fertility, early embryonic and embryofetal development	Rat (SD)	25F	Oral (gavage)	A	5, 20, 300	5 weeks	Yes	GSK	2011N113146_01 (G11039)	4.2.3.5.1.

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Type of Study	Species (Strain)	Animals/ Group	Method of Administration	Salt Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location (Module)
Other Toxicity Studies										
CPV assessment of skin samples	Dog (beagle)	3M/3F [i]	Oral (gavage)	A	50	4 weeks	No	GSK	CD2009/00966/02 (I09225)	4.2.3.7.3.
Effects on body temperature	Mouse (CD-1)	6M	Oral (gavage)	A	100, 1000	29 days	No	GSK	2012N132180_00 (I11245)	4.2.3.7.7.
Combination study with GSK1120212B	Dog (beagle)	3M/3F	Oral (capsule/gavage)	B	5 [f]/0.0075 [g], 20 [f]/0.225 [g]	4 weeks	Yes	GSK	2011N112335_00 (G10260)	4.2.3.7.7.
3T3 NRU phototoxicity test	Mouse fibroblasts	NA	In vitro	B	0.316 to 316 µg/mL	NA	Yes	[redacted]	2012N141617_00 (V30086)	4.2.3.7.7.
In vivo phototoxicity	Mouse (Crl:SKH1-*hr*)	10M	Oral (gavage)	B	10, 30, 100, 300	Single	Yes	[redacted]	2014N193267_00 (M30595G)	4.2.3.7.7.

A = GSK2118436A, parent. B = GSK2118436B, mesylate salt. BID = Twice daily. M = Male. F = Female. NA = Not applicable.
CPV = Canine papillomavirus. NRU = Neutral red uptake.

Testing Facility: [redacted]

GSK = GlaxoSmithKline.

a = An additional 18 mice/sex/group were added for toxicokinetic evaluation.
b = An additional 3 rats/sex/group were added for toxicokinetic evaluation.
c = An additional 6 rats/sex were added to the 0 and 200 mg/kg/day groups for a 2 week recovery period.
d = An additional 6 rats/sex were added to the 0, 200 or 400 mg/kg/day groups for a 4 week recovery period.
e = The total daily dose was administered as two daily doses of 2.5, 10 or 30(males)/50(females) mg/kg/dose given approximately 8 hours apart.
f = The capsule dose of GSK2118436B was administered BID at 2.5 and 10 mg/kg/dose.
g = Dose of GSK1120212B used in this combination toxicity study.
h = In the dose range finding portion of the study, doses of up to 2000 mg/kg/day were investigated in males and females.
i = Skin lesion samples were taken from dogs used in the 4 week toxicity study [Report CD2008/01503/02].
j = An additional 12 or 42 mice/sex/group were added for toxicokinetic evaluation for control group and treated groups, respectively.
k = An additional 2 dogs/sex were added to the 0 and 50 mg/kg/day groups for a 2 week recovery period.
l = An additional 3 dogs/sex were added to the 0 and 60/100 mg/kg/day groups for a 4 week recovery period.

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Compound(s) Analyzed	GLP Compliance	Report (Study No.)	Location (Module)
Single	Rat (SD)	Oral (gavage)	20, 200, 400, 600	GSK2118436 GSK2285403 (M7)	No	CD2009/00799/00 (D09171)	4.2.3.1.
Single	Dog (beagle)	Oral (capsule)	2.5, 20, 40, 80 20 (BID)	GSK2118436 GSK2285403 (M7)	No	CD2009/00563/00 (D09094)	4.2.3.1.
Repeat dose toxicity (14 days)	Mouse (CD-1)	Oral (gavage)	50, 150, 500, 1000	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	No	2012N140412_00 (M30002)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (26 weeks)	Mouse (CD-1)	Oral (gavage)	15, 50, 150	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	Yes	2012N151126_00 (G12071)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (10 days)	Rat (SD)	Oral (gavage)	30, 300, 1000	GSK2118436	No	CD2008/00951/02 (D08193)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (4 weeks)	Rat (SD)	Oral (gavage)	5, 20, 200	GSK2118436 GSK2285403 (M7)	Yes	CD2008/01511/02 (G08219)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (13 weeks)	Rat (SD)	Oral (gavage)	20, 200, 400	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	Yes	CD2010/00052/00 (G09168)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (7 days)	Dog (beagle)	Oral (gavage)	10, 100, 300	GSK2118436	No	R2008/01229/00 (D42349)	4.2.3.2.
Repeat dose toxicity (4 weeks)	Dog (beagle)	Oral (gavage)	1, 5, 50	GSK2118436 GSK2285403 (M7)	Yes	CD2008/01503/02 (G08218)	4.2.3.2.

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Compound(s) Analyzed	GLP Compliance	Report (Study No.)	Location (Module)
Repeat dose toxicity (13 weeks)	Dog (beagle)	Oral (capsule)	5, 20, 60M/100F	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	Yes	CD2010/00051/00 (G09131)	4.2.3.2.
Female fertility, early embryonic and embryofetal development (5 weeks)	Rat (SD)	Oral (gavage)	5, 20, 300	GSK2118436	Yes	2011N113146_01 (G11039)	4.2.3.5.1.
Combination toxicity (4 weeks)	Dog (beagle)	Oral (capsule/gavage)	5/0.0075, 20/0.0225[a]	GSK2118436 GSK1120212	Yes	2011N112335_00 (G10260)	4.2.3.7.7.

a = Dose given as GSK2118436B/GSK1120212B.

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg)	Steady State AUC (μg.h/mL)						
	Mice		Rats		Dogs		Humans
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
1					4.10[a]	4.48[a]	
2.5					6.62[g]	5.57[g]	
5			1.91[c]	3.42[c], 2.62[k]	10.5[a], 28.7[d], 23.1[l]	14.0[a], 13.4[d], 31.1[l]	
6 (300 mg/day)							11.8[m]
10					26.3[e]	18.5[e]	
15	9.60[j]	5.44[j]					
20 (with Avicel)			8.70[f]	6.61[f],	58.1[g]	27.8[g]	
20			4.39[c], 6.32[h]	6.01[c], 10.1[h], 4.10[k]	79.4[d], 82.1[l]	118[d], 82.6[l]	
30			13.2[b]	12.1[b]			
20 (BID) (with Avicel)					111[g]	56.8[g]	
40 (with Avicel)					66.3[g]	33.8[g]	
50	23.5[j], 19.8[i]	20.3[j], 11.1[i]			40.2[a]	45.2[a]	
60 (M)/100 (F)					120[d] (Day 1)	116[d] (Day 1)	
80 (with/without Avicel)					137 / 192[g]	63.4 / 62.1[g]	
100					91.6[e]	259[e]	
150	64.4[j], 51.4[i]	47.4[j], 29.1[i]					
200			12.6[c], 29.4[f] , 18.4[h]	28.3[c], 28.8[f] , 21.2[h]			
300			30.1[b]	104[b], 22.6[k]	356[e]	164[e]	
400			48.0[f], 16.8[h]	42.3[f], 26.8[h]			
500	85.8[i]	75.7[i]					

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg)	Steady State AUC (μg.h/mL)						
	Mice		Rats		Dogs		Humans
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
600			49.3[f]	81.6[f]			
1000	99.0[i] (Day4)	155[i] (Day7)	72.4[b]	96.7[b]			

M = Male. F = Female. BID = Twice daily dose.
a = Report CD2008/01503/02; 4 week dog study (Day 28). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
b = Report CD2008/00951/02; 10 day rat study (Day 10).
c = Report CD2008/01511/02; 4 week rat study (Day 28). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
d = Report CD2010/00051/00; 13 week dog study (Week 13) (mesyate salt in gelatin capsules). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
e = Report R2008/01229/00; 7 day dog study (mesyate salt in suspension) (Day 7).
f = Report CD2009/00799/00; single dose rat study (mesyate salt in suspension) (Day 1). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
g = Report CD2009/00563/00; single dose dog study (mesyate salt in gelatin capsules with Avicel unless otherwise noted) (Day 1). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
h = Report CD2010/00052/00; 13 week rat study (Week 13). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
i = Report 2012N140412_00; 14 day mouse study (Day 14). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
j = Report 2012N151126_00; 26 week mouse study (Week 26). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
k = Report 2011N113146_01; female fertility, early embryonic and embryofetal development study (pregnant females).
l = Report 2011N112335_00; 4 week dog combination study (Week 4).
m = Estimated mean AUC_{0-24} based on actual geometric mean AUC_{0-12} of 5.9 μg.h/mL achieved in Japanese subjects given 150 mg BID (Total daily dose 300 mg HPMC capsules) [Phase I study BRF116056].

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg)	Compound Analyzed	Mice		Rats		Dogs		Humans
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	
1[a]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)					4.10 1.00	4.48 1.03	
2.5[c]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)					6.62 1.67	5.57 1.71	
5[a,b]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)			1.91 5.02	3.42 15.5	10.5 2.91	14.0 4.55	
5[e]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)					28.7 6.29 1.37 0.462	13.4 6.17 2.37 0.563	
6 (300 mg/day[k])	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)							11.8 8.92 168 8.82
15[i]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	9.60 2.47 96.1 1.20	5.44 2.81 86.1 1.80					
20[b]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)			4.39 9.52	6.01 23.7			
20[f]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)			8.70 19.4	6.61 24.9			
20[c]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)					58.1 19.4	27.8 12.1	
20[e,g]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)			6.32 12.4 12.9 NC	10.1 34.6 11.4 0.130	79.4 22.5 4.52 1.70	118 36.5 5.00 2.30	
40[c]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)					66.3 25.9	33.8 17.1	
20[c] (BID)	GSK2118436 GSK2285403 (M7)					111 45.3	56.8 26.3	

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg)	Compound Analyzed	Mice		Rats		Dogs		Humans
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	
50[a]	GSK2118436					40.2	45.2	
	GSK2285403 (M7)					16.3	20.1	
50[h]	GSK2118436	19.8	11.1					
	GSK2285403 (M7)	13.8	12.5					
	GSK2298683 (M4)	537	397					
	GSK2167542 (M8)	91.0	54.3					
50[i]	GSK2118436	23.5	20.3					
	GSK2285403 (M7)	5.40	8.65					
	GSK2298683 (M4)	179	272					
	GSK2167542 (M8)	4.56	2.83					
80[c]	GSK2118436					137	63.4	
	GSK2285403 (M7)					62.2	34.2	
80[c,d]	GSK2118436					192	62.1	
	GSK2285403 (M7)					84.1	40.0	
60 (males/ 100 (females)[e]	GSK2118436					120	116	
	GSK2285403 (M7)					52.3	77.0	
	GSK2298683 (M4)					4.18	5.71	
	GSK2167542 (M8)					0.448	1.08	
150[h]	GSK2118436	51.4	29.1					
	GSK2285403 (M7)	33.3	22.5					
	GSK2298683 (M4)	797	439					
	GSK2167542 (M8)	142	67.3					
150[i]	GSK2118436	64.4	47.4					
	GSK2285403 (M7)	16.3	19.0					
	GSK2298683 (M4)	380	482					
	GSK2167542 (M8)	4.84	7.00					
200[b]	GSK2118436			12.6	28.3			
	GSK2285403 (M7)			20.6	60.1			
200[f]	GSK2118436			29.4	28.8			
	GSK2285403 (M7)			48.5	103			
200[g]	GSK2118436			18.4	21.2			
	GSK2285403 (M7)			34.5	57.9			
	GSK2298683 (M4)			50.5	55.4			
	GSK2167542 (M8)			1.50	1.28			

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg)	Compound analyzed	Mice		Rats		Dogs		Humans
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	
400[f]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)			48.0 78.6	42.3 153			
400[g]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)			16.8 34.9 31.1 0.621	26.8 74.0 39.4 1.13			
500[h]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	85.8 83.9 813 165	75.7 68.3 765 111					
600[f]	GSK2118436 GSK2285403 (M7)			49.3 83.4	81.6 188			
1000[h]	GSK2118436 GSK2285403 (M7) GSK2298683 (M4) GSK2167542 (M8)	99.0[j] 88.4[j] 906[j] 261[j]	155[j] 158[j] 826[j] 147[j]					

a = Report CD2008/01503/02; 4 week dog study (Day 28). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
b = Report CD2008/01511/02; 4 week rat study (Day 28). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
c = Report CD2009/00563/00; single dose dog study (Day 1) (GSK2118436 mesyate salt administered in gelatin capsules with Avicel unless otherwise noted). GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study.
d = Dosed without the addition of Avicel in gelatin capsules.
e = Report CD2010/00051/00; 13 week dog study (Week 13) (dabrafenib mesyate in gelatin capsules). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study. Day 1 values for both males and females due to early termination of animals in this group.
f = Report CD2009/00799/00; single dose rat study (mesyate salt in suspension) (Day 1). The metabolite GSK2285403 (M7) was also analyzed in plasma samples from this study
g = Report CD2010/00052/00; 13 week rat study (Week 13). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
h = Report 2012N140412_00; 14 day mouse study (Day 14). The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
i = Report 2012N151126_00; 26 week mouse study (Week 26) The metabolites GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8) were also analyzed in plasma samples from this study.
j = Day 4or Day 7 values for males and females, respectively.
k= Estimated mean AUC_{0-24} based on actual geometric mean AUC_{0-12} of 84.1, 4.46 and 4.41 μg.h/mL for GSK2298683 (M4), GSK2285403 (M7) and GSK2167542 (M8), respectively,achieved in Japanese subjects given 150 mg BID (TDD 300 mg HPMC capsules; 6 mg/kg assuming 50 kg body weight) [Phase I Study BRF116056].
BID = Twice daily dose.
NC = Not Calculated (insufficient data).

2.6.7.4. 毒性試験：被験物質一覧

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurity 不純物A*	不純物B*	不純物C*	不純物D*	Report No. (Study No.)	Type of Study
Proposed Specification		≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)		
081179173	99.4%	Total impurities = 0.54% 不純物A* = 0.48% w/w All other impurities = 0.06% w/w				CD2008/01511/02 (G08219)	Repeat dose toxicity (4 week rat)
						CD2008/01503/02 (G08218)	Repeat dose toxicity (4 week dog)
						WD2008/01655/00 (V28471)	Genotoxicity: Ames assay (GSK2118436A)
						WD2008/01806/00 (V28465)	Genotoxicity: Mouse lymphoma
						WD2009/00233/00 (R28503)	Genotoxicity: Micronucleus
081179173*	99.4	Total impurities = 0.54% 不純物A* = 0.48% w/w All other impurities = 0.06% w/w				CD2010/00052/00 (G09168)	Repeat dose toxicity (13 week rat)
091236623* (092099)	99.9	Total impurities = 0.13% 不純物A* = 0.13% w/w All other impurities = 0.00% w/w					
091231057	99.9	Total impurities = 0.11% 不純物A* = 0.08% w/w All other impurities = 0.03% w/w				CD2010/00051/00 (G09131)	Repeat dose toxicity (13 week dog)

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

Apr 13 2015 14:59:18

Test Article: GSK2118436A／GSK2118436B

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurity 不純物A*	不純物B*	不純物C*	不純物D*	Report No. (Study No.)	Type of Study
Proposed Specification		≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)	≤[redacted]% (w/w)		
091236623 (092099) micronized	99.9	Total impurities = 0.11% 不純物A* = 0.08% w/w All other impurities = 0.03% w/w				2011N113146_01 (G11039)	Female fertility and embryofetal development
091220223 micronized	99.7	Total impurities = 0.33% 不純物A* = 0.23% w/w All other impurities = 0.10% w/w				2011N112335_00 (G10260)	Repeat dose toxicity (4 week dog in combination with GSK1120212)
111306018 (sublot: 111342838) (micronized)	99.7	Total impurities = 0.15% 不純物A* = 0.15% w/w All other impurities = 0.10% w/w				2012N141617_00 (V30086)	In vitro phototoxicity study
121361098 (111307718)	99.8	Total impurities = 0.17% 不純物A* = 0.17% w/w All other impurities = 0.10% w/w				2012N151126_00 (G12071)	Repeat dose toxicity (26 week mouse)
						2013N180401_00 (V30772G)	Genotoxicity: Ames assay (GSK2118436B)
						2014N193267_00 (M30595G)	In vivo phototoxicity study

* = Batch 081179173 was used from Day 1 to Day 30/31 and Batch 091236623 was used from Day 31/32 to Day 91.

