目次

2.6.6 毒性試験の概要文 2
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.4 遺伝毒性試験 16
2.6.6.5 がん原性試験 17
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 20
2.6.6.7 局所刺激性試験 26
2.6.6.8 その他の毒性試験 26
2.6.6.9 考察及び結論 28
2.6.6.10 図表 32
2.6.6.11 参考文献 32

2.6.6　毒性試験の概要文

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1　　略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
AUC	Area under the concentration time curve：濃度‐時間曲線下面積
AUCth	時間 0 から投与後 t 時間までの濃度‐時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration：最高濃度
類縁物質４＊	Degradant found in linaclotide drug product; MM-447619： リナクロチド製剤中の分解生成物，MM-447619
類縁物質５＊	Degradant found in linaclotide drug product; MM-448623： リナクロチド製剤中の分解生成物，MM-448623
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GC-C	Guanylate cyclase C：グアニル酸シクラーゼ C
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性試験の実施に関する基準
ICH	International Conference on Harmonisation：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
Linaclotide	Linaclotide：リナクロチド，MD-1100 及び ASP0456（化合物コード）
LLOQ	Lower limit of quantitation：定量下限
MM-419447	Active primary metabolite of linaclotide： リナクロチドの活性一次代謝物，Des-Tyr[14]
MM-447619	Degradant found in linaclotide drug product： リナクロチド製剤中の分解生成物, 類縁物質４＊
MM-448623	Degradant found in linaclotide drug product： リナクロチド製剤中の分解生成物, 類縁物質５＊
MTD	Maximum tolerated dose：最大耐量
NOAEL	No-observed-adverse-effect-level：無毒性量
NZW	New Zealand White：ニュージーランドホワイト
PBS	Phosphate buffered saline：リン酸緩衝生理食塩水
PMR	Post Marketing Requirement：製造販売後調査
pp	Post partum：生後
s.c.	Subcutaneous：皮下
SD	Sprague-Dawley：スプラーグドーリー
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.1 まとめ

リナクロチドの安全性を評価するため，マウス，ラット及びカニクイザルを用いた単回及び反復投与毒性試験，細菌・ほ乳類培養細胞を用いた遺伝毒性試験，マウス及びラットを用いたがん原性試験，マウス，ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験，マウス及びウサギの幼若動物毒性試験，不純物の毒性試験（細菌を用いた遺伝毒性試験及びマウス 4 週間反復投与毒性試験）を実施した。毒性試験の一覧を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2　　毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 準拠
単回投与毒性試験	経口	ラット	適
	静脈内	ラット	適
	経口	カニクイザル	否
	静脈内	カニクイザル	適
5 日間反復投与毒性試験	経口	カニクイザル	否
単回及び 7 日間反復投与毒性試験	静脈内	カニクイザル	適
反復投与毒性試験			
2 週間	経口	ラット	適
2 週間	経口	カニクイザル	適
13 週間	経口	マウス	適
13 週間	経口	ラット	適
13 週間	経口	カニクイザル	適
26 週間	経口	マウス	適
39 週間	経口	カニクイザル	適
遺伝毒性試験			
細菌を用いた復帰突然変異試験	*In vitro*	ネズミチフス菌，大腸菌	適
In vitro 染色体異常試験	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	適
がん原性試験			
104 週間	経口	マウス	適
104 週間	経口	ラット	適
生殖発生毒性試験			
受胎能及び初期胚発生試験	経口	ラット	適
胚・胎児発生試験	経口	マウス	適
	経口	マウス	適
	経口	ラット	適
	経口	ラット	適
	経口	ウサギ	適
	経口	ウサギ	否
	経口	ウサギ	適
母体機能を含む出生前及び出生後発生試験	経口	ラット	適

表 2.6.6-2　　毒性試験プログラム(続き)

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 準拠
幼若動物毒性試験			
5 日間用量設定試験	経口	マウス	適
単回及び 5 日間用量設定試験	経口	ウサギ	適
9 週間経口投与毒性試験	経口	マウス	適
7 日齢マウスを用いた死亡メカニズム検討試験（単回）	経口	マウス	否
7 日齢マウスを用いた補液の生存への影響検討試験（単回）	経口	マウス	適
4 週齢マウスを用いた 1 週間忍容性試験	経口	マウス	適
その他の試験			
不純物：細菌を用いた復帰突然変異試験	*In vitro*	ネズミチフス菌，大腸菌	適
不純物：4 週間反復投与毒性試験	経口	マウス	適

重要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適合試験として医薬品毒性試験法ガイドラインあるいは日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠して実施された。これらの試験に用いた動物種はいずれも背景データが豊富であり，グアニル酸シクラーゼ C（GC-C）受容体の 1 次構造は動物種間で保存されており[Vaandrager, 2002; de Sauvage, 1991]，ラット及びマウスともにリナクロチドの GC-C 受容体活性化作用に基づく腸管分泌促進作用，小腸輸送能促進作用及び大腸痛覚過敏改善作用が確認されていること（2.6.2.2 効力を裏付ける試験），ウサギ，カニクイザルともに便性状に対する薬理作用（無形状便又は水様便）が毒性試験の中で確認されていることから，げっ歯類及び非げっ歯類の動物種の選択に関して適切であると考えられた。げっ歯類動物種のうち，開発初期にはラットを用いたが，マウスの方が毒性学的な感受性が高かったため，長期反復投与毒性試験ではマウスを用いて毒性評価を行った。なお，本資料中で表示されている本薬の濃度・用量は，本薬のペプチド含有量及び純度で補正されている。実際に投与された本薬の濃度・用量（開発後期に実施された幼若動物を用いた試験の用量を除く）は，表示より 3%程度少ないが，これは当初，本薬の定量試験に用いられたリナクロチド標準品の純度が，関連ペプチドを含めた状態で算出されていたためである。上記，原薬中リナクロチド含量の表示変更の詳細については，3.2.S.4.4 に記載されている。

単回投与毒性

ラット（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg）及びカニクイザル［投与量（雄のみ）：0.5，1.5，3 及び 5 mg/kg］に本薬を単回経口投与した際の毒性を検討したところ，ともに概略の致死量は 5 mg/kg 超であった。ラットでは特記すべき所見は認められなかったが，カニクイザルでは

1.5 mg/kg 以上の用量で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便，水様便），腹部膨満，摂餌量の低下が認められた。

ラット（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg）及びカニクイザル（投与量：0.5，2.5，5 及び 15 mg/kg）に本薬を単回静脈内投与した際の毒性を検討したところ，概略の致死量はそれぞれ 5 mg/kg 超，15 mg/kg 超であった。ラットではいずれの用量においても特記すべき所見は認められなかったが，カニクイザルでは 5 mg/kg 以上の用量で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便）が認められた。

反復投与毒性

マウスにおける 13 週間経口投与毒性試験（投与量：0，20，100 及び 200 mg/kg/日）では，100 mg/kg/日群で雄 3/10 例及び雌 5/10 例が，200 mg/kg/日群では雌雄各 6/20 例が死亡した。主な標的臓器は消化管（胃及び盲腸），腎臓，心臓及びリンパ系組織（脾臓及び胸腺）と考えられた。2 週間の休薬による回復性が確認された。無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

マウスにおける 26 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，20 及び 100/80 mg/kg/日）では，100 mg/kg/日群の投与初期に死亡が頻発したため，投与 6 日から投与量を 80 mg/kg/日に減量した。生存例を含め，症状，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査に特記すべき所見は認められなかった。無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

ラットにおける2週間経口投与毒性試験（投与量：0，1，5及び20 mg/kg/日）及び13週間経口投与毒性試験（投与量：0，10，50及び100 mg/kg/日）では，いずれの用量においても薬物投与の影響は認められず，無毒性量はそれぞれ20及び100 mg/kg/日と推定された。

カニクイザルにおける 2 週間経口投与毒性試験（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg/日）及び 13 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，10 及び 50 mg/kg/日）では，すべての投与群で本薬の過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便又は水様便）が投与期間を通じて観察されたが，最高用量群まで特記すべき毒性所見は認められなかった。したがって，無毒性量はそれぞれ 5 及び 50 mg/kg/日と推定された。

カニクイザルにおける 39 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，10 及び 50 mg/kg/日）では，すべての投与群で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便）が投与期間を通じて観察されたが，5 mg/kg/日群ではそれ以外に特記すべき所見は認められなかった。投与期間中にみられた便性状の変化は休薬により速やかに正常に復した。10 mg/kg/日群の雄 1 例及び 50 mg/kg/日群の雌 1 例は水様便（下痢等）の長期持続並びに進行性の脱水により瀕死状態となり，それぞれ投与 76 日及び 106 日に途中剖検された。途中剖検例の病理組織学的検査では，盲腸，結腸及び直腸の大腸腺及び表層上皮の変性・壊死あるいは粘膜の出血・炎症性変化が認められ，消化管が毒性の標的器官と考えられた。したがって，無毒性量は 5 mg/kg/日と推定された。

遺伝毒性

ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（33.3～5000 μg/プレート）において，代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（343～1000 μg/mL）では，代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても，染色体異常誘発性は認められなかった。

以上のことから，本薬は遺伝毒性を示さないと考えられた。

がん原性

マウスにおける 104 週間経口投与がん原性試験（投与量：0，0.6，2 及び 6 mg/kg/日）及びラットにおける 104 週間経口投与がん原性試験（投与量：0，0.3，1 及び 3.5 mg/kg/日）のいずれにおいても，がん原性は認められなかった[Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation, 2012;Constella(Linaclotide):EMA CHMP assessment report, 2012]。

生殖発生毒性

ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，雌雄の親動物，交配，受胎能及び初期胚発生に影響は認められず，一般毒性及び雌雄の生殖機能及び初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と推定された。

マウスにおける胚・胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，5，40 及び 100/40 mg/kg/日）では，40 mg/kg/日以上で母動物の死亡が発生したため，40 mg/kg/日群には動物を追加し，100 mg/kg 群の用量は 40 mg/kg に減量した。胚・胎児への影響は，母動物に対する致死用量である 40 mg/kg/日以上の用量で認められ，胎児体重の低値，椎骨異常の発現率の増加，加えて 40 mg/kg/日群では眼瞼開存発現率の増加が認められた。椎骨異常の発現率は，主に低体重の胎児において認められた。以上の結果より，マウスにおける母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量はともに 5 mg/kg/日と推定された。

ラットにおける胚・胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，母動物並びに胚･胎児発生に対する影響は認められず，母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と推定された。

ウサギにおける胚･胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量:0, 5, 10 及び 40 mg/kg/日）では，母動物への影響として，すべての投与群で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便又は軟便）が観察されたが，体重あるいは摂餌量に影響は認められなかった。胚・胎児発生に関しては，いずれの用量においても影響は認められなかった。母動物及び胚･胎児発生に対する無毒性量は 40 mg/kg/日と推定された。

ラットにおける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（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，いずれの用量においても，母動物における一般毒性及び生殖機能並び

に出生児の身体的発達，感覚，反射，行動及び生殖機能について薬物投与に関連した変化は認められなかった。母動物における一般毒性及び生殖機能，出生児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と推定された。

幼若毒性

7，14 又は 21 日齢のマウスを用いて 5 日間経口投与用量設定試験（投与量：0.1，10，50，100 及び 600 μg/kg/日）を実施した。7 日齢のマウスは 50 μg/kg/日以上で，14 日齢のマウスは 100 μg/kg/日で，21 日齢のマウスは 600 μg/kg/日の用量で，初回投与後 24 時間以内に死亡した。生後 7，14 及び 21 日齢の幼若マウスに対するリナクロチドの 5 日間経口投与の最大耐量はそれぞれ 10，50 及び 100 μg/kg/日と推定された。

7 日齢のマウスにおける 9 週間経口投与毒性試験（投与量：0, 1, 3 及び 10 μg/kg/日）では，10 μg/kg/日投与群で初回（8 日齢）又は 2 回投与後（9 日齢）に死亡が認められた。3 回投与以降には薬物投与の影響は認められなかった。したがって，リナクロチドを 7 日齢マウスに 1 日 1 回 9 週間経口投与した際の無毒性量は 3 μg/kg/日と推定された。

7 日齢マウスの死因検討のため，7 日齢のマウスにリナクロチドを単回経口投与（投与量：0，10 及び 20 μg/kg）して経時変化を検討したところ，投与後 2.5 時間から下痢が認められ，20 μg/kg 投与群では投与後 4～8 時間に 40%の動物が死亡した。また，単回経口投与（投与量：0 及び 20 μg/kg/日）後の腸液分泌及び脱水への影響を検討したところ，投与後 1 時間から下痢，腸液量及び腸管重量/体重比の増加，腸液 pH 及び浸透圧の上昇，ヘマトクリット及び血漿蛋白濃度の上昇が認められた。更にリナクロチドを単回経口投与（投与量：0 及び 20 μg/kg）した後に，0.45%塩化ナトリウム水溶液の皮下投与による水分補給を行ったところ，非水分補給群では投与後 3 時間から水様便，脱水兆候，衰弱等がみられ，投与後 5～24 時間に約半数例の動物が死亡あるいは瀕死剖検されたが，水分補給群では，水様便は観察されたものの，全例が生存した。したがって，7 日齢マウスの死亡は過度の薬理学的作用による重度の脱水によって生じたと考えられた。

4 週齢の幼若マウスにおける 1 週間経口投与毒性試験（投与量：0，100，500 及び 1000 μg/kg/日）では，いずれの用量においても薬物投与の影響は認められず，1000 μg/kg までの忍容性が確認された。以上のことから，リナクロチドに対する幼若マウスの忍容性は週齢とともに著しく増加することが示された。

幼若ウサギにおける忍容性を検討するために，生後 14 日齢のウサギを用いて単回経口投与用量設定試験（投与量：2, 10 及び 40 mg/kg）及び 5 日間経口投与用量設定試験（投与量：0.6，2，10 及び 40 mg/kg/日）を実施したが，40 mg/kg まで忍容性は良好で，成獣の最大耐量（2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験）も同じく 40 mg/kg 超であったことから，マウスと異なりウサギでは幼若毒性の懸念はないと考えられた。

その他の毒性

本剤（リナクロチド錠）において 1.0%を超えて個別に規格が設定される製剤特有の不純物（分解生成物）である 類縁物質５＊（MM-448623，規格値 1.5%）の安全性の評価のために，細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスを用いた 4 週間経口投与毒性試験が実施された。ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（最大濃度 5000 μg/プレート）では，代謝活性化の有無に関わらず，遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。マウスを用いた 4 週間経口投与毒性試験では，リナクロチド 20 mg/kg/日に 類縁物質５＊ 0.08 mg/kg/日（規格値 1.5%の約 500 倍量）及び類縁物質４＊（個別には管理しない製剤の分解生成物，3.2.P.5.5 不純物の特性の項）0.04 mg/kg/日（規格値 0.05%の約 800 倍量）を添加して 4 週間経口投与したが，不純物による特記すべき毒性は認められなかった。以上のことから，規格値 1.5%の類縁物質５＊ の安全性が確認されたと判断された。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ラット及びカニクイザルを用いた単回経口投与毒性試験及び単回静脈内投与毒性試験を実施した。

2.6.6.2.1 ラット単回投与毒性試験

2.6.6.2.1.1　ラット単回経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.1-1

一夜絶食した 1 群雌雄各 5 例の SD ラットにリン酸緩衝生理食塩水（PBS）に溶解したリナクロチドを 0.5, 2.5 及び 5 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。対照群には PBS を同様に投与した。動物の生死及び一般状態の観察，摂餌量及び体重測定を行い，生存動物は 2 週間の観察期間の後に剖検した。サテライト群を設置し，投与日のトキシコキネティクス（TK）評価を行った。

雌雄とも最高投与量の 5 mg/kg まで薬物投与の影響は認められなかった。したがって，リナクロチドをラットに単回経口投与した際の概略の致死量は雌雄ともに 5 mg/kg 超と考えられた。なお，5 mg/kg までの単回経口投与後の TK 分析では，血中にリナクロチドは検出されなかった［定量下限（LLOQ）：3 ng/mL］。

2.6.6.2.1.2　ラット単回静脈内投与毒性試験

添付資料 4.2.3.1-2

1 群雌雄各 5 例の SD ラットに PBS に溶解したリナクロチドを 0.5, 2.5 及び 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。対照群には PBS を同様に投与した。動物の生死及び一般状態の観察，摂餌量及び体重測定を行い，生存動物は 2 週間の観察期間の後に剖検した。サテライト群を設置し，投与日の TK 評価を行った。

雌雄とも最高投与量の 5 mg/kg まで薬物投与の影響は認められなかった。したがって，リナクロチドをラットに単回静脈内投与した際の概略の致死量は雌雄ともに 5 mg/kg 超と考えられた。なお，5 mg/kg におけるリナクロチドの C_{max} は雄で 8794 ng/mL，雌で 7420 ng/mL，AUC_{8h} は雄で 6953 ng･h/mL，雌で 6309 ng･h/mL であった。

2.6.6.2.2 カニクイザル単回投与毒性試験

2.6.6.2.2.1　カニクイザル単回及び 5 日間経口投与毒性試験（GLP 非適用）

添付資料 4.2.3.1-3(参)

1 群 1 例の雄カニクイザルに PBS に溶解したリナクロチドを 0.5，1.5，3 及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与した際の忍容性を確認した後，1.5 mg/kg/日の用量で 5 日間反復経口投与した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施した。

最高投与量の 5 mg/kg まで死亡は認められなかった。主な所見として, 1.5 mg/kg 以上の用量で，過度の薬理学的作用に関連すると考えられる投与後一過性の便性状の変化（無形状便，水様便），摂餌量の低下及び腹部膨満が認められた。1.5 mg/kg/日を 5 日間経口投与した際にも投与期間を通じて無形状便及び水様便が認められ，投与 4 日には軽度の腹部膨満が認められた。体重及び摂餌量には薬物投与の影響は認められなかった。

以上の結果から，カニクイザルにリナクロチドを 5 mg/kg までの用量で単回経口投与した際の概略の致死量は 5 mg/kg 超，5 日間反復経口投与したときの最大耐量（MTD）は 1.5 mg/kg/日以上と考えられた。

2.6.6.2.2.2　カニクイザル単回及び 7 日間静脈内投与毒性試験

添付資料 4.2.3.1-4

漸増法による単回静脈内投与試験を実施した後に，7 日間反復静脈内投与した際の毒性評価を実施した。すなわち，雌雄各 1 例のカニクイザルに PBS に溶解したリナクロチドを 0.5，2.5，5 及び 15 mg/kg の用量でそれぞれ 1，4，7 及び 10 日に単回静脈内投与し，一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施した。更に雌雄各 2 例のカニクイザルに 15 mg/kg/日の用量で 7 日間反復静脈内投与し，一般状態の観察，体重，摂餌量の測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また，投与 1 日及び 7 日には TK 評価を行った。

単回及び反復ともに最高投与量の 15 mg/kg まで死亡は認められなかった。5 mg/kg 以上の用量では，過度の薬理学的作用に関連すると考えられる投与後一過性の便性状の変化（無形状便，水様便）が認められた以外，特記すべき毒性所見は認められなかった。なお，15 mg/kg 群の投与 7 日におけるリナクロチドの C_{max} は雄で 51148 ng/mL，雌で 48781 ng/mL，AUC_{8h} は雄で 73186 ng･h/mL，雌で 74283 ng･h/mL であった。

以上の結果から，カニクイザルにリナクロチドを 0.5～15 mg/kg の用量で単回及び 15 mg/kg/日の用量で 7 日間反復静脈内投与したときの忍容性は良好であることが示され，カニクイザルにリナクロチドを単回静脈内投与した際の概略の致死量は 15 mg/kg 超，7 日間反復静脈内投与したときの MTD は 15 mg/kg/日以上と考えられた。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

反復経口投与毒性試験として，マウスにおける 13 及び 26 週間経口投与毒性試験，ラットにおける 2 及び 13 週間経口投与毒性試験，カニクイザルにおける 2，13 及び 39 週間経口投与毒性試験を実施した。

2.6.6.3.1 マウス 13 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-1

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，20，100 及び 200 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 10 例の CD-1 マウス（8 週齢）に 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。対照群及び 200 mg/kg/日群には雌雄各 6～10 例の休薬群を設置し，13 週間の投与終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。サテライト群として 1 群雌雄各 20 例の動物を用いて，投与 1，27 及び 85 日に TK 評価を行った。なお，試験 1 週（投与 1～7 日）はリプレイスメント期間とし，この期間に死亡した動物については新たに動物を補充した。

100 mg/kg/日群で雄 3/10 例及び雌 5/10 例が，200 mg/kg/日群では雌雄各 6/20 例が死亡した。生前所見として，活動性の低下，無便又は乏便，眼瞼閉鎖，被毛の変色，低体温（触診），振戦，けいれん，呼吸緩徐，半眼等がみられ，病理組織学的検査では胃のびらん・潰瘍，盲腸の潰瘍，心臓の石灰化を伴う変性及び壊死，腎尿細管壊死，脾臓のリンパ球の枯渇及び壊死，胸腺皮質の萎縮又は皮質リンパ球の壊死あるいは過形成がみられ，主な標的臓器は消化管（胃及び盲腸），腎臓，心臓及びリンパ系組織（脾臓及び胸腺）と考えられた。死亡又は瀕死動物でみられた病変は，生存例でみられた病変よりも多く，重度であった。また，これらの病変は雄よりも雌に多くみられ，雄の生存剖検例に異常は認められなかった。なお，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，臓器重量には変化は認められなかった。

休薬期間後の雌マウスには，消化管，腎臓又は心臓に組織所見はみられなかった。脾臓及び胸腺皮質のリンパ球壊死が 200 mg/kg/日群のそれぞれ雌 1 例及び 2 例にみられたが，対照群の雌 1 例においても両病変が認められたため，これらの所見の意義並びに回復性については不明であった。雄の生存剖検例では異常は認められなかったため，休薬期間後の雄の病理組織学的検査は実施しなかった。

200 mg/kg/日投与群の血漿中薬物濃度には反復投与による明らかな影響や性差は認められなかった。100 mg/kg/日以下の投与群では血漿中にリナクロチド及び代謝物 MM-419447 はほとんど検出されなかった［本試験の LLOQ，リナクロチド：15 ng/mL，MM-419447：30 ng/mL］。

以上の結果より，無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.3.2 マウス 26 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-2

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，5，20 及び 100/80 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 16 例の CD-1 マウス（8 週齢）に 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。対照群及び 100/80 mg/kg/日群には雌雄各 7～10 例の休薬群を設置し，投与期間終了後 4 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。サテライト群として 1 群雌雄各 56 例の動物を用いて，投与 1，90 及び 180 日に TK 評価を行った。なお，試験 1 週（投与 1~7 日）はリプレイス

メント期間とし，この期間に死亡した動物については 26 週間経口投与毒性試験の評価から除外し，新たに動物を補充した。

100 mg/kg/日群では投与初期（投与 1～5 日）に死亡が発生したため，投与 6 日から投与量を 80 mg/kg/日に減量した。

死亡は投与 1 週以降も対照群を含む各群で散見されたが（表 2.6.6-3），ほとんどの死亡は強制経口投与の過誤によるものであった。しかしながら，100/80 mg/kg/日群の一部の動物については死因を明らかにすることはできなかった。症状，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，病理組織学的検査に特記すべき所見は認められなかった。なお，すべての投与群において甲状腺／上皮小体の絶対及び相対重量の有意な低値並びに 100/80 mg/kg/日群の雌の下垂体重量の有意な低値がみられたが，病理組織学的検査では異常は認められなかったこと，休薬群ではこれらの臓器重量に変化は認められなかったこと，症状や臨床病理学的検査値にも変化がないことから，観察された臓器重量の変化は毒性学的意義に乏しい変化と判断された。

表 2.6.6-3　　マウス 26 週間経口投与毒性試験における死亡

投与量（mg/kg/日）	0（対照群）		5		20		100/80[a]	
動物数	M: 26	F: 26	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 26	F: 26
1 週目に死亡又は瀕死状態により安楽死[b]	0	0	0	1	1	2	2	9
1 週以降に死亡又は瀕死状態により安楽死[c]（上記のうち投与過誤による死亡 / 事故死等）	1 (0 / 1)	1 (0 / 1)	1 (0 / 1)	0	0	3 (3 / 0)	3 (3 / 0)	5 (1 / 1[d])

a　早期死亡により，6 日目に 100 mg/kg/日から 80 mg/kg/日に用量を減量した。

b　1 週目はリプレイスメント期間で，死亡が認められた時点で試験評価より除外し新たな動物を補充した。

c　これらの死亡は 1 週目のリプレイスメント期間より後にみられた死亡であり，1 週目の死亡は含まれない。死因の究明を行い，投与過誤による死亡あるいは投与との関連がない事故死等と判断された数をカッコ内に示す。

d　本例は休薬期間中（休薬 12 日）に慢性糸球体腎症に関連した死亡で，薬物投与との関連性はないと考えられた。

血漿中薬物濃度は雄より雌でやや高い傾向がみられたが，雌雄ともに投与量に伴って増加し，反復投与による明らかな影響は認められなかった。ただし 20 mg/kg/日以下の用量では MM-419447 は検出されなかった［本試験の LLOQ，リナクロチド：0.5 ng/mL，MM-419447：5.0 ng/mL］。

以上の結果より，無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。国内臨床用量 0.5 mg（ヒト体重 50 kg 換算：10 μg/kg）とは約 2000 倍の乖離がある。20 mg/kg/日における投与 26 週のリナクロチドの曝露量（AUC_{24h}）は，雄が 7.1 ng･h/mL，雌が 64 ng･h/mL であった。

2.6.6.3.3 ラット 2 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-3

リナクロチドを PBS に溶解又は懸濁し，1，5 及び 20 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 15 例の SD ラット（7 週齢）に 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。対照群には PBS を同様の方法で投与した。1 群雌雄各 5 例の休薬群を設置し，投与期間終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。サテライト群として 1 群雌雄各 9 例の動物を用いて，投与 1 日及び 14 日に TK 評価を行った。

いずれの投与群においても薬物投与の影響は認められなかった。血漿中薬物濃度はほとんどの濃度データが LLOQ 未満であったため，AUC を算出することはできなかった［本試験のリナクロチドの LLOQ：3 ng/mL］。

以上の結果より，無毒性量は 20 mg/kg/日以上と推定された。

2.6.6.3.4 ラット 13 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-4

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，10，50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 10 例の SD ラット（8 週齢）に 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。対照群及び 100 mg/kg/日群には雌雄各 6 例の休薬群を設置し，投与期間終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また，投与 1 日，27 日及び 85 日に TK 評価を行った。

いずれの投与群においても薬物投与の影響は認められなかった。血漿中薬物濃度は 10 mg/kg/日の用量では，ほとんどの濃度データが LLOQ 未満であったため［リナクロチド及び MM-419447 の LLOQ：3 ng/mL］，TK 評価は 50 及び 100 mg/kg/日群に限定された。リナクロチド及びその活性一次代謝物である MM-419447 に対する曝露は，50 mg/kg/日から 100 mg/kg/日まで用量に伴って増加した。リナクロチドと代謝物のいずれにおいても反復投与による明らかな影響及び性差は認められなかった。

以上の結果より，無毒性量は 100 mg/kg/日以上と推定された。100 mg/kg/日における投与 13 週のリナクロチド及び MM-419447 の曝露量（AUC_{4h}）は，それぞれ，雄で 38.8 及び 29.2 ng･h/mL，雌で 72.3 及び 48.2 ng･h/mL であった。

2.6.6.3.5 カニクイザル 2 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-5

リナクロチドを PBS に溶解し，0.5，2.5 及び 5 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 5 例のカニクイザル（2～4.5 歳齢）に 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。対照群には PBS を同様の方法で投与した。1 群雌雄各 2 例の休薬群を設置し，投与期間終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。

一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。投与 1 日及び 14 日に TK 評価を行った。

投与期間を通じて，0.5 mg/kg/日以上のすべての投与群で本薬の過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便又は水様便）が観察された。体重及び摂餌量に影響はみられず，便性状は休薬により速やかに正常に復した。心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。

血漿中薬物濃度は投与量の増加に伴って増加し，反復投与による明らかな影響や性差は認められなかった［本試験の LLOQ はリナクロチド及び MM-419447 ともに 3 ng/mL］。

以上の結果より，無毒性量は 5 mg/kg/日以上と推定された。5 mg/kg/日における投与 14 日のリナクロチドの曝露量（AUC_{24h}）は，雄が 18.2 ng･h/mL，雌が 21.8 ng･h/mL であった。

2.6.6.3.6 カニクイザル 13 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-6

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，5，10 及び 50 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 4 例のカニクイザル（3～5 歳）に 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。対照群及び 50 mg/kg/日群には雌雄各 3 例の休薬動物を設置し，投与期間終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。

一般状態の観察，体重，摂餌量の測定，心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。投与 1 日，4 週及び 13 週に TK 評価を行った。

5 mg/kg/日以上のすべての投与群で，本薬の過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便）が投与期間を通じて用量依存的に観察された。休薬期間中には観察されなかった。

10 mg/kg/日群の雄 1 例が，投与 1 週から摂餌量及び体重が徐々に減少し，29 日以降には円背位など一般状態が悪化したため、投与 32 日に瀕死剖検された。病理組織学的検査では，細菌及び真菌コロニー形成を伴った食道粘膜剥離並びに脾臓，下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節におけるリンパ球の枯渇，胸腺皮質の萎縮が認められたことから，一般状態の悪化はこの個体が免疫低下に陥り，食道への細菌及び真菌感染により引き起こされたものと考えられた。同群の他の動物及び高用量群あるいは他のいずれの試験においても同様の所見は認められなかったことから，リナクロチドとは関連性のない，自然発生性の免疫低下症と考えられた。なお，この個体の投与 28 日の MM-419447 の血漿中濃度は 50 mg/kg 群と比較しても高値であったが，その理由は明らかではなかった。本試験の他の動物では，摂餌量，体重，心電図，眼科学的検査，血液学的検査，血液化

学的検査，尿検査，剖検，臓器重量及び病理組織学的検査のいずれにおいても特記すべき所見は認められなかった。

血漿中薬物濃度は投与量に伴って増加し，反復投与により蓄積する傾向が認められた［本試験の LLOQ はリナクロチド及び MM-419447 ともに 3 ng/mL］。性差は認められなかった。

以上の結果より，本試験での無毒性量は 50 mg/kg/日以上と推定された。50 mg/kg/日における投与 13 週のリナクロチド及び MM-419447 の曝露量（AUC_{24h}）は，それぞれ雄で 173 及び 677 ng･h/mL，雌で 191 及び 601 ng･h/mL であった。10 mg/kg/日の瀕死剖検例の投与 28 日のリナクロチド及び MM-419447 の曝露量は 143 及び 1680 ng･h/mL であった。

2.6.6.3.7 カニクイザル 39 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-7

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，5，10 及び 50 mg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 4 例のカニクイザル（2～5 歳）に 1 日 1 回 39 週間反復経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。対照群及び 50 mg/kg/日群には雌雄各 2 例の休薬動物を設置し，投与期間終了後 4 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。

一般状態の観察，体重，摂餌量の測定，心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。投与 1 日，13 週及び 32 週に TK 評価を行った。

5 mg/kg/日以上のすべての投与群で，本薬の過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便）が投与期間を通じて観察された。10 mg/kg/日群の雄 1 例及び 50 mg/kg/日群の雌 1 例では，重度の下痢（水様便），投与 3 又は 6 週から体重の減少が認められ，脱水，摂餌及び活動性の低下，円背位等がみられた後に瀕死状態となり，それぞれ，投与 76 日及び 106 日に安楽死させた（表 2.6.6-4）。このうち 50 mg/kg/日群の雌 1 例については，投与 93 から 99 日の 1 週間休薬したところ一般状態の改善がみられたが，再び投与すると動物は瀕死状態となったため安楽死させた。瀕死剖検例では好中球の増加，血清蛋白，ナトリウム及びクロライドの低下，又は脱水の影響と考えられる赤血球数の増加がみられた。病理組織学的検査では，盲腸，結腸及び直腸の大腸腺及び表層上皮の変性・壊死あるいは粘膜の出血・炎症性変化が認められ，消化管が本薬の毒性学的標的器官であることが示唆された。生存剖検例については，体重，心電図，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査のいずれにおいても特記すべき所見はみられなかった。

投与期間中にみられた便性状の変化は休薬による回復性が認められた。

表 2.6.6-4　　カニクイザル 39 週間経口投与毒性試験における死亡

投与量（mg/kg/日）	0（対照群）		5		10		50	
動物数	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
瀕死状態により安楽死	0	0	0	0	1[a]	0	0	1[a]

a　10 mg/kg/日群の雄 1 例及び 50 mg/kg/日群の雌 1 例は，それぞれ，投与 76 及び 106 日に瀕死状態となり安楽死させた。安楽死前に重度の水様便及び脱水，円背位，体重低下，摂餌並びに活動性の低下等の症状がみられた。

血漿中薬物濃度は投与量に伴って増加し，反復投与により蓄積する傾向が認められた［本試験の LLOQ はリナクロチドで 0.5 ng/mL，MM-419447 で 3 ng/mL］。性差は認められなかった。

以上の結果より，本試験での無毒性量は 5 mg/kg/日と推定された。国内臨床用量 0.5 mg（ヒト体重 50 kg 換算：10 μg/kg）とは約 500 倍の乖離がある。無毒性量における投与 39 週のリナクロチド及び MM-419447 の曝露量（AUC_{24h}）は，それぞれ雄で 49.8 及び 10.7 ng･h/mL，雌で 39.0 及び 20.0 ng･h/mL であった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.3.1-1

リナクロチドの *in vitro* における遺伝子突然変異誘発性を検討するため，ネズミチフス菌の TA98，TA100，TA1535，TA1537 株及び大腸菌の WP2*uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を実施した。リナクロチドを PBS に溶解し，33.3～5000 μg/プレートの濃度範囲で 6 用量を設定し，代謝活性化系（ラット肝 S9）の存在下及び非存在下にプレート法により試験を実施した。1 用量あたり 3 枚のプレートを用いて独立した試験を 2 回実施した。

その結果，いずれの菌株においても，代謝活性化系の有無に関わらず，復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって，リナクロチドは遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断された。

2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

添付資料 4.2.3.3.1-2

リナクロチドの *in vitro* における染色体異常誘発性を検討するため，ヒト末梢血リンパ球を用いて，代謝活性化系（ラット肝 S9）の存在下及び非存在下に 3 時間の短時間処理及び代謝活性化系の非存在下に 19 時間の連続処理を行い，処理濃度当たり 200 個の分裂中期像について染色体の形態異常を検査した。なお，最高処理濃度（1000 μg/mL）は溶液の安定性を基に設定された。

その結果，代謝活性化の有無に関わらず，1000 μg/mL まで染色体異常細胞数の増加は認められなかった。したがって，リナクロチドは染色体異常誘発性を示さないと判断された。

2.6.6.4.3 *In vivo* 遺伝毒性試験

リナクロチドは天然型アミノ酸のみから構成されるペプチドで，細胞に取り込まれてデオキシリボ核酸（DNA）に働きかける又は相互作用する可能性は予想されないこと，消化管からの吸収性が極めて低く（2.6.4.4 吸収），消化管内で短鎖ペプチドやアミノ酸レベルにまで分解され（2.6.4.5 代謝），標的臓器への十分な到達が期待されないため *in vivo* 試験での遺伝毒性評価に意義がないと考えられること，復帰突然変異試験及び *in vitro* 染色体異常試験を実施し陰性の成績が得られていること，以上のことから *in vivo* 遺伝毒性試験は実施されなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

2.6.6.5.1 マウス 104 週間経口投与がん原性試験

添付資料 4.2.3.4.1-1

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，1 群雌雄各 70 例の CD-1 マウス（投与開始時 7 週齢）に 0.6，2 及び 6 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 104 週間（最長 105 週間）反復経口投与した。雌雄各 70 例よりなる対照群を 2 群設置し（対照群 1 及び 2），0.5%メチルセルロース水溶液を同様に 1 日 1 回投与した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施した。途中死亡及び瀕死動物はその都度，生存動物については 104 週間投与終了後に剖検し，血液学的検査及び病理組織学的検査を実施した。

生存率，症状，一般状態の観察で確認された腫瘤，体重，摂餌量，血液学的検査，肉眼的観察所見又は病理組織所見（非腫瘍性）において，リナクロチド投与に関連する有意な変化はみられなかった。

病理組織学的検査の結果，肺の細気管支肺胞腺腫の発生率が対照群 1 及び 2 の雌の合計（8.57%）に比べて 6 mg/kg/日群の雌で有意に高かった（21.43%）（表 2.6.6-5）。細気管支肺胞腺腫は本試験で用いた CD-1 マウスに好発し，6 mg/kg/日群雌の発生率はこの試験を実施した試験施設の雌の背景データ（2002-2009 年間の 15 試験 21 対照群データの範囲：4.0%～20.0%，添付資料 4.2.3.4.1-1 Appendix O Historical Control Data）の上限値と同程度であった。本試験の雌の 2 つの対照群の細気管支肺胞腺腫の発生率は 10.00%及び 7.14%と施設背景値の平均値（13.5%）よりともに低く，両対照群データが低値に偏ったことにより，統計学的な有意差となったと考えられた。雄マウスではいずれの投与量においても細気管支肺胞腺腫の発生率の増加はみられず，後述するラットがん原性試験においても肺の腫瘍性病変の発現頻度の変化は雌雄いずれにも認められなかった。したがって，高用量（6 mg/kg/日）群の雌マウスでみられた細気管支肺胞腺腫の発生率への影響は，リナクロチド投与に起因した腫瘍性の反応ではないと判断された[Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation, 2012;Constella(Linaclotide):EMA CHMP assessment report, 2012]。また，本腫瘍の悪性化や前腫瘍性所見（細気管支肺胞過形成）の増加も認められなかった。

以上の結果より，本薬はマウスに対してがん原性を示さないと判断され，非発がん量は雌雄ともに 6 mg/kg/日と推定された[Linzess (linaclotide):Package insert, 2015; Constella(linaclotide):EPAR – Product Information,2012]。この用量は最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 600 倍（50 kg 体重換算）あるいは 48 倍（体表面積換算）の乖離がある。

表 2.6.6-5　　マウス 104 週間試験における肺の腫瘍の発生率

	投与群							
	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0[a]	0.6	2	6	0[a]	0.6	2	6
肺（検査例数）	(139)	(70)	(70)	(70)	(140)	(70)	(70)	(70)
細気管支肺胞腺腫[b]	32 (23.02%)	13 (18.57%)	9 (12.86%)	6 (8.57%)	12 (8.57%)	10 (14.29%)	11 (15.71%)	15[c] (21.43%)

a　プールした対照群のデータのみを表に示す。

b　雌の細気管支肺胞腺腫の発生率に統計学的に有意な傾向あり（$p<0.005$）（Cochran-Armitage の傾向検定，Peto の傾向検定）

c　プールした対照群との統計学的有意差あり（$p<0.01$）（Fisher の正確確率検定）

2.6.6.5.2 ラット 104 週間経口投与がん原性試験

添付資料 4.2.3.4.1-2

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，1 群雌雄各 70 例の SD ラット（投与開始時 8 週齢）に 0.3，1 及び 3.5 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 104 週間（最長 105 週間）反復経口投与した。雌雄各 70 例よりなる対照群を 2 群設置し（対照群 1 及び 2），0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施した。途中死亡及び瀕死動物はその都度，生存動物については 104 週間投与終了後に剖検し，血液学的検査及び病理組織学的検査を実施した。

生存率，症状，一般状態の観察で確認された腫瘤，体重，摂餌量，血液学的検査，肉眼的観察所見又は病理組織所見（非腫瘍性）において，リナクロチド投与に起因する有意な変化はみられなかった。

病理組織学的検査の結果，上皮小体腺腫が 0.3 mg/kg/日群の雌において，卵巣莢膜細胞腫が 3.5 mg/kg/日群の雌において，下垂体腺腫及び精巣の間細胞腺腫が 3.5 mg/kg/日の雄において，その発生率に対照群と比べて有意差が認められた（表 2.6.6-6）。しかしながら，上皮小体腺腫の発生率には用量反応性がみられないこと，卵巣莢膜細胞腫は 3.5 mg/kg/日群においても 2/70 例と低頻度で対照群 1 との間には有意差がないこと，下垂体腺腫（発生率 71.43%）及び精巣の間細胞腺腫（発生率 5.71%）はいずれも SD ラットに好発する自然発生性の腫瘍性病変でその発生率は試験施設の背景値のほぼ範囲内［2002-2009 年間の対照群データの平均発生率：下垂体腺腫 56.0%（雄）及び間細胞腺腫 2.2%，範囲：下垂体腺腫 32.9%～75.0%（雄）及び間細胞腺腫 0.0%～5.7%，添付資料 4.2.3.4.1-2 Appendix O Historical Control Data］で，いずれの腫瘍も悪性化や前腫瘍病変（過形成）の頻度に差が認められないことより，これらの腫瘍性変化の有意差は薬物起因性ではないと

判断された[Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation, 2012;Constella(Linaclotide):EMA CHMP assessment report, 2012]。

以上の結果より，本薬はラットに対してがん原性を示さないと判断され，非発がん量は雌雄ともに 3.5 mg/kg/日[Linzess (linaclotide):Package insert, 2015; Constella(linaclotide):EPAR – Product Information,2012]と推定された。この用量は最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 350 倍（50kg 体重換算）あるいは 56 倍（体表面積換算）の乖離がある。

表 2.6.6-6　　ラット 104 週間がん原性試験における上皮小体，卵巣，下垂体及び精巣の過形成及び腫瘍の発生率

	投与群							
	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0[a]	0.3	1	3.5	0[a]	0.3	1	3.5
上皮小体（検査例数）	(114)	(55)	(61)	(58)	(118)	(52)	(57)	(53)
過形成，限局性	8	8	2	2	3	1	3	0
過形成，びまん性	3	0	3	1	0	0	0	0
腺腫	4 (3.51%)	2 (3.64%)	2 (3.28%)	1 (1.72%)	3 (2.54%)	4[b] (7.69%)	0 (0.00%)	1 (1.89%)
卵巣（検査例数）	NA	NA	NA	NA	(140)	(70)	(70)	(70)
莢膜細胞腫	–	–	–	–	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2[c] (2.86%)
下垂体（検査例数）	(139)	(70)	(70)	(70)	(140)	(69)	(70)	(70)
過形成，前葉，限局性	28	11	9	8	19	9	10	5
過形成，前葉，びまん性	1	0	0	0	2	1	0	2
腺腫，前葉	74 (53.24%)	39 (55.71%)	40 (57.14%)	50[d] (71.43%)	96 (68.57%)	48 (69.57%)	56 (80.00%)	52 (74.29%)
癌，前葉	0	0	0	0	1	0	0	0
精巣（検査例数）	(140)	(70)	(70)	(70)	NA	NA	NA	NA
過形成，間細胞	0	0	1	0	–	–	–	–
腺腫，間細胞	0 (0.00%)	1 (1.43%)	0 (0.00%)	4[e] (5.71%)	–	–	–	–

a　プールした対照群のデータのみを表に示す。

b　対照群 2 と統計学的有意差あり（$p<0.05$）（Fisher の正確確率検定）

c　対照群 2 と統計学的有意差あり（$p<0.025$）（Peto 検定）

d　プールした対照群と統計学的有意差あり（$p<0.01$）（Fisher の正確確率検定）

e　プールした対照群と統計学的有意差あり（$p<0.005$）（Cochran Armitage の傾向検定）

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.1-1

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，10，50 及び 100 mg/kg/日の投与量で 1 群雌雄各 22 例の SD ラットに，雄動物に対しては交配前 29 日間及び同群の雌動物との交配期間を含めて剖検まで，雌動物に対しては交配前 14 日間及び同群の雄動物との交配期間を経て妊娠 7 日までの期間，強制経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。一般状態及び性周期の観察, 体重及び摂餌量の測定を実施し, 雌は妊娠 13 日に帝王切開し，黄体数，着床数，生存胚数及び死亡胚数を記録した。雄は交配期間終了後 3 週目に剖検した。

雌雄ラットの一般毒性，雄ラットの生殖機能（交尾までに要した日数，精子評価），雌ラットの生殖機能（性周期，交尾率，受胎率，交尾までに要した日数，黄体数，着床数）及び初期胚発生（生存胎児数，着床前死亡率，着床後死亡率）に対する影響はいずれの投与群においても認められなかった。

以上の結果より，雌雄ラットの一般毒性及び生殖機能，初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と推定された。最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 10000 倍（体重換算）あるいは 1600 倍（体表面積換算）の乖離がある。