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

Test Article: GSK2118436B

Species/ Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Days of Dosing	Doses[1] (mg/kg)	No. of Animals/Sex	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Rat/ Crl:CD(SD)	Oral gavage [0.5% HPMC (K15M)/ 0.1% Tween 80/suspension]	Single dose	20 200 400 600	3M/3F 3M/3F 3M/3F 3M/3F	Dose-related body weight loss was noted at all doses on Day 2. A less than dose-proportional increase in systemic exposure was noted over the range of doses.	CD2009/00799/00
Dog/ beagle	Oral capsule [with and without Avicel PH101 (microcrystalline cellulose) (Avicel (ratio 1:1)]	1 8 15 36 43 58	2.5[2] 20[2] 40[2] 80[2] 80 20 BID[2,3]	2	At doses ≥20 mg/kg, mean GSK2118436 exposure in males was generally higher than in females. All doses were tolerated. Decreased food consumption was noted in one female following each dose. Females lost body weight at all doses that contained Avicel with the exception of the 20 mg/kg BID dose. Vomiting was noted following doses of 20 mg/kg BID with Avicel and 80 mg/kg without Avicel.	CD2009/00563/00

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound.
2 = Dose was administered in capsule(s) with Avicel.
3 = Doses were administered approximately 8 hours apart (total dose 40 mg/kg).

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: GSK2118436B

Species/ Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses[1] (mg/kg/day)	No. of Animals/ Sex[2]	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Mouse/ Crl:CD1 (ICR)	Oral gavage 0.5% HPMC containing 25 mM citrate buffer /suspension	14 Days	0 50 150 500 1000	0 + 3 3 + 18 3 + 18 3 + 18 3 + 18	At ≥500 mg/kg/day some animals were killed early due to poor clinical condition or progressive body weight loss; 1 female at 500 mg/kg/day on Day 8 and 5 animals at 1000 mg/kg/day (TK) on Day 3 (2 males), Day 4 (1 female) or Day 7 (2 females). The remainder of the TK group at 1000 mg/kg/day were terminated on Day 4 (males) or Day 7 (females). Macroscopic observations for some animals included stomach distension, firm stomach contents, dark discolouration and/or fluid contents of the gastrointestinal tract, pale/dark discolouration of the pancreas, reduced pancreas and/or spleen size, and/or red discolouration of the mandibular lymph node. Microscopic findings in some animals killed early (2 males at 1000 mg/kg/day and 1 female at 500 mg/kg/day) were present in the liver (decreased hepatocellular rarefaction) and thymus (decreased cellularity, diffuse lymphoid necrosis) and were considered to be consequences of reduced food intake or stress, respectively. In the female at 500 mg/kg/day killed early, microscopic findings were noted in the pyloric stomach, duodenum/jejunum (degeneration of mucosa), colon (neutrophilic inflammatory cell filtrate in serosa), liver (diffuse neutrophilic inflammatory cell infiltrate in sinusoid), mandibular lymph node (necrosis, correlating with red discolouration). At ≥150 mg/kg/day, predominant clinical signs comprised piloerection, distended abdomen; the frequency and severity generally increased with increasing dose. In addition, at 1000 mg/kg/day, animals showed subdued behaviour, hunched posture and/or partially-closed/closed eyes. At 1000 mg/kg/day, slight mean body weight loss and reduced food consumption (transient during tolerability phase) were noted, influenced at least in part by animals killed early (TK). In males at ≤500 mg/kg/day and females at 150 and 500 mg/kg/day, body weight increased, with a transient reduction in food intake at 500 mg/kg/day.	2012N140412_00

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound.
2 = Three animals/sex/group were initially dosed to assess tolerability and determine toxicokinetic doses. An additional 18 animals/sex/group (except control which had 3 animals/sex) were subsequently dosed to provide samples for toxicokinetic evaluation and additional tolerability data (except the controls which were dosed to provide concurrent control data).

Test Article: GSK2118436A

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses[1] (mg/kg/day)	No. of Animals/ Sex	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Rat/ Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% HPMC with 0.1% Tween 80/ suspension)	10 days	0 30 300 1000	4 4[2] 4[2] 4[2]	There were no test article-related deaths. One male given 1000 mg/kg/day was euthanized on Day 4 due to acute onset lameness which was considered incidental. Arterial degeneration in the liver, epithelial vesicle formation primarily at the junctional ridge of the non-glandular stomach (minimal to moderate), and on re-assessment of testes, degeneration of elongated spermatids, morphologically characterized by the formation of serpentine-like heads on elongating spermatids and occasionally seen with spermatid retention (Stages 9 to 12), were noted in rats given ≥30 mg/kg/day. Body weight loss and hepatocellular vacuolation (minimal) secondary to body weight loss were noted in rats given ≥300 mg/kg/day. Focal perivascular inflammatory cell infiltration (minimal) in the mesentery was also observed in one male rat given 1000 mg/kg/day. Decreased red cell mass parameters and increased neutrophil counts were seen in female rats given ≥30 mg/kg/day and ≥300 mg/kg/day, respectively. Rats given 30 mg/kg/day had decreased mean body weight gain.	CD2008/00951/02

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound.
2 = 3 rats/sex/group were added to groups given ≥30 mg/kg/day for toxicokinetic evaluation on Day 1.

Test Article: GSK2118436B

Species/ Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses[1] (mg/kg/day)	No. of Animals/ Sex	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Dog/ beagle	Oral gavage (0.5% HPMC with 0.1% Tween 80/ suspension)	7 days	10 100 300	1 1 1	The female given 300 mg/kg/day was killed on Day 7 due to moribund condition likely related to severe gastric distension. Primary microscopic findings in this animal were noted in the heart (marked arterial degeneration/necrosis within the right atrium and papillary muscle with secondary localized myocardial degeneration/necrosis and/or inflammation) and thymus (moderate lymphoid depletion). Primary test article-related microscopic findings in dogs that survived to end of study were generally of lesser severity compared to the 300 mg/kg/day female and consisted of minimal to mild arterial degeneration and/or hemorrhage with secondary localized myocardial hemorrhage and/or inflammation in the right atrium of heart, and minimal to marked lymphoid depletion in the thymus. Decreased absolute reticulocyte counts were noted in males and females given ≥100 mg/kg/day. Mean body weights were decreased in a dose-dependent manner for male dogs given ≥10 mg/kg/day and female dogs given ≥100 mg/kg/day. Clinical observations of emesis (Day 1 only) and fecal changes (tan, mucoid and/or loose/watery) were noted during the dosing period for the male dog given 300 mg/kg/day and female dogs given ≥100 mg/kg/day.	R2008/01229/00

1 = Doses 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 週間投与試験

Study Type: Repeat Dose Toxicity

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

Initial Age: 6 weeks

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

Report Title: GSK2118436B: A 26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in Mice with a 13-Week Interim Assessment

Duration of Dosing: 13 or 26 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Vehicle/Formulation: 25 mM citrate buffer with 0.5% w/v HPMC (K15M), pH 4.0, in ultra pure water

Test Item: GSK2118436B
Batch No.: 121361098

GSK Reference No.: G12071

GSK Document Number: 2012N151126_00

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, mortality/moribundity, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, hematology, clinical chemistry, organ weights, macroscopic and microscopic pathology. Selected tissues (liver, brain, kidney and lung) were collected from toxicokinetic animals after the Day 14 dose and shipped to the Sponsor for possible future investigative analysis (if performed, to be reported separately by the Sponsor). The results, if any analysis, will be forwarded to the Study Director and maintained in the study file.

Conclusion: In conclusion, GSK2118436B was given to mice at 0 (control), 15, 50 or 150 mg/kg/day for 26 weeks (main study) once daily by oral gavage. Additional animals were given the same dose levels for 13 weeks (interim study). Reduced body weight/body weight gain relative to control occurred in males and, to a much lesser extent, in females given 150 mg/kg/day. GSK2118436-related increases in liver and spleen weights and a decrease in thymus weights occurred at 150 mg/kg/day. GSK2118436-related microscopic findings consisted of changes in liver (hepatocellular hypertrophy, Kupffer cell hypertrophy/hyperplasia, necrosis/inflammation, peribiliary inflammation, pigment deposit and/or increased mitotic figures), bone marrow (increased myeloid cellularity), spleen (increased extramedulary hematopoiesis), esophagus, stomach and tongue (epithelial/non-glandular mucosa hyperplasia/hyperkeratosis), testis (spermatid retention, increased number of residual bodies and rete testis dilatation), respiratory tract (epithelial eosinophilic globules and/or bronchiolar epithelium hypertrophy) and blood vessels (vascular/perivascular inflammation with or without vascular wall necrosis) of male and/or female mice at ≥15 mg/kg/day. Microscopic findings were seen in lymph nodes (necrosis/neutrophilic inflammation) and thymus (decreased lymphoid cellularity) of male and/or female mice at ≥50 mg/kg/day and gallbladder (mixed cell inflammation) of male and/or female mice at 150 mg/kg/day. Increases in neutrophil, lymphocyte, eosinophil and basophil counts in male and/or female mice at ≥15 mg/kg/day were most likely due to inflammation in several organs and correlated with increased cellularity of the bone marrow and extramedullary hematopoiesis of the spleen. Increases in aspartate aminotransferase and/or alanine aminotransferase activities in individual males and/or females at ≥15 mg/kg/day correlated with various histological findings in the liver for several mice. Slight decreases in glucose and albumin concentrations were noted in males and/or females at 150 mg/kg/day.

Due to microscopic changes in epithelium (mucosal hyperplasia/hyperkeratosis of the non-glandular stomach, esophagus and tongue), liver (necrosis and inflammation), testes and vasculature noted over 26 weeks at all doses, a no observed adverse effect level (NOAEL) was not established. At 15 mg/kg/day, mean GSK2118436 AUC_{0-t} values were 7.52 μg.h/mL and mean C_{max} values were 6.32 μg/mL, based on gender averaged values at Week 26.

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)		Male 0	Male 15	Male 50	Male 150	Female 0	Female 15	Female 50	Female 150
Numbers of Animals:	Interim (13 weeks)	10	10	10	10	10	10	10	10
	Main (26 weeks)	12	12	12	12	12	12	12	12
	Toxicokinetic	12	42	42	42	12	42	42	42
GSK2118436:									
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Week 13	NQ	5.83	32.2	95.7	NQ	3.78	22.6	48.9
	Week 26	NQ	9.60	23.5	64.4	NQ	5.44	20.3	47.4
C_{max} (μg/mL):	Week 13	NQ	4.41	27.6	68.9	NQ	3.08	23.9	37.9
	Week 26	NQ	7.25	20.6	50.5	NQ	5.39	19.3	42.6
T_{max} (h):	Week 13	NQ	0.5	0.5	0.5	NQ	0.5	0.5	0.5
	Week 26	NQ	0.5	0.5	0.5	NQ	0.5	0.5	0.5
GSK2167542 (M8):									
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Week 13	NQ	2.11	8.65	22.2	NQ	3.95	9.19	26.4
	Week 26	NQ	1.20	4.56	4.84	NQ	1.80	2.83	7.00
C_{max} (μg/mL):	Week 13	NQ	0.842	3.07	8.98	NQ	1.68	3.10	8.07
	Week 26	NQ	0.372	1.56	1.27	NQ	0.380	0.948	2.60
T_{max} (h):	Week 13	NQ	1.0	1.0	1.0	NQ	1.0	1.0	1.0
	Week 26	NQ	1.0	1.0	1.0	NQ	1.0	1.0	1.0
GSK2285403 (M7):									
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Week 13	NQ	1.95	7.89	27.9	NQ	2.43	9.82	23.7
	Week 26	NQ	2.47	5.40	16.3	NQ	2.81	8.65	19.0
C_{max} (μg/mL):	Week 13	NQ	1.23	5.65	15.8	NQ	1.49	7.85	15.1
	Week 26	NQ	1.48	4.45	12.5	NQ	2.23	7.59	14.9
T_{max} (h):	Week 13	NQ	0.5	0.5	1.0	NQ	0.5	0.5	1.0
	Week 26	NQ	0.5	0.5	0.5	NQ	0.5	0.5	0.5
GSK2298683 (M4):									
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Week 13	NQ	51.6	230	527	NQ	76.7	253	521
	Week 26	NQ	96.1	179	380	NQ	86.1	272	482
C_{max} (μg/mL):	Week 13	NQ	18.4	77.1	147	NQ	25.6	66.5	178
	Week 26	NQ	30.7	46.0	99.5	NQ	23.4	62.3	133
T_{max} (h):	Week 13	NQ	1.0	1.0	1.0	NQ	1.0	1.0	1.0
	Week 26	NQ	1.0	1.0	1.0	NQ	1.0	1.0	1.0

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Deaths:		0	1(TK)[a]	0	0	1(TK)[b]	0	0	3(TK)[c]
Body Weight (g) (X Control[d]):									
	Week 6	40.57	0.99	1.00	0.95*	30.71	0.97	0.99	0.97
	Week 13	46.40	0.95	0.98	0.90***	34.28	0.97	1.00	0.95
	Week 26	53.01	0.96	0.99	0.84***	38.72	1.00	1.02	0.94
Absolute Body Weight Gain (g)									
(X Control[d]):	Weeks -1 to 13	14.77	0.79	0.91	0.69***	9.87	0.98	1.12	0.96
	Weeks 13 to 26	4.98	1.24	1.25	0.68	4.33	1.31	1.18	0.74
	Weeks -1 to 26	21.48	0.85	0.94	0.62***	14.24	1.07	1.15	0.96
Hematology:									
Neutrophils (10^9/L)	Week 14	0.599	0.650	0.652	0.913	0.455	0.519	0.610	2.361***
	Week 27	0.647	0.755	0.533	1.313*	0.448	0.646*	0.541	1.714*
Lymphocytes (10^9/L)	Week 14	3.871	4.048	4.274	4.781	2.916	4.214	3.806	5.618**
	Week 27	3.482	3.929	3.808	5.054	1.950	4.530***	3.033	4.692***
Eosinophils (10^9/L)	Week 14	0.154	0.282	0.281	0.342	0.145	0.108	0.212	0.453*
	Week 27	0.159	0.153	0.075	0.262	0.065	0.195*	0.100	0.159
Basophils (10^9/L)	Week 14	0.004	0.005	0.007	0.006	0.001	0.003	0.005	0.013**
	Week 27	0.003	0.006	0.003	0.008	0.001	0.008	0.003	0.009
WBC (10^9/L)	Week 14	4.791	5.346	5.354	6.230	3.638	4.968	4.758	8.692***
	Week 27	4.473	5.037	4.556	6.817**	2.568	5.526***	3.805	6.801**

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)		Male 0	Male 15	Male 50	Male 150	Female 0	Female 15	Female 50	Female 150
Clinical Chemistry:									
Aspartate aminotransferase (U/L)	Week 14	41.1	41.9	56.9	49.5	53.7	64.6	64.0	75.0
	Week 27	41.8	47.3	43.9	52.8*	60.4	58.3	61.9	70.2
Alanine aminotransferase (U/L)	Week 14	23.4	27.7	33.6	29.6	22.6	32.4	39.1	38.2
	Week 27	26.9	29.1	27.0	29.8	29.7	32.0	34.7	37.5
Glucose (mmol/L)	Week 14	11.635	12.368	12.678	12.961	9.956	10.741	10.803	8.950
	Week 27	11.039	11.215	10.375	10.183	10.337	9.399	8.960	9.011
Albumin (g/L)	Week 14	32.2	32.0	32.8	30.6	35.3	34.6	36.3	32.3**
	Week 27	33.7	33.7	33.4	31.6*	36.4	36.1	36.3	34.8
Organ Weights (X Control[e]):									
Interim Study (13 Weeks):									
Liver	Absolute (g)	1.8813	0.99	1.04	1.07	1.4615	1.02	1.06	1.27*
	Relative (%; to body weight)	4.31577	1.02	1.03	1.11*	4.29778	1.05	1.07	1.38***
Spleen	Absolute (g)	0.09922	1.10	1.16	1.54**	0.12221	0.89	1.20	1.88**
	Relative (%; to body weight)	0.22861	1.13	1.13	1.58**	0.36058	0.92	1.19	2.06**
Thymus	Absolute (g)	0.02621	0.99	1.18	0.97	0.04234	0.89	0.91	0.76
	Relative (%; to body weight	0.06074	1.00	1.15	1.00	0.12572	0.91	0.91	0.81
Main Study (26 Weeks):									
Liver	Absolute (g)	2.2097	0.99	0.95	0.93	1.5062	1.09	1.06	1.24**
	Relative (%; to body weight)	4.21554	1.02	0.97	1.11*	3.89934	1.09	1.06	1.34***
Spleen	Absolute (g)	0.11932	0.83	0.97	1.32	0.11090	1.09	1.22	1.98***
	Relative (%; to body weight)	0.22804	0.86	0.99	1.58*	0.28947	1.07	1.22	2.14***
Thymus	Absolute (g)	0.02961	0.93	0.99	0.73	0.04056	0.86	1.05	0.79
	Relative (%; to body weight)	0.05557	0.98	1.02	0.89	0.10904	0.83	0.99	0.80