2.6.6.6.2 マウス胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-1（参），2

投与量設定試験として，1 群 8 例の妊娠 CD-1 マウスの器官形成期（妊娠 6 日から 15 日）に 5, 20 及び 80 mg/kg/日を経口投与する予備試験を実施した［添付資料 4.2.3.5.2-1（参）］。その結果，忍容性は良好で，母動物及び胚・胎児発生への影響はみられなかったことから，本試験の投与量を 5，40 及び 100 mg/kg/日とした。

本試験ではリナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，5，40 及び 100 mg/kg/日の投与量で 1 群 25 例の CD-1 雌マウスに妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与した。対照群を 2 群設置し，0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。なお，40 及び 100 mg/kg/日群では投与初期にそれぞれ 5 例の死亡及び瀕死剖検例が発生したため，40 mg/kg/日群には動物 7 例を追加し，100 mg/kg/日群では生存 20 例の投与量を妊娠 6～11 日から 40 mg/kg/日に減量した。

母動物の一般状態の観察, 体重及び摂餌量の測定を実施した。母動物は妊娠 18 日に帝王切開し，子宮内検査を行い，胎児の外表，内臓及び骨格を観察した。母動物の曝露量評価のために 1 群 48 例のサテライト動物を用いて，妊娠 6 日及び 15 日には血漿中薬物濃度を測定した。

母動物への影響として，40 mg/kg/日では 5 例が活動性の低下，腹臥，振戦，低体温（触診）及び半眼を呈した後，妊娠 7～16 日の期間に死亡あるいは瀕死剖検された。100 mg/kg/日では 4 例が妊娠 7～10 日に瀕死剖検され，1 例が妊娠 10 日に死亡し，40 mg/kg/日に減量した以降も 1 例が妊娠 13 日に瀕死剖検された。認められた一般症状は 40 mg/kg/日群とほぼ同様であった。40 及び

100/40 mg/kg/日群においては，母動物の投与後半における体重増加量及び妊娠子宮重量は低値を示した。

胚・胎児への影響は，母動物に対する致死用量である 40 mg/kg/日以上の用量でのみ認められ，胎児体重の低値，椎骨異常の発現率の増加，加えて 40 mg/kg/日群では眼瞼開存発現率の増加が認められた。椎骨異常の発現は，主に低体重の胎児において認められた。

以上の結果より，マウスにおける母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量はともに 5 mg/kg/日と推定された。最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 500 倍（体重換算）あるいは 40 倍（体表面積換算）の乖離がある。無毒性量における妊娠 15 日の母動物のリナクロチドの曝露量（AUC_{24h}）は 4.64 ng･h/mL であった。なお，MM-419447 は無毒性量において LLOQ 未満であったため，AUC は算出されていない［本試験の LLOQ，リナクロチド：0.5 ng/mL，MM-419447：5 ng/mL］。

2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-3（参），4

投与量設定試験として，1 群 6 例の妊娠 SD ラットの器官形成期（妊娠 6 日から 17 日）に 1，5，10 及び 20 mg/kg/日を経口投与する予備試験を実施した［添付資料 4.2.3.5.2-3（参）］。その結果，忍容性は良好で，母動物及び胚・胎児発生への影響はみられなかったことから，本試験の投与量を 10，50 及び 100 mg/kg/日とした。

本試験ではリナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，10，50 及び 100 mg/kg/日の投与量で 1 群 22 例の SD 雌ラットに妊娠 6 日から 17 日まで強制経口投与した。対照群には，0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

母動物の一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施した。母動物は妊娠 21 日に帝王切開し，子宮内検査を行い，胎児の外表，内臓及び骨格を観察した。母動物の曝露量評価のために，1 群 8 例のサテライト動物を用いて妊娠 6 日及び 17 日には血漿中薬物濃度を測定した。

母動物及び胚・胎児への影響として，100 mg/kg/日までのいずれの投与群においても，母動物並びに胚･胎児発生に対する影響は認められなかった。

以上の結果より，ラットにおける母動物及び胚･胎児発生に対する無毒性量はともに 100 mg/kg/日と推定された。最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 10000 倍（体重換算）あるいは 1600 倍（体表面積換算）の乖離がある。無毒性量における妊娠 17 日の母動物のリナクロチド及び MM-419447 の曝露量（$AUC_{0.5\text{-}2h}$）はそれぞれ 39.8 及び 28.1 ng･h/mL であった。

2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-5（参），6（参），7

投与量設定試験として，1 群 6 例の妊娠 NZW ウサギの器官形成期（妊娠 7 日から 20 日）に 0.1，1，5 及び 20 mg/kg/日を経口投与する予備試験を実施した［添付資料 4.2.3.5.2-5（参）］。その結果，1 mg/kg/日以上の用量で薬理作用に関連すると考えられる便性状の変化（軟便）が用量依存的に観

察されたものの，忍容性は良好で，ウサギでは母動物及び胚・胎児発生への影響はみられなかった。追加試験として，1 群 5 例の非妊娠 NZW ウサギ（5 カ月齢）に 5 及び 40 mg/kg/日を 13 日間経口投与する予備試験を実施した［添付資料 4.2.3.5.2-6（参）］。その結果，すべての投与群で便性状の変化（軟便）及び摂餌量の低下が観察されたものの，忍容性は良好と考えられたことから，本試験の投与量を 5，10 及び 40 mg/kg/日とした。

本試験では，リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，5，10 及び 40 mg/kg/日の投与量で 1 群 22 例の NZW ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで強制経口投与した。対照群には，0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。

母動物の一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を実施し，妊娠 29 日に帝王切開し，子宮内検査を行い，胎児の外表，内臓及び骨格を観察した。妊娠 7 日及び 19 日に血漿中薬物濃度を測定した。

母動物への影響として，すべての投与群で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便又は軟便）が観察されたが，体重あるいは摂餌量には影響は認められなかった。

胚･胎児への影響として，いずれの投与群においても胚･胎児発生には影響は認められなかった。

以上の結果より，ウサギにおける母動物及び胚･胎児発生に対する無毒性量は 40 mg/kg/日と推定された。最大臨床推奨用量（0.5 mg/ヒト）とは 4000 倍（体重換算）あるいは 1280 倍（体表面積換算）の乖離がある。無毒性量における妊娠 19 日の母動物のリナクロチド及び代謝物 MM-419447 の曝露量（$AUC_{0.5\text{-}8h}$）はそれぞれ 636 及び 30.3 ng･h/mL であった。

2.6.6.6.5 ラット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

添付資料 4.2.3.5.3-1

リナクロチドを 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し，10，50 及び 100 mg/kg/日の投与量で 1 群 24 例の SD 雌ラット（交配時 11～13 週齢）に妊娠 6 日から分娩後 21 日まで強制経口投与した。対照群には，0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した。F_0 世代の母動物について，生死，一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，分娩観察を行い，授乳期の哺育状況を観察した後，出生児を離乳し，剖検した。F_1 世代の出生児について，生死，一般状態及び性の観察，体重測定を実施し，身体発育分化，感覚機能及び反射，行動，生殖機能について検査し，更に F_2 世代の出生児について一般状態，性及び体重を観察した。

いずれの投与群においても，母動物における一般毒性及び生殖機能及び出生児（F_1 世代）の身体発育分化，感覚，反射，行動及び生殖機能並びに F_2 世代の一般状態，性比及び体重について薬物投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より，ラットの母動物における一般毒性及び生殖機能，出生児（F_1 及び F_2 世代）に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と推定された。100 mg/kg/日と予定臨床用量（0.5 mg/ヒト）とは 10000 倍（体重換算）あるいは 1600 倍（体表面積換算）の乖離がある。

2.6.6.6.6 幼若毒性試験

2.6.6.6.6.1　幼若マウス 5 日間用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.4-1

リナクロチドの幼若マウスにおける忍容性を検討するために，0.1，10，50，及び 100 あるいは 600 μg/kg/日のリナクロチドを 1 群雌雄各 8 例の生後 7, 14 又は 21 日齢の CD-1 マウスに 1 日 1 回 5 日間経口投与した（7 及び 14 日齢の高用量は 100 μg/kg/日，21 日齢の高用量は 600 μg/kg/日）。

その結果，7 日齢のマウスは 50 μg/kg/日以上，14 日齢のマウスは 100 μg/kg/日，21 日齢のマウスでは 600 μg/kg/日の用量で, 初回投与後 24 時間以内に死亡又は状態悪化による瀕死が認められ, 7, 14 及び 21 日齢の幼若マウスに対するリナクロチドの 5 日間経口投与の最大耐量はそれぞれ 10, 50 及び 100 μg/kg/日と推定された。

2.6.6.6.6.2　7 日齢マウス 9 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.5.4-3

リナクロチドを 1，3 及び 10 μg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 20 例の CD-1 マウス（生後 7 日齢）に 1 日 1 回 9 週間反復経口投与した。対照群には溶媒であるイソマルト粉末，L-ロイシン，塩化カルシウム二水和物及びポリビニルアルコールの水溶液を同様の方法で投与した。すべての投与群に雌雄各 8～10 例の休薬動物を設置し，投与期間終了後 4 週間の休薬により毒性の回復性を検討した。一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定，身体発育分化（膣開口及び包皮分離），機能観察総合評価（FOB 法），血液学的検査，血液化学的検査，剖検，大腿骨長及び骨幅の測定，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。サテライト群として 1 群雌雄各 96 あるいは 24 例の動物を用いて，7 及び 70 日齢における血漿中薬物濃度を経時的に測定した。

3 μg/kg/日までの用量では薬物投与の影響は認められなかった。10 μg/kg/日群では初回又は 2 回投与後に雄 2 例，雌 3 例（8 日又は 9 日齢）が死亡したが，剖検あるいは病理組織学的検査では特記すべき所見は認められなかった。また, 3 回投与以降は薬物投与の影響は認められなかった。休薬動物でも特記すべき所見は認められなかった。

以上の結果より，リナクロチドを幼若マウス（生後 7 日齢）に 1 日 1 回 9 週間経口投与した際の無毒性量は 3 μg/kg/日と推定された。なお，リナクロチド及び MM-419447 の曝露量は，すべての投与量で LLOQ 未満であったため，算出されていない［本試験の LLOQ はリナクロチドが 2 ng/mL，MM-419447 が 5 ng/mL］。

2.6.6.6.6.3　7 日齢マウス単回経口投与死因検討試験（GLP 非適用）

添付資料 4.2.3.5.4-4(参)

試験 1（死亡発生の経時変化及び用量反応性の確認試験）：

リナクロチドを 10 及び 20 μg/kg の投与量で 1 群雌雄合計 20 例の CD-1 マウス（生後 7 日齢）に単回経口投与した。対照群には，投与が成功したかを確認するための Evan's blue dye を添加した逆浸透水を溶媒として同様に投与した。症状（下痢）及び生死を投与後 8 時間まで 30 分ごとに観察し，投与後 24 時間にも記録した。

その結果，リナクロチド 10 μg/kg 群では投与後 5～5.5 時間に 10%（20 例中 2 例）の動物が，20 μg/kg 群では投与後 4～8 時間に 40%（20 例中 8 例）の動物が死亡した。性差はみられなかった。対照群に死亡は認められなかった。下痢は投与後 2.5 時間以降，10 μg/kg 群では 20 例中 18 例，20 μg/kg 群では全例で観察されたが，投与後 24 時間には回復した。

試験 2（死亡発生前の腸液分泌及び脱水マーカーへの影響の検討試験）：

リナクロチドを 0（溶媒）及び 20 μg/kg の投与量で 1 群雌雄合計 20 例の CD-1 マウス（生後 7 日齢）に単回経口投与し，投与後 1，3 及び 4 時間における症状（下痢）及び生死，腸管重量/体重の比，腸液量，腸液 pH 及び浸透圧，ヘマトクリット，血漿総蛋白及び血漿ナトリウム濃度を検査した。

その結果，投与後 1～4 時間に，下痢，腸液量（対照群の約 2 倍）及び腸管重量/体重の比の増加，腸液 pH 及び浸透圧の上昇，ヘマトクリット及び血漿蛋白濃度の上昇（対照群のそれぞれ 14%～32%増加及び 45%～73%増加），及び血漿ナトリウム濃度の低下傾向が認められた。4 時間までの観察期間内に死亡は発生しなかった。以上のことから，7 日齢マウスでは本薬の過度の薬理作用による腸液分泌の亢進による脱水状態が投与後少なくとも 4 時間は持続するものと考えられた。

試験 3（水分補給の死亡発生への影響検討試験）：

リナクロチドを 0（溶媒：第 1 及び 3 群）及び 20 μg/kg（第 2 及び 4 群）の投与量で 1 群雌雄合計 20 例（第 1 群のみ雌雄合計 19 例）の CD-1 マウス（生後 7 日齢）に単回経口投与し，第 3 及び 4 群には補液として 0.45%塩化ナトリウム水溶液 100 μL を投与後 5 分以内に 1 回，投与後 8 時間までは 1 時間ごとに 1 回皮下投与した。症状（下痢）及び生死を投与後 8 時間まで 30 分ごとに観察し，投与後 24 及び 48 時間にも記録した。

その結果，死亡に関しては，リナクロチド単独投与群では投与後 4～6.5 時間に 40%（20 例中 8 例）の動物が死亡したが，リナクロチド・補液併用群の忍容性は良好で，投与後 48 時間まで全例が生存した。また，投与後 1 時間以降には，リナクロチド単独投与群で 20 例中 18 例に，リナクロチド・補液併用群で 20 例中 19 例に下痢がみられたが，24 時間以降，下痢は観察されなかった。以上より間歇的な水分補給により死亡が完全に抑制されたことから，7 日齢マウスで認められた死亡は下痢による脱水によって生じたものと考えられた。

2.6.6.6.6.4　7 日齢マウス単回経口投与時の水分補給の影響検討試験

添付資料 4.2.3.5.4-5

リナクロチドを 0（溶媒：第 1 及び 3 群）及び 20 μg/kg（第 2 及び 4 群）の投与量で 1 群雌雄各 10 例の CD-1 マウス（生後 7 日齢）に単回経口投与し，第 3 及び 4 群には補液として 0.45%塩化ナトリウム水溶液 100 μL を投与後 5 分以内に 1 回，投与後 8 時間までは 1 時間ごとに 1 回皮下投与した。症状及び生死を経口投与後 10 時間まで 30 分ごとに観察し，投与後 24 及び 48 時間にも観察した後，剖検した。

その結果，リナクロチド単独投与群（第 2 群）では投与後 3 時間から，水様便，活動性の低下，低体温（触診），脱水兆候，衰弱及び呼吸緩徐等の症状が観察され，投与後 5～24 時間に 45%（雄 10 例中 4 例，雌 10 例中 5 例）の動物が死亡あるいは瀕死剖検された。リナクロチド・補液併用群（第 4 群）では，水様便が投与後 3～10 時間に観察されたものの，それ以外には特記すべき所見はみられず，忍容性は良好で，投与後 48 時間まで全例が生存した。0 μg/kg 投与群（第 1 及び 3 群）の動物に症状あるいは死亡は認められなかった。

間歇的な補液の皮下投与による水分補給によりマウスの死亡を完全に抑制できたことから，リナクロチドを投与した 7 日齢マウスの死亡は本薬の過剰な薬理作用により生じた重度の脱水によるものであると考えられた。

2.6.6.6.6.5　4 週齢マウス 1 週間経口投与忍容性試験

添付資料 4.2.3.5.4-6

リナクロチドを 100，500 及び 1000 μg/kg/日の用量で 1 群雌雄各 9～10 例の CD-1 マウス（4 週齢：28 日から 34 日齢）に 1 日 1 回 7 日間反復経口投与し，投与期間終了後 7 日間の休薬期間中を含め，一般状態の観察，体重及び摂餌量の測定を行った。対照群には，超純水を同様の方法で投与した。

その結果，いずれの投与群においても死亡はみられず，症状，体重及び摂餌量に薬物投与の影響は認められなかった。4 週齢の幼若マウスにリナクロチドを 1000 μg/kg/日までの用量で 1 日 1 回 7 日間投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.6.6.6　幼若ウサギ単回及び 5 日間用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.4-2

リナクロチドの幼若ウサギにおける忍容性を検討するために，1 群雌雄各 1 例（2 mg/kg については雌 2 例）の NZW ウサギ（生後 14 日齢）に 2，10 及び 40 mg/kg のリナクロチドを単回経口投与し，また 1 群雌雄各 4 例（2 mg/kg については雄 3 例，雌 5 例）の NZW ウサギ（生後 14 日齢）に 0.6，2，10 及び 40 mg/kg/日のリナクロチドを 1 日 1 回 5 日間経口投与した。

その結果，単回経口投与では 10 mg/kg 以上の用量で盲腸の暗色変化，40 mg/kg ではそれに加えて盲腸に水分の多い消化物が認められた。5 日間経口投与では，10 mg/kg 以上の用量で盲腸及び結腸に水分の多い消化物が認められ，盲腸の拡張がみられた。以上より，40 mg/kg まで忍容性は良好で，最大耐量は 40 mg/kg/日超と推定された。

2.6.6.7　局所刺激性試験

本薬は経口投与治療薬であるため，局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1 不純物の毒性試験

3.2.P.5.6 製剤の管理 規格及び試験方法の妥当性の項に示すように，本剤（リナクロチド錠 0.25 mg）は，通常の使用状況で想定され得る包装開封後短時間の取り扱い（無包装状態での保管）において，表示量に対して 1%相当量を超える顕著な製剤分解物（類縁物質５＊）の生成を認める。また，3.2.P.5.5 製剤の管理 不純物の特性の項に示すように，本剤の製剤分解物である 類縁物質４＊については，欧米で上市されているカプセル剤においても，表示量に対して 1.0%を超える顕著な増加を認めることが報告されている。したがって，これら 2 つの主な製剤分解生成物については安全性を確認するための毒性試験を実施した。

不純物 類縁物質５＊（MM-448623）及び類縁物質４＊（MM-447619）の安全性は，GLP 毒性試験（細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験）において評価した。細菌を用いた復帰突然変異試験では，代謝活性化の有無に関わらず，リナクロチドに関連する製剤不純物 MM-448623 及び MM-447619 は遺伝子突然変異誘発性を示さなかった。マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験では，不純物 MM-448623（0.08 mg/kg/日：臨床用量 500 μg/日の規格値 1.5%の約 500 倍量）及び MM-447619（0.04 mg/kg/日：臨床用量 500 μg/日の規格値 0.5%の約 800 倍量）を添加したリナクロチド（20 mg/kg/日）と不純物非添加のリナクロチド（20 mg/kg/日）を 4 週間投与した際の毒性を比較したが，MM-448623 及び MM-447619 による毒性の増強は認められなかった。

以上のことから，不純物 類縁物質５＊（MM-448623）の規格値 1.5%及び類縁物質４＊（MM-447619）の規格値 0.5%までの安全性が確認されたと考えられた。

2.6.6.8.1.1　MM-448623 及び MM-447619 の細菌を用いた復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.7.6-1

リナクロチド製剤不純物 MM-448623 及び MM-447619 の *in vitro* における遺伝子突然変異誘発性を検討するために，ネズミチフス菌の TA98，TA100，TA1535，TA1537 株及び大腸菌の WP2*uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を実施した。MM-448623 及び MM-447619 をリン酸緩衝生理食塩水に溶解し，50～5000 μg/プレートの濃度範囲で 5 用量を設定し，代謝活性化系（ラット肝 S9）の存在下及び非存在下にプレート法により試験を実施した。1 用量あたり 3 枚のプレートを用いて独立した試験を 2 回実施した。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

MM-448623 及び MM-447619 ともに，いずれの菌株においても代謝活性化の有無に関わらず，復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって，MM-448623 及び MM-447619 は遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断された。

2.6.6.8.1.2　MM-448623 及び MM-447619 添加品のマウス 4 週間経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.7.6-2

リナクロチド製剤不純物の毒性学的プロファイルを明らかにするために以下の試験を実施した。1 群雌雄各 16 例の CD-1 マウス（6 週齢）に 20 mg/kg/日のリナクロチドに MM-448623 及び MM-447619 をそれぞれ 0.08 及び 0.04 mg/kg/日の用量で添加して，1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。対照群には不純物非添加の 20 mg/kg/日のリナクロチドのみを投与した。また 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与する群も設けた。各群雌雄各 10 例の休薬動物を設置し，投与期間終了後 2 週間の休薬による毒性の回復性を検討した。一般状態の観察, 体重及び摂餌量の測定, 眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。1 群雌雄各 8 例のサテライト動物を用いて投与 1 日及び 28 日に血漿中薬物濃度を測定した。

その結果，症状，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，リナクロチドの血漿中薬物濃度，剖検，臓器重量測定及び病理組織学的検査所見において，リナクロチド 20 mg/kg/日（不純物非添加）群と不純物（MM-448623 及び MM-447619）を添加したリナクロチド 20 mg/kg/日群との間には毒性学的意義のある明らかな差は認められなかった。なお，リナクロチド 20 mg/kg/日の不純物添加及び非添加両群の雄では，0.5%メチルセルロース水溶液投与群の雄に比して，油性被毛及び脱水が頻度高く観察されたが，リナクロチドの薬理作用に起因する変化と考えられた。

以上の結果より，0.08 mg/kg/日の MM-448623 及び 0.04 mg/kg/日の MM-447619 はマウスにおいて，リナクロチド投与により誘発される毒性を増強しないと判断された。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

リナクロチドの免疫毒性試験は実施しなかった。ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」の指針及びそれに基づく証拠の重み付け（Weight-of-Evidence）評価に基づいて，リナクロチドの免疫毒性試験は不要と判断した。すなわち, これまでに実施した標準的毒性試験のデータにおいて，白血球の増減などの血液学的変化は認められておらず，免疫系器官の重量又は組織像の変化に関しては，マウス 13 週間経口投与毒性試験及びカニクイザル 39 週間経口投与毒性試験において，最大耐量あるいはそれに近い用量で瀕死状態となった動物でみられたストレスによる免疫系への影響を除き，特に変化は認められなかった。また，マウス及びラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験において，免疫低下を示唆するようなリナクロチド投与に関連する所見あるいは腫瘍発生の増加はみられなかった。

なお，カニクイザルにおける 13 週間経口投与毒性試験の中間用量群の 1 例が，免疫低下により食道に細菌及び真菌感染が発生し，状態悪化により瀕死剖検されたが，この試験の他の動物やその他の試験では同様の変化はみられず，用量反応性のないことからも，リナクロチドとは関連性のない，自然発生的な事象であると判断された。

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1 幼若マウスの死亡について

毒性試験に用いられた動物種のうち，リナクロチドの作用に対してマウスが最も高い感受性を示した。特に幼若マウスは低用量のリナクロチドに対して高い感受性を示し，忍容性は 1 週齢と 8 週齢の間で生後週齢とともに著しく増加した（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7　　マウス及びウサギの週（月）齢と致死量のまとめ

動物	致死量（μg/kg）	非致死量（μg/kg）
マウス		
1 週齢	10	3
2 週齢	100	50
3 週齢	600	100
4 週齢	-	1000
8 週齢	100000	20000
ウサギ		
2 週齢	-	40000
5 カ月齢	-	40000

すなわち，1 週齢（生後 7 日齢）のマウスでは，3 μg/kg/日の用量で 9 週間経口投与したときの忍容性は良好であったが，10 μg/kg/日を単回又は 2 回投与した際には死亡がみられた（2.6.6.6.6.2 7 日齢マウス 9 週間経口投与毒性試験）。2 週齢（生後 14 日齢）のマウスでは，リナクロチドを 50 μg/kg/日の用量で 5 日間経口投与した際には死亡はみられなかったが，100 μg/kg を単回経口投与した際には死亡がみられた（2.6.6.6.6.1 幼若マウス 5 日間用量設定試験）。3 週齢（生後 21 日齢）のマウスでは，リナクロチドを 100 μg/kg/日の用量で 5 日間経口投与した際には死亡はみられなかったが，600 μg/kg を単回経口投与した際には死亡がみられた（2.6.6.6.6.1 幼若マウス 5 日間用量設定試験）。4 週齢（生後 28 日齢）のマウスでは，リナクロチド 1000 μg/kg/日を 7 日間経口投与した際には死亡はみられなかった（2.6.6.6.6.5 4 週齢マウス 1 週間経口投与忍容性試験）。8 週齢のマウスでは，リナクロチドを 13 あるいは 26 週間投与した際の無毒性量（NOAEL）は 20 mg/kg と推定され，死亡は 100 mg/kg 以上の用量でみられた（2.6.6.3.1 マウス 13 週間経口投与毒性試験及び 2.6.6.3.2 マウス 26 週間経口投与毒性試験）。

一方，ウサギについても幼若動物での忍容性の検討を実施したが，2 週齢動物の忍容性は 40 mg/kg まで良好と，5 カ月齢の成獣とほぼ同じ成績（2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験及び 2.6.6.6.6.6 幼若ウサギ単回及び 5 日間用量設定試験）で，ウサギでは幼若毒性の懸念はなかった。

一般的に，新生児げっ歯類の腸管では，成熟げっ歯類に比べて大腸菌エンテロトキシン誘発性下痢への感受性が高く，その理由としてはGC-C受容体発現量が多く，またペプチドの代謝能が低いことが知られている[Cohen, 1986; Cohen, 1992; Al-Majali, 1999]。加えて，新生児マウスの腸管は機能的に未成熟で吸収機能が未発達であるため[Pacha, 2000]，GC-C受容体作動薬投与時には脱水が発現しやすいと考えられる。すなわち，リナクロチドに対する幼若マウスの致死量の低下は，若齢時におけるGC-C受容体発現量の多いこと，腸管機能，水分吸収能の未発達により，GC-C受容体刺激に対する感受性が著しく増加し，血管系から腸管腔へ体液が大幅に移動した状態が持続すること（脱水）により引き起こされると考えられた。

本薬は米国において2012年に承認されたが，製造販売後調査（PMR）の一環として，リナクロチドを投与した7日齢マウスで観察される上記の死亡仮説を検証する試験が実施された[PMR 1915-1, 2012]。その結果，リナクロチドによる幼若マウスの死亡の数時間前から，下痢，腸液量及び腸管重量/体重比の増加，腸液pH及び浸透圧の上昇，ヘマトクリット及び血漿総蛋白の著しい増加（血液濃縮）が認められ，血管系から腸管内への体液の大幅な移動により急激かつ重度の脱水を生じさせることが明らかとなった。致死量のリナクロチドを投与したマウスに0.45%塩化ナトリウム水溶液を皮下投与により補水することにより，リナクロチド投与による死亡を完全に防止できることが示されたことから，幼若マウスの死亡は重度の脱水によって生じたものと考えられた。

以上のことから，リナクロチドを投与した幼若マウスで観察された死亡のメカニズムは，GC-C受容体発現量の多い幼若マウスの未発達な腸管へのGC-C受容体作動薬の薬理学的作用に起因する，血管系から腸管への体液の大幅な移動による脱水が原因と考えられた。マウスでは生後数週間で腸機能が発達し，GC-C受容体発現量が低下することと，リナクロチドに対する忍容性が生後数週間で著しく増加する点は一致しており，死因を過剰な薬理学的作用による脱水とする考えに矛盾はないと考えられた。

2.6.6.9.2 安全域について

リナクロチドは14個の天然型アミノ酸から成るペプチドで，腸管でカルボキシペプチダーゼAにより加水分解されると，リナクロチドの生物学的活性を維持した13個のアミノ酸から成るペプチド代謝物（MM-419447）を生成する。リナクロチド及び代謝物MM-419447は，*in vitro*における還元条件下の消化管プロテアーゼ処理や*in vivo*でのラットの腸管ループ内において，速やかに不活性型短鎖ペプチドに分解され，天然型アミノ酸となる。動物を用いた薬物動態試験でのリナクロチド及びMM-419447の経口バイオアベイラビリティは，すべての動物種で極めて低いことが示されている（2.6.4.3 吸収）。ヒトではリナクロチド及び主要代謝物MM-419447は，リナクロチドを投与された被験者では血中に検出されなかったため，曝露量に基づく安全域の算出はできないが，ヒト最大臨床推奨用量のC_{max}以上の曝露は達成されていると考えられることから，リナクロチド及びMM-419447の安全性はこれまでに実施した安全性薬理試験あるいは毒性試験において適切に評価されていると考えられる。表2.6.6-8に主要な非臨床試験における無毒性量（NOAEL）

と，用量あるいは体表面積で換算した最大臨床推奨用量との乖離幅を示す。動物の NOAEL とヒト最大臨床推奨用量との間には 350 倍超（用量換算）あるいは 40 倍超（体表面積換算）の広い乖離幅が確保されている。リナクロチドの非臨床試験の結果からは，主にリナクロチドの過度の薬理学的作用に関連する可逆的な所見が認められた以外には特記すべき所見は認められず，本薬に起因する安全性上の問題がヒトに生じる可能性は低いと考えられた。

表 2.6.6-8　　主要な毒性試験の NOAEL 及び臨床用量との乖離幅のまとめ

試験報告書番号／試験の種類	NOAEL mg/kg/日 （mg/m^2/日）	乖離幅 NOAEL／臨床用量の比 [a]
長期投与試験―経口投与		
MNP-103-027-TXR-01 26 週間マウス経口投与毒性試験	20 mg/kg/日 （60 mg/m^2/日）	2000 倍 (160 倍)
MNP-103-028-TXR-01 39 週間カニクイザル経口投与毒性試験	5 mg/kg/日 （60 mg/m^2/日）	500 倍 (160 倍)
MNP-103-030-CAR-01 マウス 104 週間経口投与がん原性試験	6 mg/kg/日 （18 mg/m^2/日）	600 倍 (48 倍)
MNP-103-029-CAR-01 ラット 104 週間経口投与がん原性試験	3.5 mg/kg/日 （21 mg/m^2/日）	350 倍 (56 倍)
生殖発生毒性試験―経口投与		
MNP-103-026-RTR-01 ラット受胎能及び初期胚発生試験	100 mg/kg/日 （600 mg/m^2/日）	10000 倍 (1600 倍)
MNP-103-033-RTR-01 マウス胚・胎児発生試験	5 mg/kg/日 （15 mg/m^2/日）	500 倍 (40 倍)
MNP-103-014-RTR-01 ラット胚・胎児発生試験	100 mg/kg/日 （600 mg/m^2/日）	10000 倍 (1600 倍)
MNP-103-015-RTR-01 ウサギ胚・胎児発生試験	40 mg/kg/日 （480 mg/m^2/日）	4000 倍 (1280 倍)
MNP-103-041-RTR-01 ラット出生前及び出生後発生試験	100 mg/kg/日 （600 mg/m^2/日）	10000 倍 (1600 倍)
短期投与試験―静脈内投与		
MNP-103-018-TXR-01 ラット単回静脈内投与毒性試験	5 mg/kg [b] （30 mg/m^2/日）	500 倍 (80 倍)
MNP-103-019-TXR-01 7 日間カニクイザル静脈内投与試験	15 mg/kg/日 [b] （180 mg/m^2/日）	1500 倍 (480 倍)

a　最大臨床用量（500 μg/日）を体重 50kg 換算して 10 μg/kg/日と仮定して算出した。(　)内には体表面積換算値を記載した。

b　良好な忍容性を示した最大量を記載した。

2.6.6.9.3 がん原性について

リナクロチドは, CD-1 マウス及び SD ラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験において, がん原性は認められなかった。両試験における非発がん量は 6 mg/kg/日（雌雄マウス）及び 3.5 mg/kg/日（雌雄ラット）と推定され[Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation,2012; Constella (linaclotide): EMA CHMP assessment report,2012], 最大臨床推奨

用量（0.5 mg/ヒト）との乖離はそれぞれ 600 倍（体重換算）あるいは 48 倍（体表面積換算），350 倍（体重換算）あるいは 56 倍（体表面積換算）であった。

リナクロチドは 1) 14 個の天然型アミノ酸から成る難吸収性の経口ペプチドでヒトでは血中に検出されないこと，2) 非遺伝毒性物質であること，3) 長期反復投与毒性試験の結果，腫瘍性あるいは前腫瘍性変化を誘発しなかったこと，4) これまでの臨床試験及び欧米での市販後情報で腫瘍増加の報告はない[Linaclotide:DSUR, 2014; DSUR 2015]ことから，がん原性が懸念される要因はなく，ヒトにおけるがん原性のリスクはないと考えられた。FDA CDER Executive Carcinogenicity Assessment Committee の結論[Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation,2012]も同様であった。

2.6.6.9.4 結論

リナクロチドの非臨床における安全性を評価するために，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，幼若毒性試験及びその他の毒性試験（不純物の毒性試験）を実施した。

リナクロチドを 1 日 1 回反復経口及び静脈内投与したときの忍容性はいずれの動物種においても良好で，カニクイザルでは過度の薬理学的作用と考えられる可逆的な便性状の変化（無形状便又は水様便）が低用量から認められた。カニクイザル及びマウスの死亡発現用量では消化管が，マウスの死亡発現用量では更に腎臓，心臓及びリンパ系組織（脾及び胸腺）が本薬の毒性学的標的器官と考えられたが，ラットでは主要な標的器官は特定されなかった。細菌及び哺乳類細胞を用いた遺伝毒性試験並びにマウス及びラットのがん原性試験の結果からは，リナクロチドは変異原性や染色体異常誘発性，催腫瘍性を持たないことが示された。生殖発生毒性試験では，ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験又は出生前及び出生後の発生に関する試験において影響は認められなかった。胚・胎児発生毒性試験では，ラット及びウサギにおいて発生への影響は認められず，マウスでは母動物に対する致死発現用量においてのみ，胚・胎児発生への影響が認められた。非臨床試験における NOAEL と最大臨床用量（500 μg/日）との間には広い乖離が示されている（表 2.6.6-8）。長期投与毒性試験（マウス 26 週間試験及びカニクイザル 39 週間試験）及び生殖発生毒性試験の NOAEL は最大臨床用量の 500 倍超，がん原性試験の非発がん量は最大臨床用量の 300 倍超であった。幼若マウス（生後 7 日齢）を用いた 9 週間経口投与毒性試験では，低用量（10 μg/kg/日）から死亡が発生した。これは GC-C 受容体発現量の多い幼若マウスの未発達な腸管への GC-C 受容体作動薬の薬理学的作用に起因した，血管系から腸管への体液の大幅な移動による脱水が原因と考えられ，間歇的な補液の皮下投与により幼若マウスの死亡は完全に抑制された。ウサギでは幼若毒性の懸念は認められなかった。また，本薬に関連する製剤不純物のうち 1.0%を超えて個別に規格が設定される類縁物質５＊（MM-448623）については，細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウス 4 週間経口投与毒性試験で，変異原性は認められず，規格値上限の約 500 倍量までマウスへの毒性はみられないことから，安全性上の懸念はないことが示された。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

以上のことから，本薬は臨床の場において大きな問題となる副作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は各項の本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Al-Majali AM, Robinson JP, Asem, EK, Lamar C, Freeman MJ, Saeed AM. Characterization of the interaction of Escherichia coli heat-stable enterotoxin (STa) with its intestinal putative receptor in various age groups of mice, using flow cytometry and binding assays. Lab Anim Sci 1999;49: 254-259.

Cohen MB, Moyer MS, Luttrell M, Giannella RA. The immature rat small intestine exhibits an increased sensitivity and response to Escherichia coli heat-stable enterotoxin. Pediatr Res 1986;20:555-60.

Cohen MB, Guarino A, Shukla R, Giannella RA. Age-related differences in receptors for Escherichia coli heat-stable enterotoxin in the small and large intestine of children. Gastroenterology 1988;94: 367-373.

Cohen MB and Giannella RA. Jejunal toxin inactivation regulates susceptibility of the immature rat to STa. Gastroenterology 1992;102: 1988-1996.

Constella (linaclotide): EMA CHMP assessment report EMA/CHMP/60979/2012) http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002490/WC500135624.pdf#search='Constella+%28linaclotide%29+EPAR'

Constella (linaclotide):EPAR – Product Information 2012 http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2012/20121126124562/anx_124562_en.pdf#search='SmPC+linaclotide'

de Sauvage FJ, Camerato TR, Goeddel DV. Primary structure and functional expression of the human receptor for Escherichia coli heat-stable enterotoxin. J Biol Chem 1991;266:17912-8

Linaclotide: Development Safety Update Report 2014

Linaclotide: Development Safety Update Report 2015

Linzess (linaclotide) : FDA PHARMACOLOGY/TOXICOLOGY NDA REVIEW AND EVALUATION http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/202811Orig1s000PharmR.pdf#search='Linaclotide+FDA+pharmacology'

Linzess (linaclotide): Package insert 2015

Pacha J. Development of intestinal transport function in mammals. Physiol Rev 8, 2000; 1633-1667.

PMR 1915-1 (2012) A nonclinical study in neonatal and juvenile mice to determine the mechanism of death in neonatal and juvenile mice treated with linaclotide http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/appletter/2012/202811Orig1s000ltr.pdf#search='PMR+19151+FDA'

Vaandrager AB. Structure and function of the heat-stable enterotoxin receptor/guanylyl cyclase C. Mol Cell Biochem 2002; 230 (1-2):73-83

目次

2.6.7　毒性試験概要表.....2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表.....2
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表.....8
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.....10
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧.....12
2.6.7.5　単回投与毒性試験.....35
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験.....36
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験.....37
2.6.7.8　*in vitro* 遺伝毒性試験.....65
2.6.7.9　*in vivo* 遺伝毒性試験.....72
2.6.7.10　がん原性試験.....73
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験.....77
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験.....79
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験.....82
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.....93
2.6.7.15　幼若動物を用いた試験.....98
2.6.7.16　局所刺激性試験.....105
2.6.7.17　その他の毒性試験.....106
2.6.7.18　反復投与毒性試験・生殖発生毒性試験・がん原性試験の用量補正値の一覧.....108

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
SINGLE-DOSE TOXICITY						
Sprague-Dawley rats	Oral gavage	1 day	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[redacted]	[MNP-103-016-TXR-01]
Sprague-Dawley rats	Intravenous	1 day	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[redacted]	[MNP-103-018-TXR-01]
Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	Single and 5- day repeated dose (1.5 mg/kg/day)	0.5, 1.5, 3.0, 5.0	No	[redacted]	[MNP-103-017-TXR-01]
Cynomolgus monkeys	Intravenous	Single and 7-day repeated dose (15 mg/kg/day)	0.5, 2.5, 5.0, 15	Yes	[redacted]	[MNP-103-019-TXR-01]
REPEATED-DOSE TOXICITY						
CD-1 mice	Oral gavage	13 weeks	20, 100, 200	Yes	[redacted]	[MNP-103-007-TXR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	26 weeks	5, 20, 100/80[a]	Yes	[redacted]	[MNP-103-027-TXR-01]
Sprague-Dawley rats	Oral gavage	14 days	1.0, 5.0, 20	Yes	[redacted]	[MNP-103-020-TXR-01]
Sprague-Dawley rats	Oral gavage	13 weeks	10, 50, 100	Yes	[redacted]	[MNP-103-005-TXR-01]
Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	14 days	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[redacted]	[MNP-103-021-TXR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
REPEATED-DOSE TOXICITY						
Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	13 weeks	5, 10, 50	Yes	[redacted]	[MNP-103-006-TXR-02]
Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	39 weeks	5, 10, 50	Yes	[redacted]	[MNP-103-028-TXR-01]
GENOTOXICITY						
Salmonella typhimurium and *Escherichia coli*	NA	NA	33.3 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	[MNP-103-022-GTR-01]
Human peripheral blood lymphocytes	NA	NA	Up to 1.0 mg/mL	Yes	[redacted]	[MNP-103-023-GTR-01]
CARCINOGENICITY						
CD-1 mice	Oral gavage	105 weeks	0.6, 2, 6	Yes	[redacted]	[MNP-103-030-CAR-01]
Sprague-Dawley rats	Oral gavage	105 weeks	0.3, 1, 3.5	Yes	[redacted]	[MNP-103-029-CAR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
REPRODUCTION TOXICITY-FERTILITY						
Sprague-Dawley rats	Oral gavage	Males:29 days pre-mating, during mating and until necropsy Females:14 days pre-mating, during mating and until day 7 of gestation	10, 50, 100	Yes	[redacted]	[MNP-103-026-RTR-01]
REPRODUCTION TOXICITY-EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT						
Pregnant CD-1 mice	Oral gavage	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 6 through 15	5, 20, 80	Yes	[redacted]	[MNP-103-032-RTR-01]
Pregnant CD-1 mice	Oral gavage	Definitive Single daily dose on gestation days 6 through 15	5, 40, 100/40 [b]	Yes	[redacted]	[MNP-103-033-RTR-01]
Pregnant Sprague-Dawley rats	Oral gavage	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 6 through 17	1, 5, 10, 20	Yes	[redacted]	[MNP-103-052-RTR-01]
Pregnant Sprague-Dawley rats	Oral gavage	Definitive Single daily dose on gestation days 6 through 17	10, 50, 100	Yes	[redacted]	[MNP-103-014-RTR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
REPRODUCTION TOXICITY-EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT						
Pregnant New Zealand White rabbits	Oral gavage	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 7 through 20	0.1, 1, 5, 20	Yes	[redacted]	[MNP-103-053-RTR-01]
New Zealand White rabbits	Oral gavage	Dose range-finding 13 days	5, 40	No	[redacted]	[MDP-103-029-RTR-01]
Pregnant New Zealand White rabbits	Oral gavage	Definitive Single daily dose on gestation days 7 through 19	5, 10, 40	Yes	[redacted]	[MNP-103-015-RTR-01]
REPRODUCTION TOXICITY-PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT						
Pregnant Sprague- Dawley rats	Oral gavage	Definitive Single daily dose on gestation day 6 through day 21, 22 or 23 post partum	10, 50, 100	Yes	[redacted]	[MNP-103-041-RTR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
JUVENILE TOXICITY						
CD-1 mice	Oral gavage	Dose range-finding Single daily dose for 5 days starting on day 7, 14 or 21 post partum	0.0001, 0.010, 0.050, 0.1, 0.6	Yes	[redacted]	[MNP-103-046-TXR-01]
New Zealand White rabbits	Oral gavage	Dose range-finding Acute single dose or single daily dose for 5 days starting on day 14 post partum	Acute = 2, 10, 40 Repeat dose = 0.6, 2, 10, 40	Yes	[redacted]	[MNP-103-047-TXR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	Definitive Single daily dose for 9 weeks starting on day 7 post partum	0.001, 0.003, 0.010	Yes	[redacted]	[MNP-103-054-TXR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	Mechanism Study Single dose on day 7 post partum	0.01, 0.02	No	Ironwood Pharmaceutical (Cambridge, MA)	[MDP-103-089-PHR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	Mechanism Study Single dose on day 7 post partum	0.02	Yes	[redacted]	[MNP-103-078-TXR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	Single daily dose for 1 week starting on day 28 post partum	0.1, 0.5, 1	Yes	[redacted]	[MNP-103-074-TXR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：リナクロチド

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Study Report Number
OTHER TOXICITY STUDIES: IMPURITIES						
Salmonella typhimurium and *Eschericia coli*	NA	NA	50 to 5000 µg/plate 類縁物質４＊[c] and 類縁物質５＊ [c]	Yes	[redacted]	[MNP-103-068-GTR-01]
CD-1 mice	Oral gavage	4 weeks	20 mg/kg linaclotide and 20 mg/kg linaclotide+ 0.040 mg/kg 類縁物質４＊[d] and 0.080 mg/kg 類縁物質５＊ [d]	Yes	[redacted]	[MNP-103-061-TXR-01]

a. The dose level changed from 100 to 80 mg/kg/day on Day 6 due to early mortality in the study.
b. The dose level changed from 100 to 40 mg/kg/day on GD 6, 7, 8, 9, 10 or 11 due to early mortality in the study.
c. 類縁物質４＊(MM-447619) and類縁物質５＊(MM-448623) are linaclotide-related impurities.
d. 類縁物質４＊(MM-447619) and類縁物質５＊(MM-448623) are linaclotide-related impurities. These were spiked into a dose of linaclotide and administered as such.
NA - Not available/ not applicable.