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)		Male 0	Male 15	Male 50	Male 150	Female 0	Female 15	Female 50	Female 150
Microscopic Examination[f]:									
Interim Study (13 Weeks):									
Bone-Femur									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
Liver									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Necrosis/inflammation	Minimal	0	0	1	5	0	1	3	4
	Slight	0	0	1	1	0	1	1	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Hypertrophy: Hepatocellular									
	Minimal	0	0	1	5	0	0	0	3
	Slight	0	0	4	3	0	0	1	3
	Moderate	0	0	0	2	0	0	0	0
Inflammation: Peribiliary									
	Minimal	0	0	0	3	0	0	0	4
Deposits: Pigment									
	Minimal	0	0	1	4	0	2	2	1
	Slight	0	0	1	0	0	0	1	0
Hypertrophy/hyperplasia: Kupffer's cell									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Increased mitotic figures									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Gallbladder									
(Number of Animals Examined)		10	10	9	10	10	10	10	10
Inflammation	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	3
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Bone Marrow									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Cellularity: Increased myeloid	Minimal	0	0	1	2	0	0	1	0
	Slight	0	0	0	2	0	0	0	3
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	3
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Hematopoiesis extramedullary: Increased									
	Minimal	0	0	3	4	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	5	0	1	1	6
	Moderate	0	1	0	0	0	0	1	1
Mandibular Lymph Node									
(Number of Animals Examined)		9	10	10	10	8	9	9	9
Inflammation	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Necrosis									
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Mesenteric Lymph Node									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Necrosis	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation									
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	3
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Thymus									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Cellularity: Decreased lymphoid	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	1
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
	Moderate	1	0	0	0	0	0	0	0
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Tongue									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	9	10
Hyperplasia/hyperkeratosis: Epithelial									
	Minimal	0	0	2	3	0	0	1	2
	Slight	0	0	0	3	0	0	0	4
Increased mitotic figures: Epithelial									
	Minimal	0	0	3	2	0	0	4	3
Inflammation									
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Esophagus									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Hyperplasia/hyperkeratosis: Epithelial									
	Minimal	0	0	1	4	0	0	6	6
	Slight	0	0	0	4	0	0	0	3
Increased mitotic figures: Epithelial									
	Minimal	0	0	4	2	0	0	1	1
Inflammation									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Stomach									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Hyperplasia/hyperkeratosis: Non-glandular									
mucosa	Minimal	0	0	2	4	0	0	5	2
	Slight	0	0	2	6	0	0	2	8
Inflammation									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
Testis									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	NA	NA	NA	NA
Retention: Spermatid	Minimal	0	0	4	7	NA	NA	NA	NA
	Slight	0	0	0	3	NA	NA	NA	NA
Lung									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Eosinophilic globules/hypertrophy:									
Bronchiolar epithelium	Minimal	0	0	0	2	0	0	0	5
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Trachea									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Eosinophilic globules: Epithelial									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	0	1
Cavity Nasal/Sinuses									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Increased eosinophilic globules:									
Respiratory epithelium	Minimal	0	2	1	5	0	0	0	4
	Slight	0	0	0	4	0	0	0	3

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Fat									
(Number of Animals Examined)		0	0	0	1	0	0	0	0
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
Saliv. Glang Mandibular									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Harderian Gland									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Muscle Skeletal									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Ovary									
(Number of Animals Examined)		NA	NA	NA	NA	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	minimal	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Urinary Bladder									
(Number of Animals Examined)		10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation: Vascular/perivascular									
	minimal	0	0	0	0	0	1	0	0

Test Article: GSK2118436B

	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Blood vessels in various tissues (bone, fat, Harderian gland, lung, lymph node, ovary, salivary gland, skeletal muscle, urinary bladder) (Number of Animals Examined)								
Inflammation: Vascular/perivascular	10	10	10	10	10	10	10	10
(severity grade minimal to slight)[g]	0	0	1	4	0	1	2	2
Microscopic Examination[f]: Main Study (26 Weeks) (Number of Animals):	12	12	12	12	12	12	12	12
Liver (Number of Animals Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12
Necrosis/inflammation Minimal	0	0	1	2	1	1	3	6
Slight	0	0	0	1	1	1	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Hypertrophy: Hepatocellular								
Minimal	0	0	0	2	0	0	2	1
Slight	0	0	5	8	0	0	1	3
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Inflammation: Peribiliary								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
Deposits: Pigment								
Minimal	0	0	0	1	1	2	4	6
Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
Hypertrophy/hyperplasia: Kupffer's cell								
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Increased mitotic figures								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	4

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Gallbladder									
(Number of Animals Examined)		11	10	12	12	12	11	12	10
Inflammation	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Bone-Femur									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone Marrow									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Cellularity: Increased myeloid	Minimal	0	1	1	7	0	0	8	3
	Slight	0	0	0	1	0	0	1	6
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Spleen									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Hematopoiesis extramedullary: Increased									
	Minimal	0	1	2	4	0	0	4	5
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	4
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Mandibular Lymph Node									
(Number of Animals Examined)		11	11	12	12	12	12	12	11
Inflammation	Minimal	0	0	1	3	0	1	0	4
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)		Male 0	Male 15	Male 50	Male 150	Female 0	Female 15	Female 50	Female 150
Mesenteric Lymph Node									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	11	12	12	12	12
Inflammation	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Thymus		12	12	12	12	12	12	11	12
(Number of Animals Examined)									
Cellularity: Decreased lymphoid	Minimal	0	0	0	1	0	1	3	1
	Slight	4	1	0	2	0	0	1	4
	Moderate	0	2	2	0	0	0	0	0
Tongue		12	12	12	12	12	12	12	12
(Number of Animals Examined)									
Hyperplasia/ hyperkeratosis: Epithelial									
	Minimal	0	1	6	2	0	0	7	2
	Slight	0	1	3	7	0	0	3	8
	Moderate	0	0	0	3	0	0	0	1
Inflammation									
	Minimal	1	0	1	3	0	1	0	0
Esophagus									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Hyperplasia/hyperkeratosis: Epithelial									
	Minimal	0	2	7	7	0	0	5	4
	Slight	0	0	3	5	0	0	4	5
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation									
	Minimal	0	0	0	2	0	0	2	1
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Ulceration									
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Stomach									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Hyperplasia/hyperkeratosis: Non-glandular									
mucosa	Minimal	0	2	6	10	0	0	2	5
	Slight	0	0	5	2	0	0	6	5
	Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation									
	Minimal	0	0	0	1	0	1	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	1
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	NA	NA	NA	NA
Retention: Spermatid	Minimal	0	10	8	5	NA	NA	NA	NA
	Slight	0	0	4	5	NA	NA	NA	NA
	Moderate	0	0	0	2	NA	NA	NA	NA
Increased number: Residual bodies									
	Minimal	0	6	11	7	NA	NA	NA	NA
Dilatation: Rete testis									
	Minimal	1	0	1	4	NA	NA	NA	NA
Lung									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Eosinophilic globules/hypertrophy:									
Bronchiolar epithelium	Minimal	0	0	0	4	0	0	0	6
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0

Test Article: GSK2118436B

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)		0	15	50	150	0	15	50	150
Trachea									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	11	12	12	12
Eosinophilic globules: Epithelial	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	3
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Cavity Nasal/Sinuses									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Increased eosinophilic globules:									
Respiratory epithelium	Minimal	0	0	1	4	0	2	1	3
	Slight	0	0	0	2	0	0	0	3
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Brain									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Epididymis									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	NA	NA	NA	NA
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA
	Moderate	0	0	1	0	NA	NA	NA	NA
Heart									
(Number of Animals Examined)		12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node									
(Number of Animals Examined)		1	1	2	1	1	2	2	4
Inflammation: Vascular/perivascular									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1

Test Article: GSK2118436B

	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Muscle Skeletal								
(Number of Animals Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation: Vascular/perivascular								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Blood vessels in various tissues (bone, brain-meninges, epididymis, heart, lymph nodes, skeletal muscle, stomach)								
(Number of Animals Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12
Inflammation: Vascular/perivascular								
(severity grade minimal to slight)[g]	0	0	2	3	0	0	1	5

a = TK male animal given 15 mg/kg/day found dead on Day 172; cause of death was incidental.
b = Control TK female animal preterminally euthanized on Day 173 due to general poor condition (observed with decreased activity, signs of dehydration, cold to the touch, thin body condition, hunched posture and head tilt).
c = TK female animals given 150 mg/kg/day preterminally euthanized on Days 5 (replaced since within replacement interval), 78 and 106, respectively, due to gavage accident or incidental.
d = For controls group means are shown, for treated groups X change as compared to controls. Statistical significance is based on actual data not change.
e = Absolute and/or relative weights different from controls in the direction indicated. Numbers indicate X change for absolute organ weights.
f = Including observations with macroscopic findings correlate.
g = This row summarizes the vascular/perivascular inflammation (with or without vascular wall necrosis) described above in various individual tissues. For affected animals, the vascular/perivascular inflammation was found in only one tissue, with the exception of 3 animals for which it was found in 2 tissues.
* = p<0.05. ** = p<0.01. *** = p<0.001.
NA = Not Applicable.
NQ = Not Quantifiable (or below the lower limit of quantification).

2.6.7.7.2. ラット 4 週間投与試験

Report Title: GSK2118436A: 4-Week Oral Toxicity Study in Rats Followed by a 2-Week Recovery Period

Test Article: GSK2118436A
Batch No.: 081179173 (micronized)

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

Duration of Dosing: 4 weeks
Duration of Recovery: 2 weeks

GSK Document No.: CD2008/01511/02

Initial Age: approximately 11 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Study No.: G08219

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: 0.5% HPMC (K15) with 0.1% Tween 80/suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, immunophenotyping (i.e., peripheral blood T-cell subsets and recent thymic emigrants, thymic T-cells), organ weights, macroscopic and microscopic pathology (including stage dependent evaluation of spermatogenesis). A retrospective re-assessment of testes and epididymides including qualitative assessment of spermatogenesis was performed and a peer review of the pathology findings was performed.

Conclusion: GSK2118436 was given by oral gavage to male and female Crl:CD(SD) rats at doses of 0, 5, 20 and 200 mg/kg/day for 4 weeks followed by a 2-week recovery period. Test article-related findings included transient mean body weight loss and/or decreases in mean body weight gain in rats given 200 mg/kg/day, minimal to mild bilateral degeneration of elongated spermatids and spermatid retention in the testes at all doses, minimal to mild cellular debris in the epididymides at all doses, and minimal to mild focal epithelial (keratinocyte) degeneration in the keratin overlying the junctional ridge of the stomach at all doses in both males and females. The body weight and food consumption effects were transient despite continued dosing, were not associated with any adverse clinical observations, and demonstrated partial reversibility with cessation of dosing. Testicular and epididymal changes were still present at the end of the recovery period. The stomach changes (possibly a local rather than systemic effect) were of low severity and also demonstrated reversibility, and were therefore considered nonadverse. Other minor test article-related changes (slightly increased spleen weights, decreased triglycerides, slightly increased incidence of minimal cardiomyopathy and minimal erythrocytosis of mandibular/cervical lymph nodes) were also determined to be nonadverse. Based on adverse findings in the testes at ≥5 mg/kg/day, a no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) was not established for males [at 5 mg/kg/day, for GSK2118436: mean $AUC_{0\text{-}t}$ 1.91 μg.h/mL, range 1.39 to 2.60 μg.h/mL, mean C_{max} 0.755 μg/mL, range 0.713 to 0.784 μg/mL ; for GSK2285403 (M7): mean $AUC_{0\text{-}t}$ 5.02 μg.h/mL, range 3.33 to 6.31 μg.h/mL, mean C_{max} 0.774 μg/mL, range 0.610 to 0.882 μg/mL (based on Day 28 values for males)]. Based on the lack of adverse findings, a NOAEL was not clearly defined for females but was considered to be >200 mg/kg/day [at 200 mg/kg/day, for GSK2118436: mean $AUC_{0\text{-}t}$ 28.3 μg.h/mL, range 22.6 to 38.5 μg.h/mL, mean C_{max} 3.80 μg/mL, range 2.95 to 4.96 μg/mL; for GSK2285403 (M7): mean $AUC_{0\text{-}t}$ 60.1 μg.h/mL, range 54.2 to 71.1 μg.h/mL, mean C_{max} 5.70 μg/mL, range 4.62 to 7.65 μg/mL (based on Day 28 values for females)].

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[1]		Male 0	Male 5	Male 20	Male 200	Female 0	Female 5	Female 20	Female 200
No. of Animals:	Main	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	6	0	0	6	6	0	0	6
	Toxicokinetic	3	3	3	3	3	3	3	3
GSK2118436									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	3.64	9.43	23.0	NC	2.96	7.74	27.1
	Day 28	NC	1.91	4.39	12.6	NC	3.42	6.01	28.3
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	0.983	1.58	2.50	NQ	1.01	1.80	3.73
	Day 28	NQ	0.755	1.27	1.62	NQ	1.07	1.53	3.80
GSK2285403 (M7)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	10.7	20.6	44.9	NC	13.6	34.2	89.6
	Day 28	NC	5.02	9.52	20.6	NC	15.5	23.7	60.1
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	1.37	2.21	4.07	NQ	1.26	3.32	6.80
	Day 28	NQ	0.774	1.33	2.12	NQ	1.51	2.44	5.70
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Deaths:		0	0	0	1[2]	0	0	0	0
Body Weight[5]:									
Treatment Period	Day 3	383.43 g	1.00X	0.99X	0.99X	251.11 g	1.00X	1.01X	0.94X*
	Day 7	394.61 g	0.99X	0.98X	0.98X	256.20 g	0.98X	1.00X	0.93X*
	Day 28	457.57 g	1.00X	0.99X	0.96X	286.04 g	0.96X	1.00X	0.92X*
Recovery Period	Day 42	489.02 g	NA	NA	1.00X	314.38 g	NA	NA	0.88X
Body Weight Gain[4]:									
Treatment Period	Days 1 to 3	7.00 g	8.88 g	6.34 g	-4.39 g**[3]	4.33 g	3.80 g	1.16 g	-10.14 g**[3]
	Days 1 to 7	18.17 g	13.81 g	11.24 g	0.73 g[3]	9.42 g	5.15 g	2.37 g	-8.18 g[3]
	Days 1 to 28	81.14 g	81.00 g	79.83 g	56.58 g	39.26 g	27.42 g	31.00 g	17.51 g
Recovery Period	Days 30 to 42	29.72 g	NA	NA	35.38 g	15.05 g	NA	NA	19.93 g

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[1]		Male 0	Male 5	Male 20	Male 200	Female 0	Female 5	Female 20	Female 200
Food Consumption[5]:									
Treatment Period	Days 2 to 7	27.0 g/day	0.99X	0.96X*	0.95X*	19.8 g/day	0.99X	0.98X	0.91X
	Days 2 to 25 (total)	465.4 g	0.99X	0.99X	0.95X	339.8 g	0.98X	0.97X	0.96X
Recovery Period	Days 30 to 42 (total)	277.8 g	NA	NA	0.96X	200.0 g	NA	NA	0.93X
Clinical Chemistry[4]:									
Triglycerides (mmol/L), Week 5		0.632	0.599	0.578	0.498	0.524	0.419*	0.391*	0.289**
Triglycerides (mmol/L), Week 7		0.822	NA	NA	0.762	0.783	NA	NA	0.758
Organ Weights[6]:									
Spleen, absolute	Day 29/30	0.7999 g	0.97X	1.08X	1.11X	0.5261 g	1.03X	1.06X	1.21X**
	Day 44	0.7982 g	NA	NA	1.01X	0.5290 g	NA	NA	1.12X
Spleen, relative (to body weight)									
	Day 29/30	0.184%	0.99X	1.09X	1.19X*	0.200%	1.07X	1.06X	1.29X**
	Day 44	0.170%	NA	NA	1.00X	0.180%	NA	NA	1.28X*
Macroscopic Examination - Terminal (No. of Animals):		10	10	10	10	10	10	10	10
Stomach, red focal discoloration of non-glandular mucosa (junctional ridge)		0	0	0	1	0	0	0	1
Stomach, irregular suface (junctional ridge)		0	0	0	1	0	0	0	0
Macroscopic Examination - Recovery:		No test article-related macroscopic findings at recovery necropsy.							
Microscopic Examination - Terminal (No. of Animals):		10	10	10	10	10	10	10	10
Heart, cardiomyopathy	Minimal	2	2	4	6	1	0	1	0
Lymph nodes, mandibular/cervical, erythrocytosis	Minimal	2	3	4	5	2	5	4	4
Stomach, degeneration; junctional ridge; keratinocyte, focal	Minimal	0	2	6	3[7]	0	1	5	3
	Mild	0	0	2	2[7]	0	0	2	3