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：リナクロチド

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP	Study Report Number
Single Dose Toxicity	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[MNP-103-016-TXR-01]
Single Dose Toxicity	Sprague-Dawley rats	Intravenous	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[MNP-103-018-TXR-01]
Single Dose Toxicity	Cynomolgus monkey	Intravenous	Phase 1: 0.5, 2.5, 5.0, 15 Phase 2: 15[a]	Yes	[MNP-103-019-TXR-01]
13-Week Toxicity	CD-1 mice	Oral gavage	20, 100, 200	Yes	[MNP-103-007-TXR-01]
26-Week Toxicity	CD-1 mice	Oral gavage	5, 20, 100/80[b]	Yes	[MNP-103-027-TXR-01]
2-Week Toxicity	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	1.0, 5.0, 20	Yes	[MNP-103-020-TXR-01]
13-Week Toxicity	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	10, 50, 100	Yes	[MNP-103-005-TXR-01]
2-Week Toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	0.5, 2.5, 5.0	Yes	[MNP-103-021-TXR-01]
13-Week Toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	5, 10, 50	Yes	[MNP-103-006-TXR-02]
39-Week Toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (nasogastric intubation)	5, 10, 50	Yes	[MNP-103-028-TXR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：リナクロチド

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP	Study Report Number
Reproductive Toxicity- Embryo-Fetal Development (Definitive)	CD-1 mice	Oral gavage	5, 40, 100/40[c]	Yes	[MNP-103-033-RTR-01]
Reproductive Toxicity- Embryo-Fetal Development (Dose Range-Finding)	Pregnant Sprague-Dawley rats	Oral gavage	1, 5, 10, 20	Yes	[MNP-103-052-RTR-01]
Reproductive Toxicity- Embryo-Fetal Development (Definitive)	Pregnant Sprague-Dawley rats	Oral gavage	10, 50, 100	Yes	[MNP-103-014-RTR-01]
Reproductive Toxicity- Embryo-Fetal Development (Dose Range-Finding)	Pregnant New Zealand White rabbits	Oral gavage	0.1, 1, 5, 20	Yes	[MNP-103-053-RTR-01]
Reproductive Toxicity- Embryo-Fetal Development (Definitive)	Pregnant New Zealand White rabbits	Oral gavage	5, 10, 40	Yes	[MNP-103-015-RTR-01]
Juvenile Toxicity (Definitive)	CD-1 mice	Oral gavage	0.001, 0.003, 0.010	Yes	[MNP-103-054-TXR-01]

a. This was a repeat dose for 7 days at 15 mg/kg/day.
b. The dose level changed from 100 to 80 mg/kg/day on Day 6 due to early mortality in the study.
c. The dose level changed from 100 to 40 mg/kg/day on GD 6-11 (depending on conception day) due to early mortality in the study.

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3 A　トキシコキネティクス：リナクロチド関連パラメータ（各試験の AUC）

被験物質：リナクロチド

Analyte	Linaclotide Steady-State AUC_{0-24} (ng·h/mL)[a]									MM-419447[b] Steady-State AUC_{0-24} (ng·h/mL)[a]								
Species	**Mice**		**Rats**		**Rabbits**	**Monkeys**		**Humans**		**Mice**		**Rats**		**Rabbits**	**Monkeys**		**Humans**	
Dose[c] (mg/kg/day)	M	F	M	F	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	M	F	M	F
Route	Oral																	
0.01[d]								NC[e]	NC[e]								NC[e]	NC[e]
0.1					NC[o]									NC[o]				
0.5						NC[r]	NC[r]								16.8[r]	NC[r]		
1			NC[m]	NC[k,m]	7.18[o]									NC[o]				
2.5						14.7[r]	6.79[r]								20.6[r]	12.3[r]		
5	0.690[i]	4.64[f] 0.913[i]	NC[m]	5.32[k] NC[m]	53.4[o] 55.0[p]	18.2[r] 16.1[s] 49.8[t]	21.8[r] 26.1[s] 39.0[t]			NC[i]	NC[f,i]			NC[o,p]	IS[r] 87.7[s] 10.7[t]	IS[r] 138[s] 20.0[t]		
10			NC[n]	NC[k,l,n]	118[p]	48.1[s] 81.4[t]	89.7[s] 94.8[t]					NC[n]	NC[l,n]	NC[p]	227[s] 146[t]	306[s] 208[t]		
20	NC[h] 7.15[i]	NC[h] 63.8[i]	NC[m]	NC[k,m]	140[o]					NC[h] 1.04[i]	NC[h,i]			NC[o]				
40		18.4[f] 21.7[f,g]			636[p]						5.40[f] 11.6[f,g]			30.3[p]				
50			4.23[n]	19.2[l] 12.3[n]		173[s] 292[t]	191[s] 656[t]					NC[n]	17.3[l] 14.4[n]		677[s] 599[t]	601[s] 1020[t]		
80	163[i,j]	48.6[i,j]								4.59[i,j]	5.05[i,j]							

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.3 A　トキシコキネティクス：リナクロチド関連パラメータ（各試験の AUC）

被験物質：リナクロチド

Test Article: Linaclotide																			
Analyte	Linaclotide Steady-State $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]									MM-419447[b] Steady-State $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]								
Species	**Mice**		**Rats**		**Rabbits**	**Monkeys**		**Humans**		**Mice**		**Rats**		**Rabbits**	**Monkeys**		**Humans**	
Dose[c] (mg/kg/day)	M	F	M	F	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	M	F	M	F
Route	Oral																	
100	NC[h]	NC[h]	38.8[n]	39.8[l] 72.3[n]						NC[h]	NC[h]	29.2[n]	28.1[l] 48.2[n]					
200	39.0[h]	24.0[h]								NC[h]	NC[h]							
Route	Intravenous																	
15						73186[q]	74283[q]								295[q]	470[q]		

a. For each study, data from the last toxicokinetic sampling day is reported. NC - Not calculated due to lack of measurable analyte in plasma samples; IS - Insufficient sample volume for analysis.
b. MM-419447 is the active primary metabolite of linaclotide.
c. Once daily dosing.
d. Equivalent to 500 µg/subject, assuming a 50 kg body weight, and for comparison to nonclinical dose levels adjusted for peptide content
e. Clinical 26-week study in patients with irritable bowel syndrome with constipation; the plasma of 98 patients was analyzed on Day 1 and Day 28 [MCP-103-302-CSR-01].
f. Mouse 10-day (gestation days 6-15) reproductive toxicity embryo-fetal development study, 4F per time point [MNP-103-033-RTR-01].
g. The dose level was changed from 100 to 40 mg/kg/day on gestation day 6-11 (depending on conception day) due to early mortality in the study.
h. Mouse 13-week toxicity study, 3/sex per time point; $AUC_{0\text{-}2}$ [MNP-103-007-TXR-01].
i. Mouse 26-week toxicity study, 3/sex per time point [MNP-103-027-TXR-01].
j. The dose level was changed from 100 to 80 mg/kg/day on day 6 due to early mortality in the study.
k. Rat 12-day (gestation days 6-17) reproductive toxicity embryo-fetal development study, 3F per time point [MNP-103-052-RTR-01].
l. Rat 12-day (gestation days 6-17) reproductive toxicity embryo-fetal development study, 4F per time point; $AUC_{0.5\text{-}2}$ [MNP-103-014-RTR-01].
m. Rat 14-day toxicity study, 3/sex per time point [MNP-103-020-TXR-01].
n. Rat 13-week toxicity study, 3/sex per time point; $AUC_{0\text{-}4}$ [MNP-103-005-TXR-01].
o. Rabbit 14-day (gestation days 7-20) reproductive toxicity embryo-fetal development study, 3F per time point [MNP-103-053-RTR-01].
p. Rabbit 13-day (gestation days 7-19) reproductive toxicity embryo-fetal development study, 4-5F per time point; $AUC_{0.5\text{-}8}$ [MNP-103-015-RTR-01].
q. Monkey 7-day intravenous injection toxicity study, 2/sex per time point; $AUC_{0\text{-}8}$ [MNP-103-019-TXR-01].
r. Monkey 14-day toxicity study, 5/sex per time point [MNP-103-021-TXR-01].
s. Monkey 13-week toxicity study, 4-7/sex per time point [MNP-103-006-TXR-02]. t. Monkey 39-week toxicity study, 4-6/sex per time point [MNP-103-028-TXR-01].

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 A Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide			
Lot No.	**Total** 類縁物質１＊ **Content**	**Study Number**	**Study Type**
[redacted]MD11000401	4.5%	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
		[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
		[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
		[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
		[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
		[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
		[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
		[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
		[MNP-103-019-TXR-01]	Dose range-finding IV monkey
[redacted]MD11000402B	3.8%	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
		[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000501	13.1%	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
		[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
		[MDP-103-029-TXR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	3.1%	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
		[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
		[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat

（次頁に続く）

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 A Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide			
Lot No.	**Total　類縁物質１＊ Content**	**Study Number**	**Study Type**
[redacted]MD11000601B1	3.7%	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	4.0%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000601D	4.1%	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
		[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000602A	4.5%	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat
[redacted]MD11000602B	4.8%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
		[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	5.9%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	5.1%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
		[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
		[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse
[redacted]MD11000604A	5.6%	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	4.2%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
		[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse

（次頁に続く）

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 A Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide			
Lot No.	**Total** 類縁物質１＊ **Content**	**Study Number**	**Study Type**
[redacted]MD11000803	3.2%	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
		[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
		[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[b]	0.5%	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	0.6%	[MDP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
		[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4-week old mouse
		[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

a. Data presented are from Retrospective Analysis performed by [redacted]; Report CMC-103-DS-CZR-055 except for lot [redacted]MD11000903B.
b. Data reported is from the Certificate of Analysis (CoA) using [redacted] method [redacted] from [redacted]. [redacted] is the manufacturer specific method number equivalent to the validated [redacted] method [redacted].

（次頁に続く）

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.66	0.83	0.90	0.91	0.927	0.934	0.97	1.03	1.04	1.05		
[redacted]MD11000401	0.80%	—	0.05%	—	—	—	—	0.08%	—	0.08%	0.17%	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
												[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
												[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
												[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
												[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
												[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
												[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
												[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
												[MNP-103-019-TXR-01]	Dose-range finding IV monkey
[redacted]MD11000402B	1.90%	—	—	0.05% + 0.06%	0.11%	0.14%	0.12%	—	—	—	—	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.66	0.83	0.90	0.91	0.927	0.934	0.97	1.03	1.04	1.05		
[redacted]MD11000501	3.51%	0.15%	—	—	0.10%	0.07%	0.07%	0.10%	—	—	0.16%	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
												[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
												[MDP-103-029-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	0.89%	—	—	0.07%	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre-and postnatal oral rat
[redacted]MD11000601B1	1.34%	—	—	0.06%	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	1.46%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000601D	0.94%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.66	0.83	0.90	0.91	0.927	0.934	0.97	1.03	1.04	1.05		
[redacted]MD11000602A	1.24%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat
[redacted]MD11000602B	1.51%	—	—	0.08%	—	—	—	—	—	—	0.05%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	1.61%	—	—	0.08%	—	—	—	—	—	—	0.09%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	1.07%	—	—	0.12%	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
												[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
												[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse
[redacted]MD11000604A	1.71%	—	—	0.14%	—	—	—	—	—	—	0.06%	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	1.82%	—	—	0.10%	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.66	0.83	0.90	0.91	0.927	0.934	0.97	1.03	1.04	1.05		
[redacted]MD11000803	1.12%	—	—	0.15%	—	—	—	—	—	—	—	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
												[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
												[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[d]	1.22%	—	—	—	—	—	—	—	0.15%	0.10% + 0.20%	—	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	1.44%	—	—	—	—	—	—	—	0.43%	0.11%	0.16%	[MDP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
												[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4 week old mouse
												[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		1.06	1.09	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.175	1.19[c]		
[redacted]MD11000401	0.80%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.10%	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
												[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
												[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
												[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
												[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
												[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
												[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
												[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
												[MNP-103-019-TXR-01]	Dose-range finding IV monkey
[redacted]MD11000402B	1.90%	0.08%	—	0.14%	—	—	0.14%	—	—	—	0.29%	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		1.06	1.09	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.175	1.19[c]		
[redacted]MD11000501	3.51%	0.05%	0.11%	0.23%	0.07%	—	0.14%	—	0.36%	—	0.38%	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
												[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
												[MDP-103-029-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	0.89%	—	—	0.15%	—	—	—	—	—	—	0.12%	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre-and postnatal oral rat
[redacted]MD11000601B1	1.34%	0.11% + 0.10%	—	—	—	—	—	—	0.05%	—	0.14%	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	1.46%	0.05%	—	0.15%	—	—	0.12%	—	—	—	0.20%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000601D	0.94%	—	—	0.09%	—	—	0.06%	—	—	—	0.19%	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000602A	1.24%	—	0.05%	0.12%	—	—	—	—	—	—	0.18%	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		1.06	1.09	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.175	1.19[c]		
[redacted]MD11000602B	1.51%	—	0.06%	0.17%	—	—	—	—	—	0.05%	0.20%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	1.61%	—	0.10%	0.16%	—	0.07%	—	—	0.11%	—	0.24%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	1.07%	—	0.05%	0.15%	—	—	—	—	—	—	0.15%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
												[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
												[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse
[redacted]MD11000604A	1.71%	0.11% + 0.12%	0.06%	—	—	—	—	—	0.07% + 0.10%	—	0.36%	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	1.82%	—	0.06%	0.21%	—	—	0.15%	—	0.12%	—	0.65%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		1.06	1.09	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.175	1.19[c]		
[redacted]MD11000803	1.12%	—	—	0.13%	—	—	—	—	—	—	0.47%	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
												[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
												[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[b]	1.22%	0.08%	—	—	—	—	—	—	—	—	0.46%	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	1.44%	—	—	—	—	—	—	—	—	0.50%	—	[MDP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
												[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4 week old mouse
												[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥ 0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.20	1.22	1.24	1.37	1.38	1.40	1.44	1.45		
[redacted]MD11000401	0.80%	—	—	—	0.15%	—	0.11%	—	—	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
										[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
										[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
										[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
										[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
										[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
										[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
										[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
										[MNP-103-019-TXR-01]	Dose-range finding IV monkey
[redacted]MD11000402B	1.90%	—	—	0.38%	0.19%	0.05%	0.16%	—	—	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
										[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥ 0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.20	1.22	1.24	1.37	1.38	1.40	1.44	1.45		
[redacted]MD11000501	3.51%	0.08%	—	1.18%	0.15%	—	0.10%	—	—	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
										[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
										[MDP-103-029-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	0.89%	—	—	0.17%	0.15%	—	0.12%	—	0.06%	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
										[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
										[MNP-103-041-RTR-01]	Pre-and postnatal oral rat
[redacted]MD11000601B1	1.34%	—	—	0.61%	0.15%	—	0.11%	—	—	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	1.46%	—	—	0.65%	0.16%	—	0.13%	—	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥ 0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.20	1.22	1.24	1.37	1.38	1.40	1.44	1.45		
[redacted]MD11000601D	0.94%	—	—	0.19%	0.19%	—	0.15%	—	0.07%	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
										[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000602A	1.24%	—	0.08%	0.55%	0.14%	—	0.12%	—	—	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat
[redacted]MD11000602B	1.51%	—	0.11%	0.35%	0.16%	—	0.13%	—	0.06%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
										[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	1.61%	—	0.09%	0.40%	0.16%	—	0.12%	—	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	1.07%	—	0.08%	0.07%	0.18%	—	0.15%	—	0.07%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
										[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
										[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse
[redacted]MD11000604A	1.71%	—	0.29%	—	0.20%	—	0.14%	—	0.06%	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	1.82%	—	0.11%	—	0.21%	—	0.15%	—	0.07%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
										[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 B Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥ 0.05% (RRT 0.66 – 1.49)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.20	1.22	1.24	1.37	1.38	1.40	1.44	1.45		
[redacted]MD11000803	1.12%	—	—	—	0.19%	—	0.13%	—	0.06%	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
										[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
										[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[d]	1.22%	—	—	—	—	—	0.14%	0.10%	—	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	1.44%	—	—	—	0.14%	0.09%	—	—	—	[MDP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
										[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4 week old mouse
										[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

a. Data presented are from Retrospective Analysis performed by [redacted]; Report CMC-DS-CZR-055 except for lot [redacted] MD11000903B.
b. Relative Retention Time variability is ±0.02.
c. The impurity reported at this RRT is the Specified Impurity，類縁物質２＊.
d. Data presented are from chromatograms acquired during linaclotide drug substance release testing using RP-HPLC method [redacted] from [redacted]. [redacted] is the manufacturer specific method number equivalent to the validated RP-HPLC method [redacted].

（次頁に続く）

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.23	0.68	0.90	0.94	0.96	1.03	1.04	1.06	1.07	1.10		
[redacted]MD11000401	0.98%	—	—	—	—	—	—	0.14%	0.09%	0.20%	—	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
												[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
												[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
												[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
												[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
												[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
												[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
												[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
												[MNP-103-019-TXR-01]	Dose-range finding IV monkey

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impur-ities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.23	0.68	0.90	0.94	0.96	1.03	1.04	1.06	1.07	1.10		
[redacted]MD11000402B	1.88%	—	—	0.07%	—	—	—	0.20%	0.16%	0.21%	0.20%	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000501	2.22%	0.16%	—	0.13%	—	—	—	0.11%	—	0.37%	0.15%	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
												[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
												[MDP-103-029-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	0.41%	—	—	—	—	—	—	0.08%	—	—	—	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
												[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impur-ities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.23	0.68	0.90	0.94	0.96	1.03	1.04	1.06	1.07	1.10		
[redacted]MD11000601B1	1.07%	—	—	—	—	—	—	0.12%	—	0.09%	—	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	1.35%	—	—	—	—	—	—	0.15%	—	0.24%	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000601D	0.83%	—	—	—	—	—	—	0.19%	—	0.17%	—	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
												[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000602A	0.90%	—	—	—	—	—	—	0.19%	—	—	—	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat
[redacted]MD11000602B	1.26%	—	0.09%	—	—	0.08%	—	0.25%	—	0.19%	—	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	1.24%	—	—	—	0.06%	—	—	0.20%	—	0.19%	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	0.96%	—	0.10%	—	0.06%	—	—	0.26%	—	—	—	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
												[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
												[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a]

Test Article: Linaclotide													
Lot No.	**Total Impur-ities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**										**Study Number**	**Study Type**
		0.23	0.68	0.90	0.94	0.96	1.03	1.04	1.06	1.07	1.10		
[redacted]MD11000604A	1.76%	—	0.11%	—	0.07%	—	—	0.30%	—	0.15%	—	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	1.12%	—	0.10%	—	—	—	—	0.10%	—	—	—	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
												[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000803	0.90%	—	0.12%	—	—	—	—	0.07%	—	—	—	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
												[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
												[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[d]	0.87%	—	—	—	—	—	—	0.08%	—	0.06%	—	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	2.22%	—	—	—	—	—	—	0.17%	—	0.07%	0.23%	[MDP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
												[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4 week old mouse
												[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.17	1.19[c]	1.33	1.45	1.54	1.77	1.78	1.89		
[redacted]MD11000401	0.98%	—	0.10%	—	0.20%	—	0.13%	—	0.12%	[MNP-103-023-GTR-01]	Chromosomal aberrations
										[MNP-103-022-GTR-01]	Bacterial reverse mutation
										[MNP-103-016-TXR-01]	Single-dose oral rat
										[MNP-103-018-TXR-01]	Single-dose IV rat
										[MNP-103-025-SPR-01]	Cardiovascular and respiratory IV dog
										[MNP-103-024-SPR-01]	hERG assay
										[MNP-103-020-TXR-01]	14-day repeat dose oral rat
										[MNP-103-021-TXR-01]	14-day repeat dose oral monkey
										[MNP-103-019-TXR-01]	Dose-range finding IV monkey
[redacted]MD11000402B	1.88%	0.08%	0.26%	—	0.38%	—	0.17%	—	0.15%	[MNP-103-052-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rat
										[MNP-103-053-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurit-ies**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.17	1.19[c]	1.33	1.45	1.54	1.77	1.78	1.89		
[redacted]MD11000501	2.22%	—	0.17%	—	0.79%	0.12%	0.13%	—	0.10%	[MNP-103-005-TXR-01]	13-week repeat dose oral rat
										[MNP-103-006-TXR-02]	13-week repeat dose oral monkey
										[MDP-103-029-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral rabbit
[redacted]MD11000601A	0.41%	—	0.09%	—	—	—	0.14%	—	0.12%	[MNP-103-014-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rat
										[MNP-103-015-RTR-01]	Embryo-fetal development oral rabbit
										[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000601B1	1.07%	—	0.14%	—	0.50%	—	0.12%	—	0.11%	[MNP-103-007-TXR-01]	13-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11000601C	1.35%	—	0.14%	—	0.56%	—	0.14%	—	0.12%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000601D	0.83%	—	0.15%	—	—	—	0.17%	—	0.15%	[MNP-103-027-TXR-01]	26-week repeat dose oral mouse
										[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.17	1.19[c]	1.33	1.45	1.54	1.77	1.78	1.89		
[redacted]MD11000602A	0.90%	—	0.09%	—	0.40%	—	0.12%	—	0.11%	[MNP-103-026-RTR-01]	Fertility oral rat
[redacted]MD11000602B	1.26%	—	0.11%	—	0.30%	—	0.14%	—	0.12%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
										[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse
[redacted]MD11000603A	1.24%	—	0.14%	0.07%	0.31%	—	0.15%	—	0.12%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
[redacted]MD11000603C	0.96%	—	0.15%	0.09%	—	—	0.17%	—	0.14%	[MNP-103-028-TXR-01]	39-week repeat dose oral monkey
										[MNP-103-032-RTR-01]	Dose range-finding embryo-fetal development oral mouse
										[MNP-103-033-RTR-01]	Embryo-fetal development oral mouse
[redacted]MD11000604A	1.76%	0.07%	0.39%	—	0.34%	—	0.20%	—	0.14%	[MNP-103-041-RTR-01]	Pre- and postnatal oral rat
[redacted]MD11000801	1.12%	—	0.51%	0.09%	—	—	0.19%	—	0.14%	[MNP-103-029-CAR-01]	Carcinogenicity oral rat
										[MNP-103-030-CAR-01]	Carcinogenicity oral mouse