Test Article: GSK2118436A

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)[1]		0	5	20	200	0	5	20	200
Microscopic Examination - Terminal (No. of Animals) - Re-Assesment:		10	10	10	10	-	-	-	-
Epididymides, cellular debris, bilateral	Minimal	0	6	1	0	NA	NA	NA	NA
	Mild	0	4	9	9	NA	NA	NA	NA
Testes, spermatid retention									
	Minimal	0	6	1	0	NA	NA	NA	NA
	Mild	0	4	9	9	NA	NA	NA	NA
Testes, degeneration of elongated spermatids, bilateral	Minimal	0	7	1	0	NA	NA	NA	NA
	Mild	0	3	9	9	NA	NA	NA	NA
Microscopic Examination - Recovery (No. of Animals) - Re-Assessment:		6	-	-	5	-	-	-	-
Epididymides, cellular debris, bilateral	Mild	0	NA	NA	3	NA	NA	NA	NA
	Moderate	0	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
	Marked	0	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
Testes, spermatid retention									
	Mild	0	NA	NA	2	NA	NA	NA	NA
	Moderate	0	NA	NA	3	NA	NA	NA	NA
Testes, degeneration of elongated spermatids, bilateral	Mild	0	NA	NA	3	NA	NA	NA	NA
	Moderate	0	NA	NA	2	NA	NA	NA	NA

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[1]	Male 0	Male 5	Male 20	Male 200	Female 0	Female 5	Female 20	Female 200
Testes, depletion of elongated spermatids								
Mild	0	NA	NA	2	NA	NA	NA	NA
Testes, atrophy, seminiferous tubule, bilateral								
Moderate	0	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound.
2 = Male rat (animal No.: R08M3496) given 200 mg/kg/day was killed unscheduled for humane reasons on Day 9. Macroscopically, the left hindlimb was swollen with red discoloration and there was a 2x2 mm crust above the left eye. Microscopically, the changes in the hindlimb included marked chronic active inflammation surrounding the phalanges, mild hemorrhage and moderate vesicles in the epidermis. There was a mild focal ulcer in the skin of the face. This animal had minimal bilateral degeneration of elongated spermatids and minimal spermatid retention in the testes which were considered test article-related. Minimal cellular debris was also noted within the epididymides and was considered secondary. Mild focal arterial degeneration within portal areas of the liver and a mild sperm granuloma within the epididymis were not considered test article-related. Because the clinical and macroscopic observations were more consistent with physical trauma (e.g., fighting with cagemate), the death was not considered related to administration of GSK2118436.
3 = Statistical significance listed on table occurred for Day 1 to 3 measurement interval during Week 1 of dosing.
4 = For controls and test article-treated groups, group means are shown. Statistical significance is based on actual data not change from control data.
5 = For controls, group means are shown. For test article-treated groups, change from control is shown. Statistical significance is based on actual data not change from control data.
6 = For controls, group means are shown for absolute and/or relative weights. For test article-treated groups, change from control is shown. Statistical significance is based on actual data not change from control data.
7 = No. examined = 9 for stomach (one stomach lost in processing).
* = p<0.05. ** = p<0.01. NA = Not Applicable. NC = Not Calculated. ND = Not Detectable. NQ = Not quantifiable. - = Not examined.

2.6.7.7.3. ラット 13 週間投与試験

Report Title: GSK2118436A: A 13 Week Oral Gavage Toxicity in the Rat Followed by a 4-Week Recovery

Test Article: GSK2118436A
Batch Nos.: 081391 [GSK No. 081179173] (used from Day 1 to Day 30/31) and 092099 [GSK No. 091236623] (used from Day 31/32 to Day 91), (micronized)

Species/Strain: Crl:CD(SD) rat

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

GSK Document No.: CD2010/00052/00

Initial Age: At least 10 weeks

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Study No.: G09168

Date of First Dose: [redacted]20

Vehicle/Formulation: 0.5% HPMC (K15M) and 0.1% Tween 80 in deionized water/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.

Conclusion: GSK2118436 (vehicle, 20, 200 or 400 mg/kg/day) was given orally to male and female rats for 13 weeks followed by a 4 week recovery period. Body weight loss or reduced body weight gain and reduced food consumption occurred at ≥20 mg/kg/day within the first week of dosing but did not worsen with continued dosing and demonstrated reversibility during the recovery period. Test article-related microscopic changes were observed at ≥20 mg/kg/day in the skin (acanthosis/hyperkeratosis of footpads and interdigital skin), forestomach (epithelial hyperplasia with epithelial down-growth into muscularis mucosa and inflammation) and male reproductive tissues (tubular degeneration/depletion in testis and secondary oligo/aspermia in epididymis). The incidence and/or severity and/or type of these changes suggested a partial reversibility of the affected organs and tissues after 4 weeks of recovery. No evidence of gastric epithelial down-growth was apparent following the recovery period. Findings in the pancreatic lymph nodes (lymphoid hyperplasia with respective macroscopic changes) in males and females at all doses, in the liver (midzonal hepatocellular vacuolation) in several rats given ≥200 mg/kg/day, and increased relative splenic mean weights without histologic correlation in males at all doses and in females given ≥200 mg/kg/day were generally reversible. Based on findings in skin, forestomach and testes at all dose levels, a no observed adverse effect level (NOAEL) was not established. At 20 mg/kg/day, mean GSK2118436 $AUC_{0\text{-}t}$ values were 8.22 (range 3.19 to 12.3) µg.h/mL and mean GSK2118436 C_{max} values were 1.54 (range 0.794 to 2.24) µg/mL for gender averaged values at Week 13.

Test Article: GSK2118436A

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)[a]		0	20	200	400	0	20	200	400
No. 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
GSK2118436 (Parent Compound)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg.h/mL):	Day 1	NC	11.7	14.5	31.5	NC	11.2	17.3	24.6
	Week 4	NC	4.54	6.41	8.64	NC	6.32	7.39	12.6
	Week 13	NC	6.32	18.4	16.8	NC	10.1	21.2	26.8
C_{max} (µg/mL):	Day 1	NQ	1.42	1.46	1.76	NQ	1.78	1.95	1.76
	Week 4	NQ	0.840	0.924	0.824	NQ	1.48	1.36	1.75
	Week 13	NQ	1.16	1.94	1.69	NQ	1.93	5.83	3.19
GSK2298683 (M4)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg.h/mL):	Day 1	NC	8.11	14.1	25.4	NC	6.77	16.1	17.1
	Week 4	NC	5.75	17.7	12.8	NC	5.86	23.6	15.1
	Week 13	NC	12.9	50.5	31.1	NC	11.4	55.4	39.4
C_{max} (µg/mL):	Day 1	NQ	0.617	0.971	1.90	NQ	0.366	1.26	1.36
	Week 4	NQ	0.466	1.25	0.916	NQ	0.469	1.62	0.999
	Week 13	NQ	0.902	2.72	1.67	NQ	0.870	4.67	2.41
GSK2285403 (M7)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg.h/mL):	Day 1	NC	30.2	41.0	89.2	NC	61.4	88.5	105
	Week 4	NC	14.7	16.8	19.1	NC	27.2	33.9	37.6
	Week 13	NC	12.4	34.5	34.9	NC	34.6	57.9	74.0
C_{max} (µg/mL):	Day 1	NQ	2.65	3.59	5.16	NQ	5.01	6.67	5.98
	Week 4	NQ	1.45	1.51	1.58	NQ	2.56	3.15	2.76
	Week 13	NQ	1.30	2.72	2.58	NQ	2.97	8.41	5.51

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
GSK2167542 (M8)									
AUC_{0-t} (μg.h/mL):	Day 1	NC	1.53	2.18	7.81	NC	0.684	1.69	2.32
	Week 4	NC	0.281	1.86	2.01	NC	0.330	2.44	3.21
	Week 13	NC	NC	1.50	0.621	NC	0.130	1.28	1.13
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	0.121	0.202	0.670	NQ	0.078	0.144	0.207
	Week 4	NQ	0.059	0.279	0.283	NQ	0.113	0.488	0.346
	Week 13	NQ	0.016	0.106	0.034	NQ	0.020	0.121	0.065
Noteworthy Findings:									
Unscheduled Death:		0	0	0	0	0	0	0	1[b]
Clinical Observations:		Clinical observations related to administration of GSK2118436 were limited to increased incidence of skin lesions (mostly seen on the hindpaws) at all doses and suspected dehydration, thin body condition and prominent backbone (starting during Week 1) in some females given 400 mg/kg/day (generally resolved by Week 4).							
Body Weight [c]:	Day 3	414.8 g	0.98	0.95*	0.96*	248.6 g	0.98	0.94**	0.94**
	Day 5	421.7 g	0.97	0.94**	0.94**	250.7 g	0.98	0.94**	0.93***
	Day 7	436.1 g	0.96	0.93***	0.93***	258.6 g	0.96	0.93***	0.91***
	Day 28	503.4 g	0.97	0.94*	0.93**	276.6 g	0.98	0.96*	0.95*
	Day 91	655.8 g	0.95	0.92*	0.92*	329.6 g	0.96	0.92**	0.94
	End of recovery	690.3 g	-	0.97	0.99	341.7 g	-	1.03	1.02
Body Weight Gain (g):									
	Days -1 to 3	21.4	17.8	5.5***	7.4***	8.2	5.1	-4.1***	-6.6***
	Days 3 to 5	6.9	1.3	1.3*	-1.4***	2.1	2.8	2.4	-1.5
	Days 5 to 7	14.3	11.2	10.1	9.1*	7.9	3.4	3.1*	2.5*
(X control[c]):	Days -1 to 91	262.4 g	0.88	0.83**	0.82**	89.2 g	0.90	0.72***	0.78**
Recovery:	Days 91 to 119	47.2 g	-	1.44*	1.52**	15.7 g	-	2.71*	2.18
Food Consumption (X control)[d]:	Days -1 to 87	2622.3 g/animal	0.96	0.93	0.91	1627.7 g/animal	0.95	0.93	0.96

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
Hematology:									
Lymphocytes (x10⁹/L)	Week 4	10.573	8.907	11.574	12.457	6.729	8.793	8.460	10.095***
	Week 13	9.588	8.256	10.222	11.871*	4.486	6.590**	6.289**	6.448**
	End of recovery	9.803	-	9.382	9.325	5.425	-	7.018	5.390
Eosinophils (x10⁹/L)	Week 4	0.117	0.138	0.181**	0.167*	0.120	0.091	0.109	0.128
	Week 13	0.138	0.145	0.205*	0.222**	0.115	0.123	0.141	0.151
	End of recovery	0.183	-	0.168	0.150	0.078	-	0.116	0.100
Neutrophils (x10⁹/L)	Week 4	1.527	1.273	1.438	1.311	1.259	0.950	0.814	1.131
	Week 13	2.080	1.902	1.613	1.897	0.872	1.075	1.036	1.808
	End of recovery	1.655	-	2.810	1.467	0.678	-	0.998	0.832
Monocytes (x10⁹/L)	Week 4	0.256	0.231	0.249	0.280	0.166	0.172	0.215	0.189
	Week 13	0.318	0.286	0.235	0.273	0.104	0.140	0.168*	0.179**
	End of recovery	0.242	-	0.358	0.250	0.133	-	0.184	0.113
Clinical Chemistry:									
Triglycerides (mmol/L)	Week 4	1.065	0.999	0.765	0.737	0.747	1.033	0.732	0.618
	Week 13	1.650	0.998*	1.146	0.914***	1.131	1.462	0.918	0.753
	End of recovery	2.030	-	1.700	1.248	1.512	-	1.110	1.790
Total protein (g/L)	Week 4	70.8	68.6	67.7**	69.0	76.4	75.5	72.0**	70.6***
	Week 13	73.5	70.5*	70.7*	69.4***	80.9	78.9	74.0***	73.9***
	End of recovery	72.7	-	71.5	73.0	80.5	-	79.5	80.7
Albumin (g/L)	Week 4	45.0	44.6	44.0	45.2	52.2	52.6	49.4*	49.1**
	Week 13	45.1	43.5	45.1	44.8	55.9	56.2	52.3*	52.8
	End of recovery	45.2	-	44.7	46.0	54.7	-	55.8	56.7
Phosphorus (mmol/L)	Week 4	2.857	2.507**	2.361***	2.461***	2.221	2.045	1.996	2.417
	Week 13	2.305	2.004***	1.956***	1.966***	1.563	1.678	1.497	1.518
	End of recovery	2.242	-	2.175	2.242	1.600	-	1.910	1.635

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
Organ Weights[c]:									
Week 13 (End of Dosing Period)									
Testis									
Absolute		3.8087 g	0.93	0.72**	0.63***	-	-	-	-
Relative		0.60713%	0.99	0.78	0.70*	-	-	-	-
Spleen									
Absolute		1.0408 g	1.10	1.21	1.13	0.6123 g	1.11	1.11	1.17
Relative		0.16469%	1.18*	1.31***	1.25**	0.19572%	1.15	1.25**	1.27**
Week 17 (End of Recovery Period)									
Testis									
Absolute		3.7532 g	-	0.67*	0.77	-	-	-	-
Relative		0.56755%	-	0.70	0.76	-	-	-	-
Spleen									
Absolute		1.0218 g	-	1.10	1.04	0.5930 g	-	1.11	1.23
Relative		0.15448%	-	1.13	1.03	0.18030%	-	1.09	1.20
Microscopic Examination[e]:									
Main Study (No. of Animals):		12	12	12	12	12	12	12	12
Liver									
Vacuolation: Midzonal	Minimal	0	0	0	1	0	0	3	1
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	1
Lymph Node (No. examined)		(0)	(1)	(4)	(4)	(0)	(3)	(1)	(4)
Hyperplasia: Lymphoid	Minimal	-	0	1	1	-	2	0	0
	Slight	-	0	1	2	-	1	1	2
	Moderate	-	1	2	0	-	0	0	1

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
Skin, Miscellaneous (No. examined)					(12)	(12)	(12)	(11)
Acanthosis/hyperkeratosis: Forepaw								
Minimal	0	3	5	3	0	0	4	2
Slight	0	1	1	2	0	0	0	1
Moderate	0	0	3	4	0	0	0	1
Marked	0	0	0	1	0	0	0	0
Acanthosis/hyperkeratosis: Hindpaw								
Minimal	1	4	2	2	0	4	7	2
Slight	0	3	2	2	0	1	2	5
Moderate	0	2	4	5	0	0	0	2
Marked	0	0	2	1	0	0	0	0
Mixed inflammatory infiltrate: Forepaw								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
Mixed inflammatory infiltrate: Hindpaw								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach								
Hyperplasia: Non-glandular mucosa								
Minimal	0	3	2	1	0	3	5	4
Slight	0	0	2	1	0	1	0	0
Moderate	0	5	2	4	0	3	0	3
Marked	0	1	2	2	0	0	2	3
Epithelial down-growth: Submucosa								
Minimal	0	1	1	4	0	0	1	2
Slight	0	0	1	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Infiltration: Mixed cell								
Minimal	0	2	3	5	0	2	0	1
Slight	0	4	2	3	0	0	0	2
Moderate	0	0	1	0	0	1	2	2

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
Testis								
Degeneration/depletion: Seminiferous epithelium Minimal	0	8	4	4	-	-	-	-
Slight	0	3	1	0	-	-	-	-
Moderate	0	1	3	0	-	-	-	-
Marked	0	0	2	2	-	-	-	-
Severe	0	0	2	6	-	-	-	-
Hypoplasia/atrophy: Seminiferous tubule Minimal	1	0	0	0	-	-	-	-
Epididymis								
Oligo/aspermia Minimal	0	9	4	3	-	-	-	-
Slight	0	3	1	1	-	-	-	-
Moderate	0	0	3	0	-	-	-	-
Marked	0	0	4	8	-	-	-	-
Microscopic Examination[e]: Recovery (No. of Animals):	6	0	6	6	6	0	6	6
Skin, Miscellaneous								
Acanthosis/hyperkeratosis: Forepaw Minimal	0	-	1	0	0	-	0	0
Slight	0	-	0	1	0	-	0	0
Acanthosis/hyperkeratosis: Hindpaw Minimal	0	-	3	5	0	-	1	3
Slight	0	-	0	1	0	-	0	0
Stomach								
Hyperplasia: Non-glandular mucosa Minimal	0	-	1	1	0	-	1	0
Slight	0	-	1	2	0	-	0	1
Moderate	0	-	0	1	0	-	2	2
Marked	0	-	0	1	0	-	0	0
Infiltration: Mixed cell Minimal	0	-	2	3	0	-	1	1
Slight	0	-	0	1	0	-	1	2

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male 0	Male 20	Male 200	Male 400	Female 0	Female 20	Female 200	Female 400
Testis									
Degeneration/depletion: Seminiferous epithelium	Minimal	0	-	0	1	-	-	-	-
	Slight	0	-	2	1	-	-	-	-
	Moderate	0	-	1	1	-	-	-	-
	Marked	0	-	2	2	-	-	-	-
	Severe	0	-	1	0	-	-	-	-
Hypoplasia/atrophy: Seminiferous tubule	Minimal	2	-	0	0	-	-	-	-
Epididymis									
Oligo/aspermia	Slight	0	-	1	0	-	-	-	-
	Moderate	0	-	0	1	-	-	-	-
	Marked	0	-	3	2	-	-	-	-
Cellular debris: Intratubular	Minimal	0	-	2	3	-	-	-	-

a = Doses expressed in terms of parent compound, GSK2118436.
b = One main study female given 400 mg/kg/day (No. 4506) was found dead on Day 22. The likely cause of death was related to the experimental procedure (jugular blood collection) and was not considered test article-related.
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 = At the end of dosing period (up to Day 87). For controls, mean cumulative food consumption per animal is shown; for treated groups, X change as compared to controls. Statistical analysis was not performed on cumulative food consumption.
e = Including observations with macroscopic findings correlate.
* = p<0.05. ** = p<0.01. *** = p<0.001.