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：リナクロチド

2.6.7.4 C Toxicology: Drug Substance Impurity Profile Analyzed by [redacted][a] (Continued)

Test Article: Linaclotide											
Lot No.	**Total Impurities**	**Individual Impurities ≥0.05% (RRT 0.23 – 1.90)[b]**								**Study Number**	**Study Type**
		1.17	1.19[c]	1.33	1.45	1.54	1.77	1.78	1.89		
[redacted]MD11000803	0.90%	—	0.41%	—	—	—	0.17%	—	0.13%	[MNP-103-046-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile mouse
										[MNP-103-047-TXR-01]	Dose range-finding oral juvenile rabbit
										[MNP-103-054-TXR-01]	9-week repeat dose oral juvenile mouse
[redacted]MD11000903B[d]	0.87%	—	0.43%	—	—	—	0.15%[e]	—	0.10%[e]	[MNP-103-061-TXR-01]	4-week repeat dose oral mouse
[redacted]MD11001001	2.2%	—	0.51%	—	—	—	0.14%[f]	—	0.10%[f]	[MNP-103-089-PHR-01]	Single-dose oral juvenile mouse
										[MNP-103-074-TXR-01]	7-day repeat dose oral 4 week mouse
										[MNP-103-078-TXR-01]	Effect of supplemental fluid on survival in juvenile mouse

a. Data presented are from Retrospective Analysis performed by [redacted]; Report CMC-103-DS-CZR-055 except for lot [redacted]MD11000903B. <LOQ = below limit of quantitation (0.05%).

b. Relative Retention Time variability is ± 0.02.

c. The impurity reported at this RRT is the Specified Impurity, 類縁物質２＊.

d. Data presented are from chromatograms acquired during linaclotide drug substance release testing using RP-HPLC method [redacted] performed by [redacted].

e. Observed RRTs for these impurities differ from the RRTs reported in the Retrospective analysis performed by [redacted].

f. Observed RRTs for these impurities are 1.73 and 1.84 respectively

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

Test Article: Linaclotide							
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)**	**Approximate Lethal Dose (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Sprague-Dawley rat	Oral gavage (Phosphate-buffered saline)	0.5, 2.5, 5.0	Male, Female 5/sex/group	5.0	> 5.0	No evidence of toxicity.	[MNP-103-016-TXR-01]
Sprague-Dawley rat	Intravenous (Phosphate-buffered saline)	0.5, 2.5, 5.0	Male, Female 5/sex/group	5.0	> 5.0	No evidence of toxicity.	[MNP-103-018-TXR-01]
Cynomolgus monkey	Oral-nasogastric intubation (Phosphate-buffered saline)	0.5, 1.5, 3.0, 5.0	Male 1/group	5.0	> 5.0	Changes in stool consistency (nonformed or liquid feces), low food consumption, and/or abdominal distention at doses ≥ 1.5 mg/kg.	[MNP-103-017-TXR-01][a]
Cynomolgus monkey	Intravenous (Phosphate-buffered saline)	0.5, 2.5, 5.0, 15	Male, Female 1/sex/group	15	>15	Changes in stool consistency (non-formed) following dosing at 5.0 and 15 mg/kg.	[MNP-103-019-TXR-01][a]

a. This study had both single and repeat dose arms.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide							
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**No Observed Adverse Effect Level (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Cynomolgus monkey	Oral-nasogastric intubation (Phosphate-buffered saline)	5 days	1.5	Male 1/group	≥1.5	Changes in stool consistency (nonformed or liquid feces)	[MNP-103-017-TXR-01][a]
Cynomolgus monkey	Intravenous (Phosphate-buffered saline)	7 days	15	Male, Female 2/sex/group	≥15	Changes in stool consistency (non-formed or liquid feces)	[MNP-103-019-TXR-01][a]

a. This study had both single and repeat dose arms.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験：マウス 13 週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: 13-Week Oral Toxicity Study of MD-1100 Acetate in Mice Followed by a 2-Week Recovery Period					**Study Report No. [MNP-103-007-TXR-01]**			
Species / Strain: CD-1 Mice		**Duration of Dosing: 13 weeks**						
Initial Age: Approximately 6 weeks		**Duration of Postdose: 2 weeks**			**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 22 June 2006		**Method of Administration: Oral gavage**						
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
Toxicokinetics (linaclotide)[a]								
AUC_{0-2} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	NC	NC	49.4	51.2
Day 27	NA	NA	NC	NC	NC	NC	38.4	NC
Day 85	NA	NA	NC	NC	NC	NC	39.0	24.0
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	39.8	50.0
Day 27	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	38.7	BQL
Day 85	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	27.9	28.7

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A　反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
Toxicokinetics (MM-419447)[a]								
AUC_{0-2} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 27	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 85	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Day 27	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Day 85	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund (Week 1[b]**)**	0	0	0	0	1	1	3	8
Died or sacrificed moribund after Week 1[c]	1	0	0	0	3	5	6	6
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[d]								
Convulsions	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	1/1
Decreased activity	1/1	0/0	0/0	1/1	2/2	6/5	9/6	9/7
Tremors	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2	3/2	3/2
Feces few or absent	1/1	0/0	0/0	1/1	1/1	4/3	4/3	10/7
Eyelids partially or completely closed	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	4/4	2/2
Brown or yellow discolored hair	10/1	0/0	10/1	0/0	1/1	4/3	33/7	1/1
Skin cold to touch	1/1	0/0	0/0	0/0	2/2	8/6	7/6	8/6

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A　反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
Breathing slow	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1
Unkempt appearance	10/1	0/0	7/2	0/0	0/0	1/1	13/5	1/1
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:								
Number Evaluated[f]**:**	10	10	0	10	11	11	15	22
Heart								
degeneration; myocardium; multifocal								
mild	0	0	NE	0	0	0	0	1
mineralization; myocardium; focal								
minimal	0	0	NE	0	0	0	0	2
mineralization; myocardium; multifocal								
minimal	0	0	NE	0	0	1	1	2
mild	0	0	NE	0	0	0	0	1
necrosis; coronary artery; focal								
mild	0	0	NE	0	0	0	0	1

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A　反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
necrosis; myocardium; multifocal								
minimal	0	0	NE	0	0	0	0	2
Intestine, cecum								
not examined; autolysis precludes evaluation	0	0	NE	NE	4	4	4	9
ulceration; multifocal								
marked	0	0	NE	NE	0	0	1	1
Kidneys								
necrosis; proximal tubule; bilateral; multifocal								
mild	0	0	NE	NE	0	0	0	1
moderate	0	0	NE	NE	0	0	0	2
necrosis; proximal tubule; focal								
minimal	0	0	NE	NE	0	0	0	1
Spleen								
not examined; autolysis precludes evaluation	1	0	NE	NE	1	2	0	5
depletion; lymphoid; white pulp; diffuse								
mild	0	0	NE	NE	0	0	1	0
moderate	0	0	NE	NE	0	2	0	1

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A　反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
necrosis; lymphoid; diffuse								
minimal	0	0	NE	NE	0	1	0	0
mild	0	0	NE	NE	0	2	0	0
Stomach								
not examined; autolysis, precludes evaluation	0	0	NE	NE	0	1	1	2
not examined; not present	0	0	NE	NE	0	1	0	0
erosion; focal								
minimal	0	0	NE	NE	0	0	0	2
erosion; multifocal								
moderate	0	0	NE	NE	0	0	0	1
ulceration; focal								
minimal	0	0	NE	NE	0	0	1	0
moderate	0	0	NE	NE	0	0	0	1
ulceration; multifocal								
mild	0	0	NE	NE	0	1	0	0
moderate	0	0	NE	NE	0	0	0	2
marked	0	0	NE	NE	0	0	0	1
Thymus								
not examined; autolysis,precludes evaluation	1	0	NE	NE	1	4	1	8
not examined; not present	2	1	NE	NE	2	1	2	0

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
atrophy; cortex; diffuse								
mild	0	0	NE	NE	0	0	0	1
moderate	0	0	NE	NE	0	0	1	0
hyperplasia; lymphoid; diffuse								
moderate	0	0	NE	NE	0	0	0	1
necrosis; lymphoid; cortex; diffuse								
moderate	0	0	NE	NE	0	1	0	0
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	10	10	NA	NA	NA	NA	8	6
Organ Weights								
Testes (g)	0.255	NA	NA	NA	NA	NA	0.205[e]	NA
Testes/BWt (%)	0.7614	NA	NA	NA	NA	NA	0.5948[g]	NA
Testes/BrWt (ratio)	0.5317	NA	NA	NA	NA	NA	0.4334[e]	NA
Macroscopic Observations	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology[h]								
Number Evaluated	0	10	NA	NA	NA	NA	0	6
Spleen								
necrosis; lymphoid; multifocal								
mild	NE	0	NA	NA	NA	NA	NE	1
necrosis; lymphoid; marginal zone; multifocal								
mild	NE	1	NA	NA	NA	NA	NE	0

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験：マウス 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**20 mg/kg Group 2**		**100 mg/kg Group 3**		**200 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 20	F: 20	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20
Thymus								
necrosis; lymphoid; cortex; diffuse								
mild	NE	1	NA	NA	NA	NA	NE	0
moderate	NE	0	NA	NA	NA	NA	NE	2

a. The linaclotide toxicokinetic parameters could not be determined for the male and female groups at 20 and 100 mg/kg/day and the female group at 200 mg/kg/day on Day 27 because plasma concentrations were below the quantitation limit (15 ng/mL). Toxicokinetic analysis was not performed for the active primary metabolite, MM-419447, since all plasma concentrations were below the quantitation limit (30 ng/mL).
b. These deaths occurred during Week 1 of the study (Days 1-7). Since Week 1 was a replacement period these animals were replaced on study.
c. These deaths occurred after the Week 1 replacement period and do not include deaths from Week 1.
d. Clinical observations were reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded weekly. These observations were considered to be directly related to linaclotide administration. This table does not contain general findings associated with moribundity or mortality.
e. Significantly different from control ($p < 0.05$) (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).
f. The histopathology includes 11 high dose main study animals that died within Week 1 of study plus any replacement animals. All the tissues were examined in main study control, 100 and 200 mg/kg/day male and female groups along with the tissue samples from hearts of females from the 20 mg/kg/day group.
g. Significantly different from control ($p < 0.01$) (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).
h. In female recovery animals in the control and 200 mg/kg/day groups, only the heart, stomach, spleen, thymus and Peyer's Patch were examined. Recovery males were not examined.

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.
NA Not available/ not applicable.
NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit.
NE Not evaluated.
- No noteworthy findings.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 B　反復投与毒性試験：マウス 26 週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: 26-Week Oral Toxicity Study of MD-1100 Acetate in Mice Followed by a 4-Week Recovery Period					**Study Report No. [MNP-103-027-TXR-01]**			
Species / Strain: CD-1 Mice		**Duration of Dosing: 26 weeks**						
Initial Age: Approximately 6 weeks		**Duration of Postdose: 4 weeks**			**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 08 February 2007		**Method of Administration: Oral gavage**						
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**20 mg/kg Group 3**		**100/80[a] mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 26	F: 26	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 26	F: 26
Toxicokinetics (linaclotide)								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	1.141	3.003	8.376	11.484	99.276	432.580
Day 90	NA	NA	0.670	18.682	8.202	4.954	23.289	758.517
Day 180	NA	NA	0.690	0.913	7.148	63.838	163.366	48.625

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験：マウス 26 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**20 mg/kg Group 3**		**100/80[a] mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 26	F: 26	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 26	F: 26
Toxicokinetics (linaclotide)								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	1.150	3.017	6.780	7.710	28.200	86.900
Day 90	NA	NA	0.988	24.367	2.807	3.577	16.800	648.793
Day 180	NA	NA	1.003	0.481	5.913	19.350	196.980	16.840
Toxicokinetics (MM-419447)[b]								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	NC	1.273	12.151	8.681
Day 90	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	2.234
Day 180	NA	NA	NC	NC	1.039	NC	4.586	5.050
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	BQL	1.697	13.977	14.467
Day 90	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	4.467
Day 180	NA	NA	BQL	BQL	2.077	BQL	5.067	7.480

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験：マウス 26 週

Daily Dose:	0 (Control) Group 1		5 mg/kg Group 2		20 mg/kg Group 3		100/80[a] mg/kg Group 4	
Number of Animals:	M: 26	F: 26	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 26	F: 26
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund during Week 1[c]	0	0	0	1	1	2	2	9
Died or sacrificed moribund after Week 1[d]	1	1	1	0	0	3	3	4
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[e]	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Thyroid/parathyroid gl (g)	0.0077	0.0086	0.0061[f]	0.0060[g]	0.0060[f]	0.0060[g]	0.0056[g]	0.0059[g]
Thyroid/parathyroid gl/BWt (%)	0.0221	0.0321	0.0175[f]	0.0224[g]	0.0170[f]	0.0210[g]	0.0167[g]	0.0221[g]
Thyroid/parathyroid gl/BrWt (ratio)	0.0159	0.0174	0.0125[f]	0.0118[g]	0.0126[f]	0.0119[g]	0.0115[g]	0.0119[g]
Pituitary gl (g)	0.0036	0.0044	0.0031	0.0042	0.0031	0.0039	0.0030	0.0037[f]
Pituitary gl/BWt (%)	0.0104	0.0163	0.0089	0.0154	0.0089	0.0137	0.0088	0.0134[f]
Pituitary gl/BrWt (ratio)	0.0074	0.0089	0.0064	0.0081	0.0065	0.0078	0.0061	0.0074[f]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験：マウス 26 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**20 mg/kg Group 3**		**100/80[a] mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 26	F: 26	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 26	F: 26
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated:	16	15	15	16	16	13	14	14
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	9	10	NA	NA	NA	NA	9	8
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1

a. The dose level decreased from 100 to 80 mg/kg/day beginning on Day 6 due to early mortality in study.
b. The toxicokinetic parameters could not be calculated for MM-419447 where the plasma concentrations were below the quantitation limit (5 ng/mL).
c. These deaths occurred during Week 1 of study (Days 1-7). Since Week 1 was a replacement period these animals were replaced on study.
d. These deaths occurred after the Week 1 replacement period and do not include deaths from Week 1. Deaths that occurred in the 0, 5, 20 mg/kg/day dose groups and 100/80 mg/kg/day males were a result of gavage accident. Also, one of the deaths in the 100/80 mg/kg/day female group was due to a gavage accident and one female death at 100/80 mg/k/day was due to glomerulonephrosis (not related to administration of linaclotide).
e. There were no clinical observations that were considered to be directly related to linaclotide administration. This table does not contain general findings associated with the moribundity or mortality that occurred on study.
f. Significantly different from control ($p<0.05$) (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).
g. Significantly different from control ($p<0.01$) (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.
NA Not available/ not applicable.
NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit.
- No noteworthy findings.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 C 反復投与毒性試験：ラット 2 週

Test Article: Linaclotide							
Report Title: 14-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with MD-1100 Acetate in Rats with a 14-Day Recovery Period						**Study Report No. [MNP-103-020-TXR-01]**	
Species / Strain: Sprague-Dawley Rats		**Duration of Dosing: 2 weeks**					
Initial Age: Approximately 7 weeks		**Duration of Postdose: 2 weeks**				**GLP Compliance: Yes**	
Date of First Dose: 02 June 2004		**Method of Administration: Oral gavage**					
Vehicle: phosphate-buffered saline							
Special Features: None							
No Observed Adverse Effect Level: ≥ 20 mg/kg/day							
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**1 mg/kg Group 2**		**5 mg/kg Group 3**		**20 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics (linaclotide)[a]								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 14	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Day 14	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 C 反復投与毒性試験：ラット 2 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**1 mg/kg Group 2**		**5 mg/kg Group 3**		**20 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Number Evaluated:	10	10	NA	NA	NA	NA	10	10
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0

a. The toxicokinetic parameters could not be calculated because plasma concentrations results were below the quantitation limit (3.1 ng/mL).

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.

NA Not available/ not applicable.

NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit.

- No noteworthy findings.

（次頁に続く）

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験：ラット 13 週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: 13-Week Oral Toxicity Study of MD-1100 Acetate in Rats Followed by a 2-Week Recovery Period					**Study Report No. [MNP-103-005-TXR-01]**			
Species / Strain: Sprague-Dawley Rats		**Duration of Dosing: 13 weeks**						
Initial Age: Approximately 6 weeks		**Duration of Postdose: 2 weeks**			**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 14 April 2006		**Method of Administration: Oral gavage**						
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: ≥ 100 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**10 mg/kg Group 2**		**50 mg/kg Group 3**		**100 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**
Toxicokinetics (linaclotide)[a]								
AUC_{0-4} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	11.3	11.6	36.0	174
Day 27	NA	NA	NC	NC	NC	11.4	24.3	23.7
Day 85	NA	NA	NC	NC	4.23	12.3	38.8	72.3
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	9.36	6.97	24.0	300
Day 27	NA	NA	BQL	BQL	4.51	6.48	18.8	15.9
Day 85	NA	NA	BQL	BQL	4.52	15.2	23.2	33.5

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験：ラット 13 週

Daily Dose:	0 (Control) Group 1		10 mg/kg Group 2		50 mg/kg Group 3		100 mg/kg Group 4	
Number of Animals:	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**
Toxicokinetics (MM-419447)[a]								
AUC_{0-4} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	NC	15.4	24.4	18.4
Day 27	NA	NA	NC	NC	15.6	11.8	38.3	25.1
Day 85	NA	NA	NC	NC	NC	14.4	29.2	48.2
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	8.02	9.15	19.4	18.2
Day 27	NA	NA	BQL	BQL	7.89	11.0	21.0	20.5
Day 85	NA	NA	BQL	BQL	BQL	19.7	18.3	31.0
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	1[b]	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Number Evaluated:	10	10	NA	NA	NA	NA	10	10

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験：ラット 13 週

Daily Dose:	0 (Control) Group 1		10 mg/kg Group 2		50 mg/kg Group 3		100 mg/kg Group 4	
Number of Animals:	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	6	6	NA	NA	NA	NA	6	6
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0

a. The toxicokinetic parameters for linaclotide and MM-419447 could not be calculated for the 10mg/kg/day groups because the plasma concentration results were below the quantitation limit (3.0 ng/mL for both). Due to the limited data available above the quantitation limit for linaclotide and MM-419447, the data should be approached cautiously.

b. The death of this 100 mg/kg/day male was determined to be incidental and not related to the administration of linaclotide.

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.

NA Not available/ not applicable.

NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit.

- No noteworthy findings.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 E 反復投与毒性試験：カニクイザル２週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: 14-Day Nasogastric Toxicity and Toxicokinetic Study with MD-1100 Acetate in Cynomolgus Monkeys With a 14-Day Recovery Period					**Study Report No. [MNP-103-021-TXR-01]**			
Species / Strain: Cynomolgus Monkeys		**Duration of Dosing: 2 weeks**						
Initial Age: Approximately 2-4.5 years		**Duration of Postdose: 2 weeks**			**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 29 April 2004		**Method of Administration: Oral (nasogastric intubation)**						
Vehicle: phosphate-buffered saline								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: ≥ 5 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**0.5 mg/kg Group 2**		**2.5 mg/kg Group 3**		**5 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics (linaclotide)[a]								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	26.1	16.2	30.4	37.1
Day 14	NA	NA	NC	NC	14.7	6.79	18.2	21.8
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	7.89	5.72	10.7	11.9
Day 14	NA	NA	BQL	BQL	7.78	4.68	6.91	10.7
Toxicokinetics (MM-419447)[a]								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	NC	NC	34.2	15.0	118	105
Day 14[b]	NA	NA	18.8	NC	23.0	13.7	NC	NC
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	BQL	BQL	8.39	5.74	33.2	14.0
Day 14[b]	NA	NA	4.35	BQL	7.15	4.82	NC	NC

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 E 反復投与毒性試験：カニクイザル 2 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**0.5 mg/kg Group 2**		**2.5 mg/kg Group 3**		**5 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
Liquid and/or non-formed feces	5/3	1/1	38/5	36/4	34/5	21/4	38/5	17/4
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated:	3	3	3	3	3	3	3	3

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 E 反復投与毒性試験：カニクイザル 2 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**0.5 mg/kg Group 2**		**2.5 mg/kg Group 3**		**5 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[c]								
Liquid and/or non-formed feces	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1	0/0	0/0	0/0

a. The linaclotide and MM-419447 toxicokinetic parameters could not be calculated because the plasma concentration results were below the quantitation limit (3.0 ng/mL for both). These units were converted from nM·h and nM in the report to ng·h/mL and ng/mL as shown here to be consistent with the rest of the tabulated summaries.

b. The Group 4 males and females (5.0 mg/kg) did not have sufficient sample volume for MM-419447 analysis on Day 14.

c. Clinical observations are reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded daily.

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.

NA Not available/ not applicable.

NC Not calculated due to plasma concentrations being below the limit of quantitation.

- No noteworthy findings.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 F　反復投与毒性試験：カニクイザル 13 週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: A 13-Week Toxicity Study of MD-1100 Acetate Administered by Oral (Nasogastric) Intubation to Cynomolgus Monkeys, with a 2-Week Recovery Period						**Study Report No. [MNP-103-006-TXR-02]**		
Species / Strain: Cynomolgus Monkeys		**Duration of Dosing: 13 weeks**						
Initial Age: Approximately 2.7-5.1 years		**Duration of Postdose: 2 weeks**				**GLP Compliance: Yes**		
Date of First Dose: 11 April 2006		**Method of Administration: Oral (nasogastric intubation)**						
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: ≥ 50 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	**M: 7**	**F: 7**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 7**	**F: 7**
Toxicokinetics (linaclotide)								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	24.9	25.1	34.9	18.6	168	284
Week 4	NA	NA	25.7	13.5	62.0	24.1	214	260
Week 13	NA	NA	16.1	26.1	48.1	89.7	173	191
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	8.78	12.8	11.7	9.81	41.9	88.5
Week 4	NA	NA	10.5	5.23	17.8	8.56	56.6	107
Week 13	NA	NA	7.14	12.5	22.2	26.9	54.1	71.1

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 F　反復投与毒性試験：カニクイザル 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	**M: 7**	**F: 7**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 7**	**F: 7**
Toxicokinetics (MM-419447)								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	33.5	95.3	99.3	60.2	464	357
Week 4	NA	NA	67.1	76.5	595	133	513	433
Week 13	NA	NA	87.7	138	227	306	677	601
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	7.15	25.9	17.5	17.1	111	81.6
Week 4	NA	NA	15.6	22.5	51.7	23.2	115	112
Week 13	NA	NA	16.2	32.8	52.3	57.1	146	126
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	1[a]	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Liquid feces	34/6	15/5	118/4	50/4	158/4	241/4	335/6	319/6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 F　反復投与毒性試験：カニクイザル 13 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	**M: 7**	**F: 7**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 7**	**F: 7**
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated:	4	4	4	4	4	4	4	4
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	3	3	NA	NA	NA	NA	3	3
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Clinical Observations[b]								
Liquid and/or non-formed feces	2/1	1/1	NA	NA	NA	NA	2/1	0/0

a. One mid-dose male (10 mg/kg/day-animal identification # 3004) was sacrificed in moribund condition on Day 32. Prior to sacrifice there were clinical findings of hunched appearance, reduced body weight and reduced food consumption. Necropsy and histopathologic findings (lymphoid lesions and bacterial and fungal colonization of esophagus) suggest immunologic compromise, believed to be of spontaneous origin and not related to linaclotide administration. However, TK data obtained on Day 28 indicate this animal had greater exposure to the metabolite, MM-419447 than other 10 mg/kg/day and 50 mg/kg/day group males so relationship to linaclotide cannot completely be ruled out.

b. Clinical observations are reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded daily.