NC = Not Calculated (insufficient data).
NQ = Not Quantifiable (or below the lower limit of quantification).
- = Not examined/not applicable.

2.6.7.7.4. イヌ 4 週間投与試験

Report Title: GSK2118436A: 4-Week Oral Toxicity Study in Dogs Followed by a 2-Week Recovery Period

Test Article: GSK2118436A
Batch No.: 081179173 (micronized)

Species/Strain: Dog/beagle

Duration of Dosing: Up to 29 days
Duration of Recovery: 2 weeks

GSK Document No.: CD2008/01503/02

Initial Age: approximately 10 to 14 months

Route/Frequency: Oral by gavage, once daily

Study No.: G08218

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

Vehicle/Formulation: 0.5% HPMC (K15) with 0.1% Tween 80

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, organ weights, transmission electron microscopy, macroscopic and microscopic pathology. A retrospective re-assessment of testes and epididymides, including qualitative assessment of spermatogenesis, was performed and a peer review of findings was completed for terminal male dogs given 0 or 50 mg/kg/day. Testes and epididymides were also examined, including qualitative assessment of spermatogenesis, and a peer review of findings was completed for all male dogs given 1 or 5 mg/kg/day and for all recovery male dogs.

Conclusion: GSK2118436A was given orally, by gavage, once daily to male and female beagle dogs (n=3/sex/group) at doses of 0 (vehicle), 1, 5 and 50 mg/kg/day for 4 weeks with additional dogs (n=2/sex/group) at doses of 0 (vehicle) and 50 mg/kg/day included to assess recovery after a 2 week off-treatment period. Test article-related marked hypertrophy and mild focal hemorrhage of the tricuspid (right atrioventricular) valve were observed in the heart of one male given 50 mg/kg/day at terminal necropsy and were considered to be adverse. Given the increased incidence of microscopic skin lesions at terminal necropsy (papilloma, focal acanthosis and/or hyperkeratosis) in dogs given 50 mg/kg/day (3 dogs) compared to control (1 dog), the potential for GSK2118436-induced immunologic impairment cannot be ruled out. The no observed adverse effect level (NOAEL) in this study was 5 mg/kg/day [for GSK2118436, AUC_{0-t} 12.25 μg.h/mL, range 7.35 to 21.4 μg.h/mL; C_{max} 2.68 μg/mL, range 1.49 to 3.87 μg/mL, and for GSK2285403 (M7), AUC_{0-t} 3.73 μg.h/mL, range 1.83 to 6.97 μg.h/mL; C_{max} 0.479 μg/mL, range 0.274 to 0.699 μg/mL (gender averaged based on Day 28 values)].

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)[1]		Male 0	Male 1	Male 5	Male 50	Female 0	Female 1	Female 5	Female 50
No. of Animals:	Main	3	3	3	3	3	3	3	3
	Recovery	2	0	0	2	2	0	0	2
GSK2118436									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	4.47	19.2	48.9	NC	5.83	17.3	35.7
	Day 28	NC	4.10	10.5	40.2	NC	4.48	14.0	45.2
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	1.13	3.69	8.87	NQ	1.21	3.23	6.58
	Day 28	NQ	0.893	2.73	8.41	NQ	0.841	2.62	6.85
GSK2285403 (M7)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	0.950	6.55	17.2	NC	1.08	6.15	13.5
	Day 28	NC	1.00	2.91	16.3	NC	1.03	4.55	20.1
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	0.162	0.927	1.85	NQ	0.145	0.539	1.49
	Day 28	NQ	0.144	0.420	2.20	NQ	0.137	0.538	1.75
Noteworthy Findings:									
Clinical Observations:		Abnormal fecal consistency (mucoid, soft, loose/watery) and/or discoloration (yellow, green, tan, with dose-like material, black/dark)were observed in all dose groups but with greatest frequency and incidence at 50 mg/kg/day. Raised, depigmented areas on skin [ears and/or muzzle (upper/lower lips), slight to extreme in severity] and/or a pedunculated mass [chin or ear, slight to extreme in severity] were observed in one control dog and in 4 dogs given 50 mg/kg/day. These observations occurred during Weeks 3 and/or 4 for all affected dogs and were no longer clinically evident by Day 41 of the recovery phase for the remaining 2 affected dogs (both in group given 50 mg/kg/day).							
Total Mean Food Consumption[2]:									
Treatment phase (Days 6 to 28)		1092.8 g	1.06X	0.85X	0.82X	884.0 g	0.81X	0.98X	0.83X
Recovery phase (Days 34 to 39)		280.5 g	NA	NA	1.19X	381.5 g	NA	NA	1.11X

Test Article: GSK2118436A

	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)[1]	0	1	5	50	0	1	5	50
Macroscopic Examination, Day 29/30 (No. of Animals):	3	3	3	3	3	3	3	3
Skin - Chin tan pedunculated area (~5 x 5 mm)	0	0	0	0	1	0	0	0
Skin - Muzzle, chin, external ear [tan, raised areas within area of muzzle (~1 to 2 mm in diameter) adjacent to nasal planum, nodular appearance of external ear (~1 x 1 cm area near inner ear canal), small pedunculated area in chin region (~1 mm at base)]	0	0	0	1	0	0	0	0
Skin - Muzzle, chin, external ear [tan, raised areas within area of muzzle (~2 to 3 mm in diameter) adjacent to nasal planum, nodular appearance of external ear, small pedunculated area in chin region (~1.5 x 1 cm)]	0	0	0	0	0	0	0	1
Macroscopic Examination, Day 42:	No macroscopic findings for 2 dogs/sex given 0 or 50 mg/kg/day.							
Microscopic Examination, Day 29/30 (No. of Animals):	3	3	3	3	3	3	3	3
Heart								
Hemorrhage, tricuspid valve, focal								
Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Hypertrophy, tricuspid valve								
Marked	0	0	0	1	0	0	0	0

Test Article: GSK2118436A

		Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)[1]		0	1	5	50	0	1	5	50
Skin (Based on Macroscopic Observations)									
Acanthosis, external ear, focal	Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Acanthosis, muzzle	Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperkeratosis, external ear	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammatory cell infiltrate, mononuclear cell, chin, sebaceous gland	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Ulcer, external ear		0	0	0	0	0	0	0	1
Ulcer, chin		0	0	0	0	0	0	0	1
Papilloma, external ear and/or chin, squamous cell, benign		0	0	0	0	1	0	0	1
Microscopic Examination, Day 42:		No microscopic findings for 2 dogs/sex given 0 or 50 mg/kg/day.							

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound.
2 = Mean calculated from total of weekly qualitative food consumption measurements/dog. For controls, group means are shown and for test article-treated groups, change from control is shown.
NA = Not applicable NC = Not Calculable NQ = Not Quantifiable.

2.6.7.7.5. イヌ 13 週間投与試験

Report Title: GSK2118436B: A 13 Week Twice Daily Oral Capsule Toxicity Study in the Beagle Dog Followed by a 4-Week Recovery

Test Article: GSK2118436B
Batch No.: 091231057(micronized)

Species/Strain: Dog/beagle

Duration of Dosing: 13 weeks at 5 or 20 mg/kg/day and up to 15 days at 60 (males) or 100 (female) mg/kg/day
Duration of Recovery: 4 weeks

GSK Document No.: CD2010/00051/00

Initial Age: approximately 13 to 14 months

Route/Frequency: Oral capsule, twice daily (BID, 8 hours apart)

Study No.: G09131

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: Empty gelatin capsules

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Toxicokinetics, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, echocardiography, hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis, serum cardiac troponin I, organ weights, macroscopic and microscopic pathology observations.

Conclusion: GSK2118436B was given orally to male and female beagle dogs at 0 (empty capsule), 5, 20 or 60 (males) or 100 (females) mg/kg/day for up to 13 weeks via gelatin capsule [twice daily (BID) dosing; 8 hours apart]. A dose of 60/100 mg/kg/day was not tolerated and dosing was discontinued after 14/15 days due to poor clinical condition and body weight loss with the main study animals given 60/100 mg/kg/day being euthanized after 1 week off-dose and recovery animals euthanized after 4 weeks off-dose. For animals given 5 or 20 mg/kg/day for 13 weeks, skin lesions (papules, red skin, skin scabs) at several sites (such as muzzle, pinna, lower jaw, inguinal, scrotum, ventral thoracic), swollen paws and ear discharge, generally starting in the third week of dosing, prompted intermittent veterinary supportive care. Administration of 5 and/or 20 mg/kg/day for 13 weeks induced microscopic changes in heart (fibrovascular proliferation in a female at 20 mg/kg/day only, with no ECG or echocardiographic abnormalities), lung (lobar inflammation, 20 mg/kg/day only), sternal bone marrow (myeloid hypercellularity, 20 mg/kg/day only), skin with changes in popliteal lymph nodes (acanthosis/hyperkeratosis, mixed inflammatory cell infiltration and erosion/crust, squamous follicular cysts in the paws with secondary medullary plasmacytosis and sinus erythrocytosis/erythrophagocytosis in the popliteal lymph nodes), thymus (lymphoid depletion and/or reduced thymus weights), testis (degeneration/depletion of seminiferous epithelium) and epididymis (oligo/aspermia). Microscopic findings in lung, sternal bone marrow, thymus, testis and epididymis at 60/100 mg/kg/day for 2 weeks were similar to those noted above for dogs given 20 mg/kg/day for 13 weeks. In addition, there were microscopic findings in liver (hepatocellular vacuolation) and oral cavity (bilateral gingival inflammation, erosion/ulceration, with underlying bone resorption and osteomyelitis). These findings at 60/100 mg/kg/day for 2 weeks were reversible following a 4 week recovery period; however, changes in the testis and epididymis were still present in several males, and cardiac fibrovascular proliferation was observed after the recovery period in the right atrium of one male given 60 mg/kg/day without ECG or echocardiographic abnormalities.

Based on adverse changes in testis and skin observed at ≥5 mg/kg/day, a no observed adverse effect level (NOAEL) in this study was not established. At 5 mg/kg/day, mean GSK2118436 $AUC_{0\text{-}t}$ values were 28.7 [range 16.9 to 38.3] and 13.4 [range 10.3 to 15.9] μg.h/mL, and mean GSK2118436 C_{max} values were 2.65 [range 1.38 to 3.27] and 1.96 [range 1.56 to 2.29] μg/mL, for males and females, respectively, at Week 13.

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
No. of Animals:	Main	4	4	4	4	4	4	4	4
	Recovery	3	0	0	3	3	0	0	3
GSK2118436 (Parent Compound)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	21.9	76.3	120	NC	8.88	49.3	116
	Week 4	NC	19.9	92.8	-	NC	11.1	70.8	-
	Week 13	NC	28.7	79.4	-	NC	13.4	118	-
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	2.08	8.27	10.7	NQ	1.13	5.09	12.0
	Week 4	NQ	1.88	8.72	-	NQ	1.89	7.66	-
	Week 13	NQ	2.65	8.07	-	NQ	1.96	11.6	-
Concentration Ratio (Day 7/Day 1) at 12 hours after first BID dose		-	0.8	1.0	3.0	-	1.2	3.9	3.2
GSK2298683 (M4)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL):	Day 1	NC	0.973	3.42	4.18	NC	1.78	2.25	5.71
	Week 4	NC	1.03	5.04	-	NC	1.88	3.25	-
	Week 13	NC	1.37	4.52	-	NC	2.37	5.00	-
C_{max} (μg/mL):	Day 1	NQ	0.0713	0.211	0.261	NQ	0.132	0.138	0.369
	Week 4	NQ	0.0647	0.265	-	NQ	0.143	0.236	-
	Week 13	NQ	0.0919	0.251	-	NQ	0.194	0.287	-
Concentration Ratio (Day 7/Day 1) at 12 hours after first BID dose		-	1.2	1.0	1.0	-	0.9	1.5	1.0

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
GSK2285403 (M7)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg.h/mL):	Day 1	NC	5.05	27.8	52.3	NC	4.69	20.9	77.0
	Week 4	NC	4.82	30.3	-	NC	5.25	23.8	-
	Week 13	NC	6.29	22.5	-	NC	6.17	36.5	-
C_{max} (µg/mL):	Day 1	NQ	0.424	2.04	3.92	NQ	0.491	1.66	5.85
	Week 4	NQ	0.376	2.17	-	NQ	0.689	2.13	-
	Week 13	NQ	0.505	1.60	-	NQ	0.766	2.66	-
Concentration Ratio (Day 7/Day 1) at 12 hours after first BID dose		-	1.1	0.9	1.2	-	1.0	3.0	0.7
GSK2167542 (M8)									
$AUC_{0\text{-}t}$ (µg.h/mL):	Day 1	NC	NC	0.362	0.448	NC	NC	1.21	1.079
	Week 4	NC	0.130	1.21	-	NC	0.0556	2.16	-
	Week 13	NC	0.462	1.70	-	NC	0.563	2.30	-
C_{max} (µg/mL):	Day 1	NQ	0.0155	0.0288	0.0353	NQ	0.0145	0.0952	0.0914
	Week 4	NQ	0.0203	0.107	-	NQ	0.0171	0.206	-
	Week 13	NQ	0.0401	0.162	-	NQ	0.0418	0.227	-
Concentration Ratio (Day 7/Day 1) at 12 hours after first BID dose		-	1.3	5.5	4.6	-	NC	12.6	1.3

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Noteworthy Findings: Unscheduled Deaths[b]:	0	0	0	4	0	0	0	4
Noteworthy Findings at Non-Tolerated Dose of 60/100 mg/kg/day:	Due to severity of clinical signs and body weight loss, dosing of dogs given 60/100 mg/kg/day was discontinued after 14/15 days. Dogs exhibited thin body condition, inappetence, body weight loss (up to 0.83X pre-dosing values), dehydration, red gums/gingivitis, increased incidence of liquid feces and occasional/transient emesis. On Day 7, for dogs given 60/100 mg/kg/day, mean GSK2118436 plasma concentration values at 12 hours after the first BID dose (estimated C_{max}) were approximately 3-fold higher than on Day 1. Dehydration and thin body condition improved following discontinuation of dosing, however, the general poor condition led to euthanasia of main study dogs at this dose on Day 22/23 after 1 week off-dose. GSK2118436 at 60/100 mg/kg/day was associated with microscopic findings in lung (slight lobar bronchoalveolar inflammation), sternal bone marrow (minimal to slight myeloid hypercellularity), thymus (moderate to marked lymphoid depletion), testis (minimal to slight degeneration/depletion of the seminiferous epithelium), epididymis (slight oligo/aspermia; minimal to slight intratubular cellular debris), liver (minimal to moderate hepatocellular vacuolation) and oral cavity (moderate bilateral gingival inflammation, erosion and ulceration, with underlying bone resorption and osteomyelitis, observed in a female given 100 mg/kg/day). Findings observed in sternal bone marrow, thymus, liver, lung and oral cavity were not seen in recovery dogs. However, changes in testis and epididymis were still present in several males. In addition, cardiac fibrovascular proliferation was observed in the right atrium of one male after the recovery period without any apparent physiological change as ECG and echocardiographic findings were within normal limits. Although mean body weight loss from Days -1 to 21 occurred, food supplementation during the recovery period helped to reach overall mean body weight gain relative to mean pre-treatment values. Reversible effects on clinical pathology parameters were observed in dogs given 60/100 mg/kg/day. These changes, when compared to pre-treatment values, included increases in neutrophil and monocyte counts (up to 1.95X) and decreases in reticulocyte counts (up to 0.17X) associated with decreases in red blood cell mass parameters (up to 0.88X), changes observed histologically (myeloid hypercellularity as the predominant change with the appearance of decreased erythroid cell precursors). Serum alkaline phosphatase was increased (up to 3.92X), while urea, creatinine, albumin and total protein were decreased (up to 0.65X). Serum sodium, phosphorus and chloride concentrations were increased (up to 1.15X). Minimal decreases in urine specific gravity (0.97X) and urinary pH associated with decreased serum potassium concentrations (up to 0.92X) were not associated with histopathological renal findings. These clinical pathology changes were reversible after a 4 week recovery period.							

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Clinical Observations:		At 5 or 20 mg/kg/day, various skin lesions at several sites and ear discharge prompted supportive care with veterinary treatments. Frequent skin sites included muzzle, fore/hindpaws and pinna. Occasional and transient emesis, reduced appetite, thin fur cover and dehydration were observed in some animals, mostly seen after 2 weeks of dosing and sporadically up to the end of dosing; increased incidences of red gums, liquid and black feces were also observed. Labored and/or shallow breathing were observed in one male given 20 mg/kg/day during the last 3 weeks of dosing, and as noted during veterinary examination, in another male given 20 mg/kg/day only on Day 73. These same two dogs each had slight tremors on two occasions between Days 71 to 77.							
Body Weight (X Day -1)[c]:	Day 14	10.24 kg	1.03	0.94	0.86	6.96 kg	1.03	1.00	0.83
	Day 18	10.27 kg	1.00	0.94	0.88	7.04 kg	1.04	0.97	0.87
	Day 21	10.27 kg	1.01	0.93	0.90	7.06 kg	1.03	1.00	0.89
(X Control)[d]:	Week 9	10.80 kg	0.99	0.96	-	7.13 kg	1.01	0.94	-
	Week 10	10.90 kg	0.98	0.93	-	7.20 kg	0.99	0.91	-
	Week 11	10.85 kg	0.99	0.91	-	7.18 kg	1.00	0.89	-
	Week 13	10.60 kg	1.01	0.96	-	7.23 kg	0.98	0.88	-
Body Weight Gain (kg):									
Dosing over 2 weeks	Days -1 to 21	0.23	-	-	-1.07	0.31	-	-	-0.74
	Days 21 to 42	0.00	-	-	1.47	-0.17	-	-	0.73
Dosing over 13 weeks	Days -1 to 91	0.33	0.60	-0.70	-	1.00	0.83	0.18	-
Food Consumption (X Control)[d]:									
(g/animal/day)	Week 1	346.84	0.79	0.81	0.62	250.66	0.98	0.88	0.63
Hematology:									
Neutrophil (x10^9/L)	Pre-treatment	5.794	8.003	5.723	5.031	5.836	4.730	5.455	6.799
	Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	9.833	-	-	-	11.031
	End of 4 week recovery	6.960	-	-	4.717	6.717	-	-	4.447
	Week 4	5.920	8.183	10.233	-	5.979	4.925	10.530	-
	Week 13	5.440	8.448	13.880	-	7.023	4.890	11.263	-
Monocyte (x10^9/L)									
	Pre-treatment	0.533	0.728	0.430	0.437	0.441	0.388	0.483	0.499
	Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	0.456	-	-	-	0.661
	End of 4 week recovery	0.557	-	-	0.370	0.553	-	-	0.423
	Week 4	0.438	0.640	0.613	-	0.501	0.408	0.805	-
	Week 13	0.480	0.460	0.843	-	0.448	0.348	0.613	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Hematology (Continued):								
RBC count (x10^{12}/L)								
Pre-treatment	6.631	6.430	6.420	6.183	6.327	5.975	6.173	6.426
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	5.739	-	-	-	5.930
End of 4 week recovery	6.600	-	-	6.340	5.883	-	-	6.230
Week 4	6.758	6.710	6.858	-	6.516	6.343	6.068	-
Week 13	6.825	6.420	6.358	-	6.848	6.393	6.425	-
Hemoglobin (g/L)								
Pre-treatment	147.9	147.3	148.5	143.1	141.6	139.0	138.5	145.0
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	127.9	-	-	-	129.7
End of 4 week recovery	144.3	-	-	141.3	133.0	-	-	138.0
Week 4	146.0	151.3	153.8	-	144.0	145.8	132.3	-
Week 13	151.5	145.0	141.3	-	150.3	146.5	139.5	-
Hematocrit (%)								
Pre-treatment	41.34	41.00	41.60	39.44	39.73	38.43	38.63	40.20
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	34.86	-	-	-	35.26
End of 4 week recovery	40.20	-	-	39.33	36.50	-	-	38.77
Week 4	41.20	42.30	43.40	-	40.41	40.70	37.20	-
Week 13	43.68	42.10	41.35	-	43.50	42.18	40.45	-
Reticulocyte count (x10^{9}/L)								
Pre-treatment	37.53	26.13	24.68	27.50	40.16	27.48	21.55	30.34
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	7.53	-	-	-	5.26
End of 4 week recovery	31.17	-	-	48.37	16.37	-	-	26.30
Week 4	35.17	33.78	22.93	-	36.56	39.83	34.25	-
Week 13	30.88	29.85	46.60	-	23.80	18.08	22.48	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Clinical Chemistry:								
Alkaline phosphatase (U/L)								
Pre-treatment	37.4	49.3	27.5	33.0	34.6	47.0	39.3	32.9
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	78.6	-	-	-	129.1
End of 4 week recovery	39.3	-	-	36.0	40.0	-	-	31.7
Week 4	38.9	34.0	48.3	-	33.1	43.8	106.0	-
Week 13	38.5	42.8	62.8	-	28.5	45.8	143.8	-
Urea (mmol/L)								
Pre-treatment	5.86	4.65	5.75	5.94	5.41	5.80	6.75	5.80
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	4.13	-	-	-	4.29
End of 4 week recovery	6.13	-	-	6.50	5.20	-	-	6.50
Week 4	7.10	5.93	6.58	-	6.60	7.43	6.23	-
Week 13	6.55	4.95	5.55	-	5.58	6.00	5.55	-
Creatinine (μmol/L)								
Pre-treatment	71.0	59.8	62.0	63.3	56.9	55.3	53.0	58.1
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	49.1	-	-	-	37.9
End of 4 week recovery	71.0	-	-	70.7	59.0	-	-	62.0
Week 4	68.4	53.0	50.8	-	55.6	55.3	41.8	-
Week 13	73.3	55.3	48.5	-	53.0	57.5	44.0	-
Cholesterol (mmol/L)								
Pre-treatment	3.601	3.653	3.538	3.389	3.683	4.015	3.340	4.136
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	4.114	-	-	-	4.286
End of 4 week recovery	3.967	-	-	4.050	4.767	-	-	4.043
Week 4	3.884	3.220	3.115	-	3.827	3.693	3.363	-
Week 13	3.613	3.163	3.110	-	3.368	3.848	3.640	-
Total protein (g/L)								
Pre-treatment	57.1	58.0	57.3	55.4	54.0	54.3	54.5	54.3
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	53.6	-	-	-	49.9
End of 4 week recovery	57.3	-	-	57.7	55.0	-	-	54.0
Week 4	54.9	56.5	58.0	-	52.7	56.0	54.0	-
Week 13	55.3	58.5	61.8	-	51.8	56.3	57.5	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Clinical Chemistry (Continued):								
Albumin (g/L)								
Pre-treatment	34.9	35.3	34.8	33.6	34.0	34.3	33.0	34.3
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	28.7	-	-	-	28.0
End of 4 week recovery	34.7	-	-	35.0	33.7	-	-	34.0
Week 4	33.1	33.8	31.0	-	33.3	35.0	31.5	-
Week 13	35.0	34.8	29.0	-	34.3	35.0	30.8	-
Phosphorus (mmol/L)								
Pre-treatment	1.337	1.310	1.280	1.380	1.134	1.145	1.310	1.307
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	1.429	-	-	-	1.500
End of 4 week recovery	1.273	-	-	1.340	1.183	-	-	1.397
Week 4	1.307	1.130	0.843	-	1.213	1.108	0.803	-
Week 13	1.070	1.063	0.823	-	1.023	1.008	0.743	-
Sodium (mmol/L)								
Pre-treatment	147.7	149.0	148.8	148.6	148.3	149.3	149.3	148.9
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	150.4	-	-	-	150.0
End of 4 week recovery	146.0	-	-	148.0	147.7	-	-	147.7
Week 4	148.1	148.0	148.3	-	148.9	149.8	148.8	-
Week 13	148.8	148.5	148.0	-	149.8	148.5	147.8	-
Potassium (mmol/L)								
Pre-treatment	4.583	4.573	4.653	4.497	4.410	4.235	4.293	4.614
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	4.173	-	-	-	4.234
End of 4 week recovery	4.687	-	-	4.447	4.407	-	-	4.450
Week 4	4.816	4.665	4.365	-	4.583	4.375	4.108	-
Week 13	4.455	4.310	4.220	-	4.180	4.268	4.013	-
Chloride (mmol/L)								
Pre-treatment	112.6	114.3	114.8	115.0	113.7	114.5	114.0	114.9
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	115.7	-	-	-	117.1
End of 4 week recovery	113.7	-	-	114.7	114.7	-	-	114.3
Week 4	112.7	115.0	116.3	-	112.9	113.8	115.5	-
Week 13	114.3	115.0	115.0	-	114.8	113.5	115.3	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Urinalysis:								
Specific gravity Pre-treatment	1.0570	1.0578	1.0568	1.0621	1.0626	1.0595	1.0660	1.0663
Week 3 (unscheduled necropsy)	-	-	-	1.0283	-	-	-	1.0383
End of 4 week recovery	1.0580	-	-	1.0490	1.0593	-	-	1.0457
Week 4	1.0527	1.0560	1.0358	-	1.0583	1.0613	1.0558	-
Week 13	1.0570	1.0553	1.0430	-	1.0643	1.0623	1.0548	-
Organ Weights (X Control)[e]: Scheduled Necropsy (Dosing Over 13 Weeks):								
Thymus								
Absolute	7.6710 g	0.85	0.48	-	6.7788 g	0.77	0.29	-
Relative	0.07352%	0.83	0.51	-	0.09346%	0.80	0.35	-
Macroscopic Examination: (No. of Animals): Unscheduled Necropsy (Dosing Over 2 Weeks):	0	0	0	4	0	0	0	4
Carcass								
Thin	-	-	-	1	-	-	-	1
Cavity (oral)								
Ulceration	-	-	-	0	-	-	-	1
Heart								
Area dark	-	-	-	1	-	-	-	1
Area raised	-	-	-	0	-	-	-	2
Swelling	-	-	-	1	-	-	-	0
Lung								
Adhesion	-	-	-	2	-	-	-	0
Area dark	-	-	-	1	-	-	-	0
Area raised	-	-	-	2	-	-	-	1
Foci (pale)	-	-	-	1	-	-	-	1
Lymph Node								
Area dark	-	-	-	1	-	-	-	1
Discoloration (dark)	-	-	-	1	-	-	-	3

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Macroscopic Examination: (No. of Animals): Unscheduled Necropsy (Dosing Over 2 Weeks) (Continued):	0	0	0	4	0	0	0	4
Lymph Node (popliteal)								
Foci (dark)	-	-	-	0	-	-	-	1
Skin Miscellaneous								
Area depressed	-	-	-	0	-	-	-	1
Testis								
Small	-	-	-	1	-	-	-	-
Thymus								
Small	-	-	-	4	-	-	-	4
Macroscopic Examination:(No. of Animals) Recovery Necropsy (Dosing Over 2 Weeks, and 4 Weeks of Recovery):	3	0	0	3	3	0	0	3
Heart								
Thickening	0	-	-	1	0	-	-	0
Lung								
Adhesion	0	-	-	1	0	-	-	0
Area pale	1	-	-	0	0	-	-	0
Area raised	1	-	-	2	1	-	-	0
Foci (pale)	2	-	-	0	0	-	-	0
Lymph Node								
Area dark	0	-	-	1	0	-	-	0
Discoloration (dark)	1	-	-	1	1	-	-	0
Enlargement	1	-	-	0	0	-	-	0
Lymph Node (popliteal)								
Area dark	0	-	-	1	0	-	-	0
Foci (dark)	0	-	-	1	0	-	-	0
Thymus								
Foci (dark)	0	-	-	3	0	-	-	2
Small	0	-	-	0	1	-	-	0

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]	Male				Female			
	0	5	20	60	0	5	20	100
Macroscopic Examination:(No. of Animals) Scheduled Necropsy (Dosing Over 13 Weeks):	4	4	4	0	4	4	4	0
Heart								
Area raised	0	1	1	-				-
Thickening	0	0	0	-	0	0	1	-
Lung								
Adhesion	0	0	2	-	0	0	1	-
Area dark	0	0	0	-	1	0	1	-
Area pale	0	0	1	-	0	1	0	-
Area raised	1	0	0	-	1	1	2	-
Discoloration (dark)	0	0	1	-	0	0	1	-
Discoloration (pale)	0	0	2	-	0	0	0	-
Firm	0	0	1	-	0	0	1	-
Foci (pale)	0	0	0	-	1	2	0	-
Nodule	0	0	0	-	0	0	1	-
Mass	0	0	1	-	0	0	0	-
Thickening	0	0	2	-	0	0	0	-
Uncollapsed	0	0	1	-	0	0	0	-
Lymph Node								
Area dark	0	1	2	-	0	0	1	-
Discoloration (dark)	0	0	2	-	2	0	2	-
Enlargement	0	0	3	-	0	0	0	-
Foci dark	0	0	1	-	0	0	0	-
Lymph Node (popliteal)								
Area dark	0	0	3	-	0	0	1	-
Enlargement	0	2	1	-	0	0	0	-
Foci (dark)	0	0	2	-	0	0	0	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Macroscopic Examination:(No. of Animals) Scheduled Necropsy (Dosing Over 13 Weeks) (Continued):		4	4	4	0	4	4	4	0
Skin Miscellaneous									
Area dark		0	0	1	-	0	0	0	-
Area raised		0	4	4	-	0	4	4	-
Enlargement		0	2	0	-	0	0	2	-
Mass		0	2	3	-	0	2	2	-
Nodule		0	1	0	-	0	0	3	-
Scab		1	1	3	-	0	0	1	-
Scale		0	1	0	-	0	0	0	-
Thickening		0	4	3	-	0	0	3	-
Ulceration		0	1	2	-	0	0	0	-
Thymus									
Small		0	1	3	-	1	1	4	-
Microscopic Examination[b]: (No. of Animals): Unscheduled Necropsy (Dosing Over 2 Weeks):		0	0	0	4	0	0	0	4
Bone Marrow									
Hypercellularity; myeloid	Minimal	-	-	-	4	-	-	-	2
	Slight	-	-	-	0	-	-	-	1
Liver									
Vacuolation; hepatocellular	Minimal	-	-	-	0	-	-	-	1
	Slight	-	-	-	0	-	-	-	1
	Moderate	-	-	-	4	-	-	-	1
Lung									
Inflammation; bronchoalveolar	Slight	-	-	-	1	-	-	-	0
Lymph Node Popliteal[f]									
Erythrocytosis/erythrophagocytosis; sinusal	Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Oral Cavity[f]									
Inflammation; subacute	Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Testis									
Degeneration/depletion; seminiferous epithelium	Minimal	-	-	-	2	-	-	-	-
	Slight	-	-	-	1	-	-	-	-
Epididymis									
Oligo/aspermia	Minimal	-	-	-	0	-	-	-	-
	Slight	-	-	-	1	-	-	-	-
Cellular debris; intratubular									
	Minimal	-	-	-	1	-	-	-	-
	Slight	-	-	-	2	-	-	-	-
Thymus									
Depletion; lymphoid	Moderate	-	-	-	1	-	-	-	4
	Marked	-	-	-	3	-	-	-	0
Microscopic Examination: (No. of Animals)									
Recovery Necropsy (Dosing Over 2 Weeks, and 4 Weeks of Recovery):		3	0	0	3	3	0	0	3
Heart									
Proliferation; fibrovascular	Marked	0	-	-	1	0	-	-	0
Testis									
Degeneration/depletion; seminiferous epithelium	Minimal	1	-	-	2	-	-	-	-
	Slight	1	-	-	1	-	-	-	-
Hypo/aspermatogenesis									
	Minimal	1	-	-	0	-	-	-	-
	Slight	1	-	-	0	-	-	-	-
Epididymis									
Cellular debris; intratubular	Minimal	2	-	-	2	-	-	-	-
	Slight	0	-	-	1	-	-	-	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Microscopic Examination[b]: (No. of Animals): Scheduled Necropsy (Dosing Over 13 Weeks):		4	4	4	0	4	4	4	0
Bone Marrow									
Hypercellularity; myeloid	Minimal	0	0	0	-	0	0	1	-
	Slight	0	0	1	-	0	0	0	-
Heart									
Proliferation; fibrovascular	Marked	0	0	0	-	0	0	1	-
Lung									
Inflammation; bronchoalveolar									
	Slight	0	0	1	-	0	0	1	-
	Moderate	0	0	1	-	0	0	0	-
	Marked	0	0	1	-	0	0	0	-
Lymph Node Popliteal (No. Examined)		(0)	(2)	(4)	-	(0)	(0)	(1)	-
Erythrocytosis/erythrophagocytosis; sinusal	Minimal	-	1	1	-	-	-	1	-
	Slight	-	0	2	-	-	-	0	-
Plasmacytosis; medullary cords									
	Minimal	-	2	1	-	-	-	0	-
Skin									
Infiltration; mixed cell	Minimal	0	0	1	-	0	0	1	-
Skin, Miscellaneous (No. Examined)		(1)	(4)	(4)	-	(0)	(1)	(4)	-
Acanthosis	Minimal	0	2	1	-	-	0	3	-
	Slight	0	2	1	-	-	0	1	-
	Moderate	0	0	1	-	-	0	0	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	0	2	2	-	-	0	2	-
	Slight	0	1	1	-	-	0	0	-
Erosion/crust									
	Minimal	1	0	3	-	-	0	2	-
	Slight	0	1	0	-	-	0	0	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Skin, Muzzle (No. Examined)		(4)	(4)	(3)	-	(4)	(3)	(4)	-
Acanthosis	Minimal	0	2	0	-	0	3	2	-
	Slight	0	2	3	-	0	0	1	-
	Moderate	0	0	0	-	0	0	1	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	0	3	3	-	0	2	3	-
Skin, Paw (No. Examined)		(4)	(4)	(4)	-	(4)	(1)	(3)	-
Acanthosis	Minimal	0	2	0	-	0	0	0	-
	Slight	0	0	2	-	0	1	2	-
	Moderate	0	2	1	-	0	0	1	-
	Marked	0	0	1	-	0	0	0	-
Inflammation; chronic									
	Minimal	2	0	1	-	2	0	1	-
	Slight	0	0	1	-	0	1	1	-
	Moderate	0	2	0	-	0	0	0	-
	Marked	0	0	1	-	0	0	0	-
Cyst; squamous									
	Minimal	0	0	1	-	1	0	0	-
	Slight	0	0	0	-	0	0	1	-
	Moderate	0	0	1	-	0	0	0	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	2	1	0	-	1	0	2	-
	Slight	0	1	4	-	0	1	1	-
Skin, Pinna (No. Examined)		(4)	(3)	(4)	-	(4)	(3)	(4)	-
Acanthosis	Minimal	0	1	0	-	0	2	1	-
	Slight	0	1	2	-	0	0	0	-
	Moderate	0	1	0	-	0	0	3	-
	Marked	0	0	2	-	0	0	0	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	1	1	1	-	0	1	0	-
	Slight	0	2	3	-	0	0	3	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Skin, Prepuce (No. Examined)		(4)	(0)	(2)	-	(0)	(0)	(0)	-
Acanthosis									
	Minimal	0	-	2	-	-	-	-	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	0	-	1	-	-	-	-	-
Erosion									
	Minimal	0	-	2	-	-	-	-	-
Skin, Scrotum (No. Examined)		(4)	(4)	(3)	-	(0)	(0)	(0)	-
Acanthosis	Minimal	0	2	2	-	-	-	-	-
	Slight	0	2	1	-	-	-	-	-
Infiltration; mixed cell									
	Minimal	1	0	1	-	-	-	-	-
	Slight	0	3	1	-	-	-	-	-
	Moderate	0	1	0	-	-	-	-	-
Erosion/crust									
	Minimal	0	2	1	-	-	-	-	-
Testis									
Degeneration/depletion; seminiferous epithelium	Minimal	0	1	1	-	-	-	-	-
	Slight	0	3	1	-	-	-	-	-
	Moderate	0	0	2	-	-	-	-	-