NA Not available/ not applicable.

- No noteworthy findings.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Test Article: Linaclotide								
Report Title: A 39-Week Toxicity Study of MD-1100 Acetate Administered by Oral (Nasogastric) Intubation to Cynomolgus Monkeys, with a 4-Week Recovery Period					**Study Report No. [MNP-103-028-TXR-01]**			
Species / Strain: Cynomolgus Monkeys	**Duration of Dosing: 39 weeks**							
Initial Age: Approximately 2.4-4.9 years	**Duration of Postdose: 4 weeks**				**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 15 February 2007	**Method of Administration: Oral (nasogastric intubation)**							
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 5 mg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics (linaclotide)								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	29.1	32.0	72.8	67.9	294	236
Day 89	NA	NA	16.7	44.0	71.4	61.6	239	342
Day 222	NA	NA	49.8	39.0	81.4	94.8	292	656
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	3.80	4.27	8.71	11.5	46.0	48.9
Day 89	NA	NA	5.88	7.08	20.2	18.2	70.2	80.3
Day 222	NA	NA	8.00	6.00	10.4	21.7	47.9	109

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics (MM-419447)								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	8.12	14.5	49.0	39.6	266	171
Day 89	NA	NA	75.7	72.6	255	133	666	1140
Day 222	NA	NA	10.7	20.0	146	208	599	1020
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	2.10	1.06	5.62	10.5	38.7	38.8
Day 89	NA	NA	16.2	10.6	26.1	19.6	134	171
Day 222	NA	NA	3.58	2.60	16.2	28.9	82.0	113
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	1[a]	0	0	1[a]
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Liquid feces	7/3	3/3	259/4	167/4	345/4	110/4	428/6	436/6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Histopathology:								
Number Evaluated:	4	4	4	4	4	4	4	4
Cecum								
degeneration/necrosis; glands; surface epithelium; diffuse								
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
degeneration/necrosis; glands; surface epithelium; multifocal								
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
congestion; mucosa; multifocal								
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
inflammation; neutrophilic; mucosa; multifocal								
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
hemorrhage; mucosa; multifocal								
minimal	0	0	0	0	1	1[c]	0	1
hemorrhage; mucosa; submucosa; multifocal								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Colon								
degeneration/necrosis; glands; surface epithelium;multifocal								
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
hemorrhage; mucosa; focal								
moderate	0	0	0	2[c]	0	0	0	1
hemorrhage; mucosa; multifocal								
minimal	0	0	0	0	1	1[c]	0	0
inflammation; neutrophilic; mucosa; multifocal								
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
inflammation; ulcerative; focal								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node, mandibular								
depletion; lymphoid; diffuse								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Pancreas								
depletion; zymogen; diffuse								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Number of Animals:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Rectum								
degeneration/necrosis; glands; surface epithelium; diffuse								
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
degeneration/necrosis; glands; surface epithelium; multifocal								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0
inflammation; neutrophilic; multifocal								
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Salivary gland, mandibular								
Abnormal excretory product; diffuse								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen								
depletion; lymphoid; diffuse								
mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Thymus								
atrophy; cortex; diffuse								
severe	0	0	0	0	1	0	0	0

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験：カニクイザル 39 週

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**5 mg/kg Group 2**		**10 mg/kg Group 3**		**50 mg/kg Group 4**	
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Clinical Observations[b]								
Non-formed feces	0/0	2/2	NA	NA	NA	NA	0/0	17/2

a. Animals 3001 (10 mg/kg/day male) and 4506 (50 mg/kg/day female) were sacrificed in moribund condition on Days 76 and 106, respectively. Prior to sacrifice these animals showed linaclotide-related clinical findings of severe watery feces and dehydration, hunched appearance, reduced body weight, reduced food consumption and decreased activity. Microscopic findings (degeneration/necrosis) considered to be linaclotide-related were observed in the mucosal glands and surface epithelium of the colon, cecum, and rectum of these animals.

b. Clinical observations are reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded daily. This table does not contain general findings associated with the linaclotide-related moribundity in animals 3001 and 4506 since it was only one animal/dose group in those two cases.

c. This finding not related to linaclotide administration. Animal survived until scheduled necropsy.

NA Not available/ not applicable.

- No noteworthy findings.

2.6.7.8 *in vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8 A 遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

Test Article: Linaclotide							
Report Title: Effect of MD-1100 Acetate on the Salmonella-Escherichia coli/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay					**Study Report No. [MNP-103-022-GTR-01]**		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial genes		**No. of Independent Assays: 2**					
Strains: S. typhimurium and E. coli		**No. of Replicate Cultures: 3**			**GLP Compliance: Yes**		
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9							
Vehicles for Test Article: phosphate-buffered saline (PBS)							
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours					**Date of Treatment: May 2004**		
Cytotoxic Effects: None							
Genotoxic Effects: None							
			Experiment B1 (Initial Assay) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
Without Activation	PBS	1000 µL/plate	22 ± 2	100 ± 6	11 ± 2	4 ± 2	18 ± 4
	Linaclotide	33.3	22 ± 2	107 ± 14	9 ± 2	6 ± 2	13 ± 2
		100	13 ± 2	94 ± 3	11 ± 3	7 ± 1	21 ± 6
		333	19 ± 10	99 ± 6	10 ± 1	7 ± 3	14 ± 5
		1000	20 ± 5	105 ± 9	15 ± 5	7 ± 1	13 ± 3
		3330	22 ± 2	90 ± 5	16 ± 1[a]	2 ± 1	13 ± 3[a]
		5000	19 ± 2	92 ± 12	13 ± 5	5 ± 2	12 ± 8
	2-nitrofluorene	1.0	256 ± 36				

a: Results are from two replicates due to contamination on a plate.

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.8 A 遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

			Experiment B1 (Initial Assay) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
Without Activation	Sodium azide	2.0		1277 ± 120			
	Sodium azide	2.0			853 ± 92		
	ICR-191	2.0				790 ± 105	
	4-nitroquinoline-N-oxide	1.0					181 ± 25
With Activation	PBS	1000 μL/plate	35 ± 3	121 ± 5	13 ± 2	7 ± 2	13 ± 3
	Linaclotide	33.3	36 ± 7	118 ± 14	10 ± 2	5 ± 3	13 ± 1
		100	45 ± 3	114 ± 8	10 ± 4	5 ± 2	14 ± 5
		333	36 ± 7	118 ± 6	7 ± 2	6 ± 4	13 ± 3
		1000	35 ± 4	119 ± 7	13 ± 1	4 ± 1	18 ± 6
		3330	33 ± 1	122 ± 6	16 ± 4	6 ± 3	14 ± 3
		5000	33 ± 5	108 ± 5	20 ± 4	4 ± 1	15 ± 4
	Benzo[a]pyrene	2.5	339 ± 34				
	2-aminoanthracene	2.5		1296 ± 82			
	2-aminoanthracene	2.5			199 ± 2		
	2-aminoanthracene	2.5				134 ± 24	
	2-aminoanthracene	25.0					710 ± 37

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.8 A 遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

			Experiment C1 (Confirmatory Assay) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
Without Activation	PBS	1000 µL/plate	11 ± 3	97 ± 12	16 ± 2	8 ± 5	18 ± 4
	Linaclotide	33.3	16 ± 4	97 ± 17	26 ± 7	7 ± 1	15 ± 8
		100	22 ± 2[a]	89 ± 12	17 ± 1	7 ± 1	19 ± 3
		333	12 ± 3	84 ± 10	14 ± 4	10 ± 1	16 ± 2
		1000	20 ± 3	82 ± 15	24 ± 2	8 ± 2	16 ± 4
		3330	18 ± 2	72 ± 7	23 ± 6	11 ± 2	20 ± 7
		5000	15 ± 5	91 ± 9	23 ± 3	11 ± 1	14 ± 3
	2-nitrofluorene	1.0	335 ± 8				
	Sodium azide	2.0		1183 ± 134			
	Sodium azide	2.0			833 ± 13		
	ICR-191	2.0				1184 ± 83	
	4-nitroquinoline-N-oxide	1.0					393 ± 32

a: Results are from two replicates due to contamination on a plate.

（続き）

2.6.7.8 A 遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

			Experiment C1 (Confirmatory Assay) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
With Activation	PBS	1000 µL/plate	36 ± 8	98 ± 11	9 ± 1	6 ± 3	21 ± 7
	Linaclotide	33.3	36 ± 6	109 ± 19	9 ± 4	5 ± 4	18 ± 7
		100	28 ± 3	112 ± 7	11 ± 3	10 ± 2	22 ± 5
		333	24 ± 4	113 ± 2	14 ± 2	7 ± 1	20 ± 5
		1000	26 ± 6	105 ± 16	13 ± 1[a]	8 ± 3	23 ± 5
		3330	25 ± 7	107 ± 6	11 ± 2[a]	5 ± 1	18 ± 5
		5000	28 ± 12	98 ± 12	11 ± 5	4 ± 2	17 ± 2
	Benzo[a]pyrene	2.5	381 ± 93				
	2-aminoanthracene	2.5		1030 ± 94			
	2-aminoanthracene	2.5			133 ± 1		
	2-aminoanthracene	2.5				162 ± 11	
	2-aminoanthracene	25.0					245 ± 16

a: Results are from two replicates due to contamination on a plate.

2.6.7.8 *in vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8 B 遺伝毒性試験：染色体異常試験

Test Article: Linaclotide		
Report Title: Effect of MD-1100 Acetate on Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes		**Study Report No. [MNP-103-023-GTR-01]**
Test for Induction of: Chromosomal aberrations	**No. of Independent Assays: 2**	
Strains: Peripheral human lymphocytes	**No. of Replicate Cultures: 2**	**GLP Compliance: Yes**
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture: 100**	
Vehicles for Test Article: phosphate-buffered saline (PBS)		
Treatment: Continuous treatment for 19 hours without S9; pulse treatment 3 hours and recovery time 19 hours with and without S9		**Date of Treatment: May 2004**
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

		Experiment B1 (Initial Assay)					
				Cells Scored		**Cells with Aberrations**	
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/mL)	Mean Mitotic Index	Numerical	Structural	Numerical (%)	Structural (%)
Without Activation- 3 hr treatment	PBS	-	7.7	200	200	0.0	0.0
	Linaclotide	343	-	200	200	0.0	0.0
		490	7.2	200	200	0.0	0.0
		700	7.8	200	200	0.0	0.0
		1000	6.5	200	200	0.0	1.0
	Mitomycin C	1.00	-	200	100	0.0	57.0[a]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.8 B 遺伝毒性試験：染色体異常試験

		Experiment B1 (Initial Assay)					
				Cells Scored		Cells with Aberrations	
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/mL)	Mean Mitotic Index	Numerical	Structural	Numerical (%)	Structural (%)
With Activation- 3 hr treatment	PBS		6.4	200	200	0.0	0.0
	Linaclotide	343	-	200	200	0.0	0.0
		490	-	200	200	0.0	0.0
		700	6.8	200	200	0.0	0.5
		1000	6.3	200	200	0.0	0.0
	Cyclophosphamide	25.0	-	200	100	0.0	33.0[a]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.8 B 遺伝毒性試験：染色体異常試験

		Experiment C1 (Confirmatory Assay)					
				Cells Scored		Cells with Aberrations	
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Mean Mitotic Index	Numerical	Structural	Numerical (%)	Structural (%)
Without activation- 19 hr treatment	PBS		6.4	200	200	0.0	1.5
	Linaclotide	500	-	200	200	0.0	0.0
		650	6.5	200	200	0.0	0.5
		800	6.0	200	200	0.0	0.0
		1000	6.5	200	200	0.0	0.0
	Mitomycin C	0.300	-	200	150	0.0	26.7[a]
With Activation- 3 hr treatment	PBS		6.5	200	200	0.0	0.5
	Linaclotide	500	-	200	200	0.0	0.5
		650[b]	7.1	200	200	0.0	0.0
		800	6.7	200	200	0.0	0.5
		1000	8.3	200	200	0.0	0.0
	Cyclophosphamide	25.0[b]	-	100	125	0.0	10.4[a]

a. Significantly different from vehicle control ($p<0.01$) (Fisher's Exact Test).
b. Results are from one replicate only.

2.6.7.9　*in vivo* 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10 A がん原性試験：マウス 104 週

Test Article: Linaclotide							
Report Title: 104-Week Oral Carcinogenicity Study of Linaclotide Acetate in Mice					**Study No. [MNP-103-030-CAR-01]**		
Species / Strain: CD-1 Mice		**Duration of Dosing: up to 105 Weeks**					
Initial Age: 7 weeks		**Method of Administration: Oral gavage**			**GLP Compliance: Yes**		
Date of First Dose: 31 May 2007		**Vehicle: 0.5% methylcellulose in de-ionized water**					
		Treatment of Controls: 0.5% methylcellulose in de-ionized water					
Basis for High Dose Selection: The dose levels were selected on the basis of available data from previous studies including MNP-103-007-TXR-01 and MNP-103-027-TXR-01. The high dose adjusted for body surface area was calculated to provide approximately one hundred fold the highest Phase 3 clinical dose of 500 µg.							
Special Features: None							
No-Observed-Adverse-Effect-Level: ≥ 6 mg/kg/day							
Daily Dose:	**0 (Control)[a]**		**0.6 mg/kg**		**2 mg/kg**		**6 mg/kg**	
No. of Animals at Start:	M: 140	F: 140	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70
Died/Sacrificed Moribund	73[b]	89	30	42	39	37	37	48
Terminal Sacrifice	67	51	40	28	31	33	33	22
Cumulative Survival at Week 105[c] (%)	49.79	36.43	60.00	42.86	44.29	48.57	48.57	32.86
Body Weight at Week 101 [g] (%)[d]	41.49	37.32	42.08 (1.4)	37.36 (0.1)	41.87 (0.9)	37.29 (0.1)	40.96 (-1.3)	36.58 (-2.0)
Food Consumption at Week 101 [g/animal/day]	5.03	5.01	5.06	4.92	5.22	4.84	5.14	5.35
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Mass Findings	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.10 A がん原性試験：マウス 104 週

Daily Dose:	**0 (Control)[a]**		**0.6 mg/kg**		**2 mg/kg**		**6 mg/kg**	
No. of Animals at Start:	M: 140	F: 140	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Animals With Neoplastic Lesions:								
Lungs: Bronchiolar Alveolar Adenoma, Benign[e,f]	32	12	13	10	9	11	6	15[g]
Noteworthy Findings:								
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated	139	140	70	70	70	70	70	70
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated	139	140	70	70	70	70	70	70
Non-Neoplastic Lesions:	-	-	-	-	-	-	-	-

a. Control groups 1 and 2 are combined in this table.
b. This number includes 1 animal that was reported missing from cage from Week 79-91 and presumed dead.
c. The survival percentage is based on the number of animals that were still alive at the start of Week 105 and does not account for the deaths that occurred during Week 105 prior to necropsy.
d. At end of dosing period. For controls, the group means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
e. This finding was not interpreted to represent a carcinogenic response related to the administration of linaclotide.
f. Statistically significant positive trends in the occurrence of female lung adenomas ($p < 0.005$, Cochran-Armitage trend test, Peto trend test).
g. Statistically significant from pooled control groups ($p < 0.01$) (Fisher's Exact Test).

- No noteworthy findings.

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10 B がん原性試験：ラット 104 週

Test Article: Linaclotide							
Report Title: 104-Week Oral Carcinogenicity Study of Linaclotide Acetate in Rats				**Study No. [MNP-103-029-CAR-01]**			
Species / Strain: Sprague Dawley Rats		**Duration of Dosing: up to 105 Weeks**					
Initial Age: 8 weeks		**Method of Administration: Oral gavage**		**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 31 May 2007		**Vehicle: 0.5% methylcellulose in de-ionized water**					
		Treatment of Controls: 0.5% methylcellulose in de-ionized water					
Basis for High Dose Selection: The dose levels were selected on the basis of available data from previous studies including MNP-103-005-TXR-01. The high dose adjusted for body surface area was calculated to provide approximately one hundred fold the highest Phase 3 clinical dose of 500 µg.							
Special Features: None							
No-Observed-Adverse-Effect-Level: ≥ 3.5 mg/kg/day							
Daily Dose:	**0 (Control)[a]**		**0.3 mg/kg**		**1 mg/kg**		**3.5 mg/kg**	
No. of Animals at Start:	M: 140	F: 140	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70
Died/Sacrificed Moribund	88	88	43	52	41	45	37	51
Terminal Sacrifice	52	52	27	18	29	25	33	19
Cumulative Survival at Week 105[b] (%)	38.57	37.86	38.57	25.71	42.86	35.71	48.57	28.57
Body Weight at Week 101 [g] (%)[c]	784.7	517.6	790.2 (0.7)	491.2 (-5.1)	828.6 (5.6)	516.5 (-0.2)	808.3 (3.0)	468.1 (-9.6)
Food Consumption at Week 101 [g/animal/day]	25.21	20.65	24.10	20.02	26.09	21.78	25.59	19.11
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Mass Findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.10 A がん原性試験：ラット 104 週

Daily Dose:	**0 (Control)[a]**		**0.3 mg/kg**		**1 mg/kg**		**3.5 mg/kg**	
No. of Animals at Start:	M: 140	F: 140	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70	M: 70	F: 70
Animals With Neoplastic Lesions[d]:								
Ovary: Thecoma	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2[e]
Parathyroid: Adenoma	4	3	2	4[f]	2	0	1	1
Pituitary: Adenoma, pars distalis	74	96	39	48	40	56	50[g]	52
Testes: Interstitial cell, adenoma	0	NA	1	NA	0	NA	4[h]	NA
Noteworthy Findings:								
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated	140	140	70	70	70	70	70	70
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated	140	140	70	70	70	70	70	70
Non-Neoplastic Lesions:	-	-	-	-	-	-	-	-

a. Only data from pooled control groups 1 and 2 are shown in this table. For female tumor statistical analysis, the control groups were compared individually to the treated groups due to a statistical significance difference between the two control groups for the benign pars distalis pituitary adenoma by the Peto test ($p < 0.005$).

b. The survival percentage is based on the number of animals that were still alive at the start of Week 105 and does not account for the deaths that occurred during Week 105 prior to necropsy.

c. At end of dosing period. For controls, the group means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d. These findings were not interpreted to represent a carcinogenic response related to the administration of linaclotide.

e. Statistically significant from control group 2 ($p < 0.025$) (Peto Test).

f. Statistically significant from control group 2 ($p < 0.05$) (Fisher's Exact Test).

g. Statistically significant from pooled control groups ($p< 0.01$) (Fisher's Exact Test).

h. Statistically significant from pooled control groups ($p< 0.005$) (Cochran Armitage Trend Test).