Test Article: GSK2118436B

Daily Dose (mg/kg/day)[a]		Male				Female			
		0	5	20	60	0	5	20	100
Epididymis									
Oligo/aspermia	Minimal	1	3	0	-	-	-	-	-
	Slight	0	1	1	-	-	-	-	-
	Moderate	0	0	1	-	-	-	-	-
	Marked	0	0	1	-	-	-	-	-
	Severe	0	0	1	-	-	-	-	-
Cellular debris; intratubular									
	Minimal	0	3	0	-	-	-	-	-
	Slight	0	1	1	-	-	-	-	-
	Moderate	0	0	3	-	-	-	-	-
Thymus									
Depletion; lymphoid	Minimal	0	1	0	-	1	0	1	-
	Slight	0	0	0	-	0	0	1	-
	Moderate	0	0	2	-	0	0	1	-
	Marked	0	0	2	-	0	0	1	-

a = Doses expressed in terms of parent compound, GSK2118436.
b = Group 4 main study animals (given 60/100 mg/kg/day) were euthanized on Day 22/23.
c = For controls, group means are shown; for treated groups, X change as compared to mean pre-treatment.
d = For controls, group means are shown; for treated groups, X change as compared to controls. Where Weeks 9, 10, 11 and 13 correspond to Days 63, 70, 77 and 91, respectively.
e = Absolute and/or relative weights different from controls. For control group, mean are shown; for treated groups, X change as compared to controls.
f = Tissue only from one female given 100 mg/kg/day examined.
NC = Not calculated (due to insufficient data).
NQ = Not Quantifiable (below the lower limit of quantification).
- = Not examined/not applicable.

2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1. GSK2118436A の細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: GSK2118436A: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*

Test Article: GSK2118436A

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells

No. of Independent Tests: 2

Study No.: V28471
GSK Document No.: WD2008/01655/00

Strain: *S. typhimurium* (TA100, TA1535, TA1537, TA98) and *E. coli* (WP2 *uvr*A (pKM101))

No. of Replicate Plates:
Dose Range Plate Incorporation Test: 2 (4 vehicle control, 2 positive control)
Main Plate Incorporation Test: 3 (6 vehicle control, 2 positive control)

Batch No.: 081179173 (micronized)

Metabolising System: Phenobarbital and 5, 6-benzoflavone-induced rat liver S9-mix containing 100 µL S9 fraction per mL

Vehicles: **Test Article:** Dimethylsulphoxide (DMSO) **Positive Controls:** DMSO or Sterile Water

Study in Compliance with GLP: Yes

Treatment: Plate incorporation for 3 days

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: None

Mutagenic Effects: Negative

2.6.7.8.1. GSK2118436A の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: GSK2118436A

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[1] (μg/plate)	Dose Range Plate Incorporation Test Mean No. of Revertant Colonies Per Plate				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 *uvrA* (pKM101)
Without Activation	DMSO	100 μL/plate	106.5	22.5	24.8	28.0	73.3
	GSK2118436	5	134.5	19.5	20.0	23.5	93.5
	GSK2118436	15	132.5	21.0	15.5	23.5	84.0
	GSK2118436	50	135.5	15.0	24.5	23.5	71.0
	GSK2118436	150	116.5	14.5	18.5	23.0	83.0
	GSK2118436	500	142.5	22.0	19.5	28.0	72.0
	GSK2118436	1500	101.0[3]	19.5[3]	17.5[3]	29.0[3]	60.0[3]
	GSK2118436	2500	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]
	GSK2118436	5000	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]
	2-nitrofluorene	1	-	-	-	331.5[2]	-
	Sodium azide	2	1397.5[2]	1376.5[2]	-	-	-
	ICR-191	1	-	-	478.5[2]	-	-
	4NQO	2	-	-	-	-	2262.5[2]

1 = Expressed in terms of parent compound.

2 = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* (pKM101) and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.

3 = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.

- = Not tested NA = Not analysed due to precipitation

4NQO = 4-Nitroquinoline-1-oxide

Test Article: GSK2118436A

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[1] (μg/plate)	Dose Range Plate Incorporation Test Mean No. of Revertant Colonies Per Plate				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 *uvrA* (pKM101)
With Activation	DMSO	100 μL/plate	146.0	20.8	26.0	40.8	170.0
	GSK2118436	5	158.5	19.5	27.0	37.0	164.0
	GSK2118436	15	147.0	19.0	24.5	37.5	137.0
	GSK2118436	50	164.5	20.0	32.5	42.0	149.0
	GSK2118436	150	169.0	17.5	28.5	39.5	161.0
	GSK2118436	500	162.5	16.0	27.0	51.0	141.0
	GSK2118436	1500	150.0[3]	16.0[3]	23.0[3]	40.0[3]	146.5[3]
	GSK2118436	2500	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]
	GSK2118436	5000	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]	NA[3]
	Benzo[a]pyrene	10	-	-	-	768.5[2]	-
	2-aminoanthracene	5	4741.5[2]	859.5[2]	304.0[2]	-	-
	2-aminoanthracene	10	-	-	-	-	2001.0[2]

1 = Expressed in terms of parent compound.

2 = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* (pKM101) and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.

3 = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.

- = Not tested NA = Not analysed due to precipitation

2.6.7.8.1. GSK2118436A の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: GSK2118436A

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[1] (μg/plate)	Main Plate Incorporation Test Mean No. of Revertant Colonies Per Plate				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 *uvrA* (pKM101)
Without Activation	DMSO	100 μL/plate	110.7	22.5	12.8	23.7	113.3
	GSK2118436	15	130.7	18.7	14.7	25.3	148.0
	GSK2118436	50	137.0	17.0	17.7	24.7	140.7
	GSK2118436	150	136.7	17.7	19.3	21.3	122.3
	GSK2118436	500	131.0	15.0	19.0	23.0	110.0
	GSK2118436	1500	140.7[3]	17.0[3]	16.3[3]	17.3[3]	112.3[3]
	2-nitrofluorene	1	-	-	-	217.5[2]	-
	Sodium azide	2	733.5[2]	1211.5[2]	-	-	-
	ICR-191	1	-	-	135.0[2]	-	-
	4NQO	2	-	-	-	-	3601.5[2]

1 = Expressed in terms of parent compound.

2 = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* (pKM101) and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.

3 = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.

- = Not tested 4NQO = 4-Nitroquinoline-1-oxide

2.6.7.8.1. GSK2118436A の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: GSK2118436A

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[1] (μg/plate)	Main Plate Incorporation Test Mean No. of Revertant Colonies Per Plate				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 *uvrA* (pKM101)
With Activation	DMSO	100 μL/plate	134.0	16.5	19.8	39.5	179.2
	GSK2118436	15	130.7	17.0	17.0	36.7	182.7
	GSK2118436	50	139.3	17.7	18.0	32.3	199.3
	GSK2118436	150	146.3	19.3	19.3	28.7	191.3
	GSK2118436	500	140.3	24.0	13.3	30.3	186.0
	GSK2118436	1500	151.0[3]	14.3[3]	13.0[3]	36.0[3]	170.0[3]
	Benzo[a]pyrene	10	-	-	-	963.0[2]	-
	2-aminoanthracene	5	3422.5[2]	544.5[2]	266.5[2]	-	-
	2-aminoanthracene	10	-	-	-	-	1603.0[2]

1 = Expressed in terms of parent compound.
2 = ≥2-fold increase in revertants for TA98, TA100 and WP2 *uvrA* (pKM101) and ≥3-fold increase for TA1535 and TA1537.
3 = Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation.
- = Not tested

2.6.7.8.2. GSK2118436B の細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: GSK2118436B: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*.

Test Article: GSK2118436B (mesylate salt)
Batch Number: 111307718
Study No.: V30772G
GSK Document No.: 2013N180401_00

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Strains: *S. typhimurium* and *E. coli*
No. of Independent Assays: 1
No. of Replicate Plates: 3 treatment plates (6 vehicle control plates, 3 positive control plates)
Metabolising System: Phenobarbital, 5-6 Benzoflavone-induced Wistar-Han rat liver S9-mix (final volume 500 µL S9-mix/plate)
Vehicles: **Test Article:** Dimethyl sulfoxide (DMSO) **Positive Controls:** DMSO or water
Treatment: Plate incorporation for 3 days in the presence and absence of S9-mix.
Cytotoxic Effects: Diminution of background lawn.
Mutagenic Effects: Not Mutagenic.
Study in Compliance with GLP: Yes
Date of Treatment(s): [redacted] 20[redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)[1]	Plate Incorporation (Ames) Test Mean Number of Revertant Colonies per Plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A (pKM101)
With Activation	DMSO	100 µL/plate	18.7	94.7	10.7	15.5	224.5
	GSK2118436	1.5	26.0	102.0	12.7	15.0	219.7
	GSK2118436	5	28.0	108.7	13.0	13.3	217.7
	GSK2118436	15	28.3	91.3	18.0	14.0	243.3
	GSK2118436	50	32.0	84.7	13.0	13.7	226.7
	GSK2118436	150	21.0	88.7	12.3	10.0	231.0
	GSK2118436	500	28.3	84.7	15.0	12.0[3]	200.0
	GSK2118436	1500[2]	19.7[3]	79.7[3]	12.7[3]	8.7[3]	212.7
	Benzo[a]pyrene	10	233.3[4]	NT	NT	NT	NT
	2-Aminoanthracene	5	NT	676.0[4]	182.0[4]	61.0[4]	NT
	2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	717.0[4]

1. All concentrations are expressed in terms of parent compound.
2. Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation in all strains.
3. Toxicity in the form of a slight diminution of the background bacterial lawn.
4. Positive control induced an unequivocal increase in revertant numbers.

NT = Not tested.

2.6.7.8.2. GSK2118436B の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: GSK2118436B

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)[1]	Plate Incorporation (Ames) Test Mean Number of Revertant Colonies per Plate TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A (pKM101)
Without Activation	DMSO	100 μL/plate	16.7	91.3	14.3	5.0	214.5
	GSK2118436	1.5	18.3	80.0	15.0	6.3	214.3
	GSK2118436	5	20.0	84.7	17.3	6.0	200.0
	GSK2118436	15	12.7	93.3	13.0	7.0	219.3
	GSK2118436	50	19.0	89.7	10.0	4.7	201.7
	GSK2118436	150	22.3	76.3	13.3	7.7	211.7
	GSK2118436	500	13.7	74.3[3]	12.7[3]	6.0[3]	194.0
	GSK2118436	1500[2]	8.0[3]	74.3[3]	10.7[3]	5.3[3]	180.3[3]
	2-Nitrofluorene	5	566.0[4]	NT	NT	NT	NT
	Sodium Azide	2	NT	499.0[4]	432.3[4]	NT	NT
	9-Aminoacridine	50	NT	NT	NT	52.0[4]	NT
	4-Nitroquinoline-1-Oxide	2	NT	NT	NT	NT	873.7[4]

1. All concentrations are expressed in terms of parent compound.
2. Precipitation observed by eye on the test plates at the end of incubation in all strains.
3. Toxicity in the form of a slight diminution of the background bacterial lawn.
4. Positive control induced an unequivocal increase in revertant numbers.

NT = Not tested.

2.6.7.8.3. マウスリンフォーマ TK 試験

Report Title: GSK2118436A: In Vitro Mutation Assay with L5178Y Mouse Lymphoma Cells at the TK Locus

Test Article: GSK2118436A

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

No. of Independent Tests: 3

GSK Document No.: WD2008/01806/00

Cell Type: L5178Y mouse lymphoma cells

No. of Replicate Cultures: Vehicle: 4 (excluding the case of the absence of S9-mix 3 hour treatment), Treatment and positives: 2

Study No.: V28465

Metabolising System: Phenobarbital and 5,6-benzoflavone-induced rat liver S9-mix containing 1% v/v S9 fraction (final)

Batch No.: 081179173 (micronized)

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

Study in Compliance with GLP: Yes

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

Date of Treatment(s): [redacted]20[redacted]

Cytotoxic Effects: Reduction in Relative Total Growth

Genotoxic Effects: Negative

Test Article	Concentration[1] (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	100.00[2]	166.64[2]	99.99	128.35	99.76	101.73
GSK2118436	1	NT	NT	NT	NT	90.47	114.08
GSK2118436	4	NT	NT	NT	NT	49.33	129.34
GSK2118436	10	58.89	125.53	77.14	133.93	27.63	125.63
GSK2118436	25	NT	NT	NT	NT	17.35	121.04
GSK2118436	30	68.71	179.77	NR	NR	NR	NR
GSK2118436	32	NT	NT	NT	NT	NR	NR
GSK2118436	40	39.51	212.78	49.83	132.92	NR	NR
GSK2118436	48	15.05	234.61	26.67	185.00	NT	NT
GSK2118436	54	NR	NR	17.29	177.18	NT	NT
Methyl methane sulphonate	20	18.96	1302.06	NT	NT	NT	NT
Methyl methane sulphonate	5	NT	NT	NT	NT	50.86	846.88
Dimethylbenzanthracene	1.1	NT	NT	11.52	1780.39	NT	NT

1 = All concentrations are expressed in terms of parent compound.

2 = Mean Relative Total Growth and Mutation Frequency based on 3 replicate vehicle controls only.

NR = Not reported. NT = Not treated.

2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1. ラットを用いる小核試験

Report Title: GSK2118436A: Oral Bone Marrow Micronucleus Assay in Rats

Test Article: GSK2118436A

Test for Induction of: Structural chromosomal damage and/or aneuploidy

Treatment Schedule: Two doses 24 hours apart (vehicle and test compound).
Positive control and bioanalysis animals dosed once only.

GSK Document No.: WD2009/00233/00

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

Sampling Time: 24 hours after final dose

Study No.: R28503

Approximate Age: 7 to 8 weeks at time of dosing

Method of Administration: Oral, by gavage

Batch No.: 081179173 (micronized)

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCE)

Vehicle/Formulation: 0.5% w/v HPMC with 0.1% w/v Tween 80/suspension

Study in Compliance with GLP: Yes

No. of Cells Analysed/Animal: 2000 PCE

Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]

Special Features: None

Toxic/Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: Not genotoxic

Evidence of Exposure: Satellite animals dosed once at 2000 mg/kg and sampled 1 hour after dosing gave mean plasma concentrations of 5192 ng/mL males (range 3497 to 6567 ng/mL) and 3228 ng/mL females (range 2788 to 3753 ng/mL). Higher exposure was previously demonstrated in a 10 day oral dose range toxicity study in Crl:CD(SD) rats at 1000 mg/kg/day [Report CD2008/00951/02].

Test Article	Dose[1] (mg/kg/day)	No. of Animals Analysed	Group Mean %PCE	Group Mean MPCE[2]
Vehicle control	0	6M	50	1.49
GSK2118436	100	6M	49	1.33
GSK2118436	1000	6M	49	1.66
Cyclophosphamide[3]	20	3M	44	57.35

1 = Expressed in terms of the parent compound.
2 = Group mean micronucleated PCE (MPCE) per 2000 PCE analysed.
3 = Positive control induced an unequivocal positive response.
M = Male

2.6.7.10. がん原性試験

該当する試験なし

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: GSK2118436A

Species/ Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number of Females	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Rat/ Crl:CD(SD)	Oral gavage 0.5% w/v (0.5% HPMC with 0.1% Tween 80/ suspension)	2 weeks prior to mating, through mating and on Days 0 to 17 post coitum (pc) (Day of C-Section: Day 21 pc)	0 5 20 200	7 7 7 7	Female toxicity (body weight loss or reduced gain, reduced food consumption) was evident prior to mating at ≥20 mg/kg/day. There was no effect on female fertility. Developmental toxicity was demonstrated by mildly decreased fetal body weight at all doses, increased pre-implantation loss at ≥20 mg/kg/day and variations in thymus shape at 200 mg/kg/day.	2010N107959_00

2.6.7.12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験

2.6.7.12.1. ラットの雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験

Report Title: GSK2118436A: Oral Female Fertility, Early Embryonic and Embryo-Fetal Development Study in Rats

Test Article: GSK2118436A

Design Similar to ICH 4.1.1. and 4.1.3: Yes

Duration of Dosing: 2 weeks prior to mating, during mating and up to Day 17 pc.

GSK Document No.: 2011N113146_01
Study No.: G11039

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

Method of Administration: Oral gavage, once daily

Batch No. 091236623 (092099), micronized

Initial Age: approximately 10 weeks

Vehicle/Formulation: Suspension in 0.5% HPMC (K15M) with 0.1% Tween 80

Study in Compliance with GLP: Yes

Day of Sperm/Plug Present: Day 0 post coitum (pc)

Day of C-Section: Day 21 pc

Date of First Dose: [redacted]

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Reproductive Effects:** 20 mg/kg/day **F_1 Litters:** 5 mg/kg/day

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

Conclusion: One female (F_0) was euthanized for humane reasons after 6 doses at 300 mg/kg/day. Female toxicity (body weight loss) was evident at 300 mg/kg/day. Also at 300 mg/kg/day, females had a slightly reduced No. of corpora lutea but the estrous cycle, mating and fertility indices were unaffected. Maternal toxicity was evident at ≥20 mg/kg/day (decreased body weight gain between Days 0 to 18 pc). Developmental toxicity was evident at ≥20 mg/kg/day (reduced fetal body weight, delayed skeletal development) with additional effects at 300 mg/kg/day (embryo-lethality, cardiac ventricular septal defects and variation in thymic shape). The no observed adverse effect level (NOAEL) for effects on female fertility is 20 mg/kg/day and embryofetal development is 5 mg/kg/day.

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5	20	300
Toxicokinetics Satellite Females (n=4)				
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL) (Day 1 of dosing)	NC	3.93	7.24	38.3
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL) (Day 12 of dosing)	NC	2.04	5.33	16.9
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg.h/mL) (Day 25 of dosing, Day 10 pc)	NC	2.62	4.10	22.6
C_{max} (μg/mL) (Day 1 of dosing)	NQ	1.18	1.37	3.47
C_{max} (μg/mL) (Day 12 of dosing)	NQ	0.677	1.15	2.38
C_{max} (μg/mL) (Day 25 of dosing, Day 10 pc)	NQ	0.765	1.17	2.17
F_0 Females:				
No. of Animals/Group	25	25	25	25
No. Died or Euthanized Moribund	1[a]	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Pre-Mating Body Weight Change (Days 1 to 3) (g)	0.78	3.38	0.76	-8.68***
Gestation Body Weight Gain (Days 0 to 18 pc)[b]	119.73 g	0.92	0.89**	0.87**
Food Consumption (Days 1 to 8 of study)[b]	124.25 g	1.02	1.00	0.98
Mean No. of Times in Estrus/1 to 14 day of Treatment	3.4	3.6	3.5	3.2
Mean No. Days Needed to Mate	3.0	3.0	3.0	2.2*
Mating Index (%)[c]	100	100	100	100
Fertility Index (%)[d]	100	100	92.0	91.7
No. of Females Mated	25	25	25	24
No. of Pregnant Females	25	25	23	22
No. of Pregnant Females Evaluated	24[a]	25	23	22
Mean No. Corpora Lutea	15.9	14.9	14.6	14.0**
Mean No. Implantations	15.5	14.4	14.3	13.2***
Mean % Pre-Implantation Loss	2.24	3.39	2.07	5.08
Mean Total Post-Implantation Loss (%)	4.21	7.05	4.89	12.37
Mean No. Live Fetuses	14.9	13.3	13.6	11.6***
% Live Males	50.83	53.02	54.30	50.08
Mean Fetal Body Weight (g) Males	5.59	5.60	5.43	5.34*
Mean Fetal Body Weight (g) Females	5.31	5.24	5.00*	4.87*
Gravid Uterus Weight (g)	109.1	99.6*	98.5*	85.4***

Test Article: GSK2118436A

Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	5	20	300
Visceral Fetal Malformation:					
Cardiac ventricular septal defect	No. fetuses (ratio, %)	0	0	0	3 (2.42)*
	No. litters (ratio, %)	0	0	0	3 (13.6)
Visceral Fetal Variation:					
Thymus: Split	No. fetuses (ratio, %)	0	0	0	2 (1.52)
	No. litters (ratio, %)	0	0	0	1 (4.5)
Thymus: Variation in shape	No. fetuses (ratio, %)	1 (0.60)	1 (0.67)	5 (3.11)	2 (1.89)
	No. litters (ratio, %)	1 (4.2)	1 (4.2)	3 (13.0)	2 (9.1)
Skeletal Fetal Variation:					
Forepaw, metacarpal - Less than the expected number are ossified					
	No. fetuses (ratio, %)	0	0	0	3 (2.42)*
	No. litters (ratio, %)	0	0	0	2 (9.1)
Rib, knobby	No. fetuses (ratio, %)	0	0	1 (0.54)	7 (7.27)**
	No. litters (ratio, %)	0	0	1 (4.3)	5 (22.7)
Rib, wavy	No. fetuses (ratio, %)	0	0	0	3 (2.58)*
	No. litters (ratio, %)	0	0	0	3 (13.6)
Sternebrea, not ossified	No. fetuses (ratio, %)	0	0	0	2 (1.52)*
	No. litters (ratio, %)	0	0	0	2 (9.1)
Thoracic vertebrae, centrum incompletely ossified					
	No. fetuses (ratio, %)	0	3 (1.83)	8 (4.96)**	6 (5.84)*
	No. litters (ratio, %)	0	3 (12.0)	8 (34.8)	6 (27.3)

a = On Day 15 pc, one control female was euthanized for humane reasons. Prior to euthanasia, the female exhibited decreased activity, her neck was swollen below the jaw and could not be dosed. Macroscopic examination revealed a firm, dark-red nodule located in the left side of the neck.
b = For controls, group means are shown. For treated groups, change from controls is shown.
c = Mating index = (No. mated/Total No. co-habited) x 100
d = Fertility index = (No. pregnant/No. mated) x 100
* = Statistical significance ($p \leq 0.05$) is based on raw data (not on the change from controls).
** = Statistical significance ($p \leq 0.01$) is based on raw data (not on the change from controls).
*** = Statistical significance ($p \leq 0.001$) is based on raw data (not on the change from controls).
- = No noteworthy findings NC = Not calculated NQ = Not quantifiable

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.12.1 に記載した試験において、妊娠 17 日まで投与して胚・胎児発生に対する影響についても評価した。

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

該当する試験なし

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. その他の毒性試験

2.6.7.16.1. イヌ 4 週間投与試験より採取した皮膚を用いた DNA 単離及びパピローマウイルス評価

Test Article: GSK2118436A

Species/Strain	Doses[1] (mg/kg/day)	No. of Animals[2]	Noteworthy Findings	GSK Document No.
Dog/ beagle	0 50	3[3] 3[4]	All skin samples from the 4 week oral study with GSK2118436 were negative by real-time PCR for COPV, CPV2, CPV3, CPV4, CPV5, CPV6 and CPV7. The primers and probes were validated for COPV and CPV2 in positive control samples with histologic evidence of papillomavirus infection. The study samples are negative for COPV and CPV2 and it is therefore unlikely that the samples are infected with CPV3, 4, 5, 6 and 7.	CD2009/00966/02

1 = Doses are expressed in terms of the parent compound used on the 4 week dog toxicity study [Report CD2008/01503/02, m4.2.3.2].
2 = Samples for this study were isolated from the 4 week dog toxicity study.
3 = One male and two females.
4 = One male and two females.

2.6.7.16.2. 発熱に関する検討試験

Test Article: GSK2118436A

Species/Strain	Method of Admin.	Doses mg/kg[1]	Gender and No./Group[2]	Noteworthy Findings	GLP Compliance	GSK Document No.
Mouse/ Crl:CD1(ICR)	Oral (gavage)	0 100 1000	6M 6M 5M	None None None	No	2012N132180_00

1 = Administered once daily for 29 consecutive days and dose is expressed as mg/kg of the parent compound (Batch JW211647-142P).
2 = Parallel dosing paradigm.

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

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]
20[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.

Apr 13 2015 14:59:39

Test Article: GSK2118436B and GSK1120212B

		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
No. of Animals:		3	3	3	3	3	3
GSK1120212							
$AUC_{0\text{-}t}$ (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							
$AUC_{0\text{-}t}$ (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.					

Test Article: GSK2118436B and GSK1120212B

		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
No. 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

Test Article: GSK2118436B and GSK1120212B

			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
No. 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 (No. 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

Test Article: GSK2118436B and GSK1120212B

		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
No. of Animals:		3	3	2	3	3	3
Microscopic Examination (No. of Animals):		3	3	2	3	3	3
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).

2.6.7.16.4. 光毒性試験

2.6.7.16.4.1. マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み試験

Report Title: GSK2118436B: Evaluation of Phototoxicity In Vitro on Balb/c 3T3 Fibroblasts Using the Neutral Red Uptake Assay

Test Article: GSK2118436B
Batch No.: 111342838 (micronized)

Test for Induction of: Phototoxicity

No. of Independent Tests: 1

GSK Document No.: 2012N141617_00

Cell Type: Balb/c 3T3 mouse fibroblasts cells

No. of Replicate Cultures: 6 wells/concentration

Study No.: V30086

Vehicles: **Test Article:** Phosphate buffered saline (PBS) containing 1%DMSO **Positive Controls:** PBS pH 7.4

Study in Compliance with GLP: Yes

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

Date of Treatment(s): [redacted]20[redacted]

Phototoxic Effects: Phototoxic

Test Article	IC_{50} Absence of UV-A (µg/mL)[1]	IC_{50} Presence of UV-A (µg/mL)[1]	PIF Value
GSK2118436B	26.076	<0.316[2]	> 83[3]
Chlorpromazine	48.327	0.786	61.485[4]

1 = Concentrations expressed in terms of parent compound.
2 = Lowest concentration evaluated in assay.
3 = PIF >5 indicates a positive phototoxicity response for the test article.
4 = PIF >6 indicates a positive phototoxicity response for the positive control.

2.6.7.16.4.2. ヘアレスマウスを用いた光毒性試験

Report Title: GSK2118436B: Single-Dose Oral Phototoxicity Evaluation in Hairless Mice

Test Article: GSK2118436B
Batch No.: 121361098

Species/Strain: Hairless mouse/ Crl:SKH1-*hr*

Duration of Dosing: Single dose

GSK Reference No.: M30595G

Initial Age: ~6 weeks, male

Route/Frequency: Oral by gavage, single dose

GSK Document No.: 2014N193267_00

Date of First Dose: [redacted]

Vehicle/Formulation: 25mM Citrate buffer with 0.5% HPMC (K15M), pH 4

Study in Compliance with GLP: yes

Data Collected: Mortality, clinical and skin observations, body weights and bioanalysis.

Conclusion: A single oral administration (by gavage) of GSK2118436 (10, 30, 100 or 300 mg/kg) in Crl:SKH1-hr hairless mice, followed by a single exposure to UVA and UVB (UVR), 8 ± 3 minutes after administration, elicited a phototoxic response at 300 mg/kg (10 of 10 mice affected) and a modest phototoxic response at 100 mg/kg (1 of 10 mice affected). The no observed effect level (NOEL) for phototoxicity was 30 mg/kg. Plasma exposure to GSK2118436 and metabolites GSK2285403 and GSK2167542 was dose proportional in all study phases. Two mice (one given control article and 300 mg/kg GSK2118436, respectively) were found dead on the day of administration/UVR exposure. Mortality was considered procedural-related and not attributable to GSK2118436 administration. Skin reactions consistent with phototoxicity were observed in mice given the comparator article 8-MOP, validating the study.

Test Article: GSK2118436B

	Main Study				
Dose (mg/kg)	0	30	100	300	NA
Dose 8-MOP (mg/kg)	NA	NA	NA	NA	30
Interval Between Formulation Administration and UVR Exposure (Minutes)	8 ± 3	8 ± 3	8 ± 3	8 ± 3	60 ± 10
Numbers of Animals (males)	5	5	5	5	3
Noteworthy Findings					
Skin Reactions, Post-UVR Exposure					
Skin Flaking	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Erythema (Redness)	0/0	0/0	0/0	1/1	8/3
Edema (Swelling)	0/0	0/0	0/0	0/0	3/2
Mortality	1/1	0/0	0/0	1/1	0/0
Body Weight (Day 1) g	26.82	26.50	26.50	26.08	26.20
Body Weight Changes (Days 1-4) grams	-0.27	0.28	0.00	-0.25	-0.53

NA = Not applicable

N/N = Total number of observations/number of animals with observation

2.6.7.16.4.2. ヘアレスマウスを用いた光毒性試験（続き）

Test Article: GSK2118436B

	Extension 1			
Dose (mg/kg)	0	300	300	NA
Dose 8-MOP (mg/kg)	NA	NA	NA	30
Interval Between Formulation Administration and UVR/Sham UVR Exposure (Minutes)	8 ± 3	8 ± 3	N/A[1]	60 ± 10
Numbers of Animals (males)	10	10	10	5
Noteworthy Findings				
Skin Reactions, Post-UVR Exposure				
Edema (Swelling)\1 Very Slight	0/0	29/9	0/0	14/5
Edema (Swelling)\2 Slight	0/0	0/0	0/0	1/1
Edema (Swelling)\3 Moderate	0/0	0/0	0/0	5/5
Erythema (Redness)\1 Very Slight	0/0	24/9	0/0	4/4
Erythema (Redness)\2 Well-Defined	0/0	5/3	0/0	15/5
Skin Flaking\Treatment Site No.01	0/0	18/9	0/0	0/0
Skin Lesion\Treatment Site No.01	0/0	0/0	0/0	5/5
Shiny and Thickened\Treatment Site No.01	0/0	10/10	0/0	0/0
Clinical Observations				
Tail Bent	2/1	0/0	0/0	0/0

1 = Sham UVR group. Mice were anesthetized and restrained but were not exposed to UVR.

NA = Not applicable

N/N = Total number of observations/number of animals with observation

2.6.7.16.4.2. ヘアレスマウスを用いた光毒性試験（続き）

Test Article: GSK2118436B

	Extension 2					
Dose (mg/kg)	0	10	30	100	100	NA
Dose 8-MOP (mg/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	30
Interval Between Formulation Administration and UVR/Sham UVR Exposure (Minutes)	8 ± 3	8 ± 3	8 ± 3	8 ± 3	N/A [1]	60 ± 10
Numbers of Animals (males)	10	10	10	10	10	5
Noteworthy Findings						
Skin Reactions, Post-UVR Exposure						
Edema\Grade 1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	18/5
Erythema (Extended)\Grade 1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	11/5
Erythema (Extended)\Grade 2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	4/2
Skin Flaking\Treatment Site No.01	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Skin Scab\Treatment Site No.01	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	6/3
Skin Wrinkling\Treatment Site No.01	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Shiny\Treatment Site No.01	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Clinical Observation						
Sedated (Loss of Consciousness)	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Skin Red, Cranium	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1
Swollen soft, Cranium	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1

1 = Sham UVR group. Mice were anesthetized and restrained but were not exposed to UVR.

NA = Not applicable

N/N = Total number of observations/number of animals with observation