NA Not applicable/ not available

\- No noteworthy findings.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle / Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg)**	**No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Pregnant CD-1 mice	Oral gavage (0.5% methylcellulose)	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 6 through 15	5, 20, 80	8/group	No evidence of maternal toxic effects and no indication of effects on embryo-fetal viability or growth and development. NOAEL ≥ 80 mg/kg/day	[MNP-103-032-RTR-01]
Pregnant Sprague-Dawley rats	Oral gavage (50 mM phosphate buffer)	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 6 through 17	1, 5, 10, 20	6/group	No evidence of maternal toxic effects and no indication of effects on embryo-fetal viability or growth and development. NOAEL ≥20 mg/kg/day	[MNP-103-052-RTR-01]
Pregnant New Zealand White rabbits	Oral gavage (50 mM phosphate buffer)	Dose range-finding Single daily dose on gestation days 7 through 20	0.1, 1, 5, 20	6/group	No evidence of maternal toxic effects and no indication of effects on embryo/fetal viability or growth and development. Stool changes (non-formed or liquid feces) at ≥ 1 mg/kg/day. NOAEL ≥ 20 mg/kg/day.	[MNP-103-053-RTR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Report Number
New Zealand White rabbits	Oral gavage (0.5% methylcellulose)	Dose range-finding 13 days	5, 40	5/group	No evidence of toxicity. Stool changes (non-formed or liquid feces) and decrease in food intake at all dose levels. NOAEL ≥ 40 mg/kg/day.	[MDP-103-029-RTR-01]

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

2.6.7.12 A 生殖発生毒性試験：ラット受胎能

<table>
<tr><td colspan="4">Test Article: Linaclotide</td></tr>
<tr><td colspan="3">Report Title: An Oral Gavage Fertility Study of Linaclotide Acetate in the Rat</td><td>Study Report No. [MNP-103-026-RTR-01]</td></tr>
<tr><td>Species / Strain: Sprague-Dawley Rats</td><td rowspan="2">Duration of Dosing:</td><td colspan="2">M: 29 days prior to mating, during mating and until necropsy</td></tr>
<tr><td>Initial Age: Males= 12 weeks, Females= 9 weeks</td><td colspan="2">F: 14 days prior to mating, during mating and until Day 7 of gestation</td></tr>
<tr><td>Date of First Dose: 19 March 2007</td><td colspan="2">Day of Mating: Gestation Day 0</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Special Features: None</td><td colspan="2">Day of C-Section: Gestation Day 13</td><td></td></tr>
<tr><td>Basis for High Dose Selection: Data from rat 13-week general toxicology study MNP-103-005.</td><td colspan="2">Method of Administration: Oral gavage</td><td>Design Similar to ICH 4.1.1: Yes</td></tr>
<tr><td>No Observed Adverse Effect Level</td><td colspan="2">Vehicle: 0.5 % methylcellulose in deionized water</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">F_0 Males: 100 mg/kg/day</td></tr>
<tr><td colspan="4">F_0 Females: 100 mg/kg/day</td></tr>
<tr><td colspan="4">F_1 Litters: 100 mg/kg/day</td></tr>
</table>

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.12 A 生殖発生毒性試験：ラット受胎能

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
Males	No. evaluated	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight [g] (%)[b]	516.9	516.6 (-0.1)	511.7 (-1.0)	502.5 (-2.8)
	Food Consumption [g] Days 0-63	1307.5	1295.7	1317.0	1259.3
	Mean No. Days Prior to Mating	2.6	4.1	3.3	4.4
	Sperm Evaluations	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	22	22	22	22
	No. of Fertile Males	22	22	22	22
Females	No. Evaluated	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight [g] (%)[c]	246.4	242.8 (-1.5)	245.1 (-0.5)	245.1 (-0.5)
	Gestation Body Weight [g] (%)[c]	322.0	321.6 (-0.1)	323.8 (0.6)	323.0 (0.3)
	Premating Food Consumption [g] Days 0-13	272.2	265.5	271.0	265.8
	Gestation Food Consumption [g] Days 0-13	351.0	343.4	354.0	351.8
	Mean No. Estrous Cycles/14 days	3.3	3.7	3.5	3.6

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.12 A 生殖発生毒性試験：ラット受胎能

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
Females (cont'd)	Mean No. Days Prior to Mating	2.6	4.1	3.3	4.4
	No. of Females Sperm-Positive	22	22	22	22
	No. of Pregnant Females	22	20	22	20
	Sum of Early Resorptions and Dead Embryos	1.0	0.7	1.0	0.8
	Mean No. Corpora Lutea	19.7	17.6	18.3	18.8
	Mean No. Implantations	17.6	16.5	16.5	17.4
	Mean % Preimplantation Loss	10.02	6.07	11.66	6.42
	Mean No. Live Embryos	16.6	15.8	15.4	16.6
	Mean No. Early Resorptions	0.7	0.7	0.9	0.8
	No. Dead Embryos	0.3	0.0	0.1	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	5.58	4.46	10.36	4.50

a. Although this study did not have noteworthy findings related to linaclotide administration, all values are reported.

b. These were measured after 4 weeks of dosing. For the control group, the means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

c. These were measured at the end of premating or the gestation period. For control group, means are shown. For linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

\- No noteworthy findings. These were qualitative measurements so values cannot be reported.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：マウス胚・胎児発生

Test Article: Linaclotide		
Report Title: A Study of the Effects of Linaclotide Acetate on Embryo-Fetal Development in Mice		**Study Report No. [MNP-103-033-RTR-01]**
Species / Strain: CD-1 Mice	**Duration of Dosing: Single daily dose on gestation days 6 through 15**	
Initial Age: approximately 14 weeks	**Day of Mating: Day 0**	
Date of First Dose: 16 January 2008	**Day of C-Section: Gestation Day 18**	**GLP Compliance: Yes**
Special Features: None	**Method of Administration: Oral gavage**	
Basis for High Dose Selection: Data from mouse range-finding study MNP-103-032	**Vehicle: 0.5 % methylcellulose in deionized water**	**Design Similar to ICH 4.1.3: Yes**
No Observed Adverse Effect Level		
F_0 Females: 5 mg/kg/day		
F_1 Litters: 5 mg/kg/day		

Daily Dose:		**0 (Control 1) Group 1**	**0 (Control 2) Group 2**	**5 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**	**100/40 mg/kg[b] Group 5**
Dams/ Does:	No. evaluated	25	25	25	32[c]	25
	Toxicokinetics (linaclotide)					
	AUC_{0-24} (ng·h/mL)					
	Gestation Day 6	NA	NA	2.25	18.6	25.2
	Gestation Day 15	NA	NA	4.64	18.4	21.7
	C_{max} (ng/mL)					
	Gestation Day 6	NA	NA	1.49	8.12	10.7
	Gestation Day 15	NA	NA	1.95	8.13	11.8

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：マウス胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control 1) Group 1**	**0 (Control 2) Group 2**	**5 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**	**100/40 mg/kg[b] Group 5**
Dams/ Does:	No. evaluated	25	25	25	32[c]	25
	Toxicokinetics (MM-419447)[d]					
	AUC_{0-24} (ng·h/mL)					
	Gestation Day 6	NA	NA	NC	NC	12.3
	Gestation Day 15	NA	NA	NC	5.40	11.6
	C_{max} (ng/mL)					
	Gestation Day 6	NA	NA	BQL	BQL	5.42
	Gestation Day 15	NA	NA	BQL	2.85	7.70
	No. Pregnant	22	23	23	30	23
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	**5**	**6**
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	1	1	0
	Maternal Clinical Observations[e]					
	Hunched posture	0/0	0/0	0/0	0/0	**4/3**
	Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	**5/4**	**7/5**
	Body flattened	0/0	0/0	0/0	**5/5**	**6/6**
	Tremors	0/0	0/0	0/0	**4/4**	**6/5**
	Body cool	0/0	0/0	0/0	**5/5**	**6/6**
	Eyes half-closed	0/0	0/0	0/0	**6/6**	**10/7**

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：マウス胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control 1) Group 1**	**0 (Control 2) Group 2**	**5 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**	**100/40 mg/kg[b] Group 5**
Dams/ Does:	No. evaluated	25	25	25	32[c]	25
	Necropsy Observations	-	-	-	-	-
	Body Weight [g] (%) GD 16[f]	48.4	48.3 (-0.2)	48.1 (-0.6)	**46.3 (-4.3)**	**45.8 (-5.4)**
	Body Weight Gain [g] GD 6-16	17.8	17.8	17.1	**15.6**	**15.7**
	Food Consumption [g/animal/day] GD 6-16	6.8	7.8	7.6	6.8[g]	7.5
	Mean Gravid Uterine Weight (g)	20.8	20.7	20.3	**17.8**	**17.9**
	Mean No. Corpora Lutea	14.1	13.8	14.6	14.2	13.8
	Mean No. Implantations	13.1	12.9	13.3	12.8	12.8
	Mean % Preimplantation Loss (Per Litter)	7.1	6.6	8.4	9.3	7.6
Litters:	No. Litters Evaluated	22	22	23	26	17
	No. Viable Fetuses	12.1	12.2	12.4	11.7	11.2
	Mean No. Resorptions	0.9	0.6	0.9	1.1	1.6
	Mean No. Dead Fetuses	3	1	0	1	0
	Mean % Postimplantation Loss (Per Litter)	7.3	4.9	8.8	11.3	11.8
	Mean % Viable Fetuses (Per Litter)	92.7	95.1	91.2	88.7	88.2
	Mean Fetal Body Weight [g] (%)[f]	1.35	1.34 (-0.7)	1.29 (-4.4)	**1.24 (-8.1)[h]**	**1.23 (-8.9)** [i]
	Fetal Sex Ratios (% Males Per Litter)	52.2	52.3	53.2	47.1	53.7

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：マウス胚・胎児発生

Daily Dose:		0 (Control 1) Group 1	0 (Control 2) Group 2	5 mg/kg Group 3	40 mg/kg Group 4	100/40 mg/kg[b] Group 5
	Fetal Anomalies:					
	Gross External Anomalies					
	Cleft palate (% Per Litter)	0.3	0.0	1.4	2.6	0.0
	Open Eyelid (% Per Litter)	0.0	0.0	0.0	**1.4**	0.0
	Visceral Anomalies	-	-	-	-	-
	Skeletal Anomalies					
	Vertebral anomaly with associated rib anomaly (% Per Litter)	0.4	0.0	0.0	**2.9**	**9.3**
	Total Malformed Fetuses (Litters)	2 (2)	4 (4)	5 (3)	24 (8)	14 (5)

a. The results captured in this table include all values. Noteworthy findings related to the administration of linaclotide (in bold type) at 40 and 100/40 mg/kg/day were early mortality and clinical signs associated with moribundity, body weight and body weight gain losses and low gravid uterine weights in the F_0 generation. Findings in the F_1 generation related to the administration of linaclotide at maternally toxic doses of 40 and 100/40 mg/kg/day were low fetal weights, increased mean litter proportions of open eyelid and vertebral anomaly with or without associated rib anomaly. These findings were primarily noted in litters with lower mean fetal body weight. The mean litter proportion of open eyelid and vertebral anomaly with or without associated rib anomaly exceeded the maximum mean value of the historical controls of the contract research organization; however the differences form the control groups were not statistically significant.

b. The dose level was reduced from 100 to 40 mg/kg/day on GD 6, 7, 8, 9, 10 or 11 (depending on conception day) due to clinical signs, moribundity and early mortality in study.

c. Seven additional mice (from the stock colony) were added to the 40 mg/kg/day group during the study due to concerns regarding animal mortality.

d. The MM-419447 toxicokinetic parameters could not be calculated because plasma concentrations were below the quantitation limit (5 ng/mL).

e. The clinical observations are reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded daily.

f. For the control group, means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

g. Statistically significant from control group 2 ($p < 0.01$) (Dunnett's Test).

h. Statistically significant from control group 1 ($p < 0.01$) (Dunnett's Test); statistically significant from control group 2 ($p < 0.05$) (Dunnett's Test).

i. Statistically significant from both control groups at ($p < 0.05$) (Dunnett's Test).

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：マウス胚・胎児発生

GD	Gestation Day.
BQL	Plasma concentrations were below the quantitation limit.
NA	Not available/applicable.
NC	Not calculated due to plasma concentrations being below the limit of quantitation.
-	No noteworthy - findings. These were qualitative measurements so values cannot be reported.

2.6.7.13　　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験：ラット胚・胎児発生

Test Article: Linaclotide		
Report Title: MD-1100 Acetate: An Oral (Gavage) Embryo-Fetal Development Study in the Rat		**Study Report No. [MNP-103-014-RTR-01]**
Species / Strain: Sprague-Dawley Rats	**Duration of Dosing: Single daily dose on gestation days 6 through 17**	
Initial Age: 11-12 weeks	**Day of Mating: Gestation Day 0**	
Date of First Dose: 26 June 2006	**Day of C-Section: Gestation Day 21**	**GLP Compliance: Yes**
Special Features: None	**Method of Administration: Oral gavage**	
Basis for High Dose Selection: Data from rat 13-week general toxicology study MNP-103-005	**Vehicle: 0.5 % methylcellulose in deionized water**	**Design Similar to ICH 4.1.3: Yes**
No Observed Adverse Effect Level		
F_0 Females: 100 mg/kg/day		
F_1 Litters: 100 mg/kg/day		

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
Dams/Does:	No. evaluated	22	22	22	22
	Toxicokinetics (linaclotide)[b]				
	$AUC_{0.5\text{-}2}$ (ng·h/mL)				
	Gestation Day 6	NA	NC	17.3	30.5
	Gestation Day 17	NA	NC	19.2	39.8
	C_{max} (ng/mL)				
	Gestation Day 6	NA	2.53	33.2	26.9
	Gestation Day 17	NA	BQL	21.4	38.7

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験：ラット胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
	Toxicokinetics (MM-419447)[b]				
	$AUC_{0.5\text{-}2}$ (ng·h/mL)				
	Gestation Day 6	NA	NC	10.1	23.7
	Gestation Day 17	NA	NC	17.3	28.1
	C_{max} (ng/mL)				
	Gestation Day 6	NA	BQL	11.2	22.0
	Gestation Day 17	NA	BQL	15.0	33.5
	No. Pregnant	21	21	21	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight [g] (%) GD 21[c]	405.8	411.8 (1.5)	404.6 (-0.3)	407.2 (0.3)
	Body Weight Gain [g] GD 6-21	139.7	144.4	134.8	138.2
	Food Consumption [g] GD 6-21	410.8	430.7	426.6	430.3
	Mean Gravid Uterine Weight [g]	99.7	99.0	97.5	100.0
	Mean No. Corpora Lutea	16.2	16.0	16.6	15.7
	Mean No. Implantations	13.9	14.1	14.0	14.0
	Mean % Preimplantation Loss	13.39	10.80	14.13	10.63

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験：ラット胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
Litters:	No. Litters Evaluated	21	21	21	22
	No. Live Fetuses	13.3	13.2	13.0	13.5
	Mean No. Resorptions	0.6	0.9	1.0	0.5
	Mean % Postimplantation Loss	4.19	6.90	7.46	3.49
	Mean Fetal Body Weight [g] (%)[c]	5.621	5.569 (-0.9)	5.662 (0.7)	5.548 (-1.3)
	Fetal Sex Ratios (% Males Per Litter)	49.29	51.12	46.31	45.01
	Fetal Anomalies:				
	Gross External Anomalies	-	-	-	-
	Visceral Anomalies	-	-	-	-
	Skeletal Anomalies	-	-	-	-
	Total Affected Fetuses (Litters)	-	-	-	-

a. Although this study did not have noteworthy findings related to linaclotide administration, all values are reported.

b. The linaclotide and MM-419447 toxicokinetic parameters could not be determined because plasma concentrations were below the quantitation limit (3.0 ng/mL for both).

c. For the control group, means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

GD Gestation Day.

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.

NA Not available/applicable.

NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit.

- No noteworthy findings. These were qualitative measurements so values cannot be reported.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13 C 生殖発生毒性試験：ウサギ胚・胎児発生

Test Article: Linaclotide		
Report Title: MD-1100 Acetate: An Oral (Gavage) Embryo-Fetal Development Study in the Rabbit		**Study Report No. [MNP-103-015-RTR-01]**
Species / Strain: New Zealand White Rabbits	**Duration of Dosing: Single daily dose on gestation days 7 through 19**	
Initial Age: 5 months	**Day of Mating: Gestation Day 0**	
Date of First Dose: 26 June 2006	**Day of C-Section: Gestation Day 29**	**GLP Compliance: Yes**
Special Features: None	**Method of Administration: Oral gavage**	
Basis for High Dose Selection: Data from rabbit range-finding study MDP-103-029	**Vehicle: 0.5 % methylcellulose in deionized water**	**Design Similar to ICH 4.1.3: Yes**
No Observed Adverse Effect Level		
F_0 Females: 40 mg/kg/day		
F_1 Litters: 40 mg/kg/day		

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**5 mg/kg Group 2**	**10 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**
Dams/Does:	No. Evaluated	22	22	22	22
	Toxicokinetics (linaclotide)				
	$AUC_{0.5\text{-}8}$ (ng·h/mL)				
	Gestation Day 7	NA	35.1	124	584
	Gestation Day 19	NA	55.0	118	636
	C_{max} (ng/mL)				
	Gestation Day 7	NA	34.3	50.2	199
	Gestation Day 19	NA	25.2	72.8	364

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 C生殖発生毒性試験：ウサギ胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**5 mg/kg Group 2**	**10 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**
	Toxicokinetics (MM-419447)[b]				
	$AUC_{0.5\text{-}8}$ (ng·h/mL)				
	Gestation Day 7	NA	NC	NC	24.6
	Gestation Day 19	NA	NC	NC	30.3
	C_{max} (ng/mL)				
	Gestation Day 7	NA	BQL	BQL	5.56
	Gestation Day 19	NA	BQL	BQL	6.59
	No. Pregnant	20	22	21	20
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations[c]				
	Liquid and/or soft feces	3/3	19/11	8/7	33/16
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight [kg] (%) GD 29[d]	3.61	3.55 (-1.7)	3.52 (-2.5)	3.60 (-0.3)
	Body Weight Gain (kg) GD 7-29	0.42	0.38	0.49	0.46
	Food Consumption (g) GD 7-29	3461.6	3441.6	3241.0	3368.9
	Mean Gravid Uterine Weight (g)	450.1	464.4	493.8	461.0
	Mean No. Corpora Lutea	9.0	9.4	9.7	8.6
	Mean No. Implantations	7.8	7.9	8.6	7.6
	Mean % Preimplantation Loss	13.53	16.01	11.80	10.82

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.13 C生殖発生毒性試験：ウサギ胚・胎児発生

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**5 mg/kg Group 2**	**10 mg/kg Group 3**	**40 mg/kg Group 4**
Litters:	No. Litters Evaluated	20	22	21	20
	No. Live Fetuses	7.5	7.6	8.5	7.5
	Mean No. Resorptions	0.3	0.3	0.1	0.2
	Mean % Postimplantation Loss	2.85	3.40	0.87	1.81
	Mean Fetal Body Weight [g] (%)[d]	44.48	44.67 (0.4)	43.56 (-2.1)	44.93 (1.0)
	Fetal Sex Ratios (% Males Per Litter)	41.98	50.05	48.35	53.09
	Fetal Anomalies:				
	Gross External Anomalies	-	-	-	-
	Visceral Anomalies	-	-	-	-
	Skeletal Anomalies	-	-	-	-
	Total Affected Fetuses (Litters)	-	-	-	-

a. Although this study did not have noteworthy findings related to linaclotide administration, all values are reported.

b. The MM-419447 toxicokinetic analysis was limited to the 40 mg/kg/day dose level group due to the fact that the majority of MM-419447 plasma concentration data was below the quantitation limit (3.0 ng/mL).

c. Clinical observations are reported as Number of Times Observed/Total Number of Animals Affected. Clinical observations were assessed and recorded daily.

d. For the control group, means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit.

NA Not available/ applicable.

NC Not calculated due to sample concentrations being below the limit of quantitation.

- No noteworthy findings. These were qualitative measurements so values cannot be reported.

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

Test Article: Linaclotide		
Report Title: Linaclotide Acetate: An Oral Pre and Postnatal Study in the Rat		**Study Report No. [MNP-103-041-RTR-01]**
Species / Strain: Sprague-Dawley Rats	**Duration of Dosing: Single daily dose on Gestation Days 6 through Day 21 post partum**	
Initial Age: 11-13 weeks	**Day of Mating: Gestation Day 0**	
Date of First Dose: 07 July 2008		**GLP Compliance: Yes**
Special Features: None	**Method of Administration: Oral gavage**	
Basis for High Dose Selection: Data from rat 13-week general toxicology study MNP-103-005	**Vehicle: 0.5 % Methylcellulose in deionized water**	**Design Similar to ICH 4.1.2: Yes**
No Observed Adverse Effect Level	**Litters Culled: 4/sex/litter**	
F_0 Females: 100 mg/kg/day		
F_1 Males: 100 mg/kg/day		
F_1 Females: 100 mg/kg/day		
F_2 Litters: 100 mg/kg/day		

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
F_0 Females:	No. Evaluated	24	24	24	24
	No. Pregnant	24	24	24	24
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0

（次頁に続く）

（続き）

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

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Gestation Body Weight [g] (%)[b]GD 20	417.7	417.8 (0.0)	414.3 (-0.8)	415.3 (-0.6)
	Lactation Body Weight [g] (%)[b] Day 21 post partum	364.9	362.7 (-0.6)	353.0 (-3.3)	358.0 (-1.9)
	Gestation Food Consumption [g] GD 6-18	343.8	367.1	357.1	358.5
	Lactation Food Consumption [g] LD 0-14	775.3	760.3	761.1	750.5
	Mean Duration of Gestation (days)	21.4	21.7	21.6	21.7
	Abnormal Parturition	0	0	0	0
F_1 Litters:	No. Litters Evaluated	24	23	24	24
(preweaning)	Mean No. of Implantations[c]	13.5	13.0	13.6	12.7
	Mean No. Liveborn Pups/Litter[c]	12.5	11.5	12.8	12.3
	Mean No. Dead Pups/Litter[c]	0.0	0.2	0.0	0.1
	No. of Litters with stillborn Pups	0	4	1	2
	Postnatal Survival to Day 4 (%)	99.3	99.2	99.0	100.0
	Postnatal Survival to Weaning (%)	100.0	100.0	100.0	97.9
	Change in Male Pup Body Weights (g)[b,d]	53.1	52.4 (-1.4)	51.6 (-2.8)	51.7 (-2.7)
	Change in Female Pup Body Weights (g)[b, d]	51.1	50.1 (-2.0)	49.5 (-3.1)	49.0 (-4.2)
	Pup Sex Ratio (% Males)[c]	49.1	49.6	47.5	45.7
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

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

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
F1 Males	No. Evaluated Postweaning	24	23	24	24
(postweaning)	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight Change [g] (%)[b,f]	515.6	504.1 (-2.2)	470.8 (-8.7)[a]	485.8 (-5.8)
	Mean Age of Preputial Separation (days post partum)	42.7	43.1	42.1	42.3
	Sensory Function	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	3.6	1.9[e]	3.2	4.1
	No. of Males that Mated	20	18	22	21
	No. of Fertile Males	15	17	21	20

（次頁に続く）

（続き）

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

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
F1 Females	No. Evaluated Postweaning	24	23	24	24
(postweaning)	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Change [g] (%)[b, f]	253.3	259.3 (2.3)	252.1 (-0.5)	245.2 (-3.2)
	Gestating Body Weight Change GD 0-20 [g] (%)[b]	158.5	165.1 (4.2)	152.8 (-3.6)	160.9 (1.5)
	Mean Age of Vaginal Patency (days pp)	32.6	32.0	31.8	32.2
	Sensory Function	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	3.6	1.9[e]	3.2	4.1
	No. of Females Sperm Positive	20	18	22	21
	No. of Pregnant Females	15	17	21	20
	Mean Duration of Gestation (days)	21.8	21.8	21.8	21.9
	Abnormal Parturition	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

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

Daily Dose:		**0 (Control) Group 1**	**10 mg/kg Group 2**	**50 mg/kg Group 3**	**100 mg/kg Group 4**
F_2 Litters	No. Litters Evaluated	15	17	21	20
	Mean No. Implantations	15.9	16.7	16.1	15.4
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.4	15.6	14.5	14.2
	Mean No. Stillborn Pups/Litter	0.3	0.2	0.2	0.4
	No. of Litters with Stillborn Pups	3	3	3	5
	Postnatal Survival to Day 4 (%)	97.8	99.0	99.3	99.1
	Change in Pup Body Weights (Total) [g] (%)[b,g]	4.2	3.7 (-10.1)	4.1 (-1.7)	3.7 (-10.8)
	Pup Sex Ratios (% males)	60.6	49.2[e]	49.8[e]	50.2[e]
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

a. Although this study did not have noteworthy findings related to linaclotide administration, all values are reported.
b. For the control group, means are shown. For linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).
c. Litter 2524 (Group 2, 10 mg/kg/day) is excluded from No. of Implantations, Live and Dead Pups and Pup Sex Ratio because the litter was partially cannibalized.
d. From culling (Day 4 post partum) to weaning.
e. $p \leq 0.05$
f. From weaning (Day 21 post partum) to mating (Day 84 post partum).
g. From birth to Day 4 post partum.

GD Gestation Day.
LD Lactation Day.
- No noteworthy findings. These were qualitative measurements so values cannot be reported.

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

2.6.7.15A 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Dosing Period**	**Doses (µg/kg)**	**No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Juvenile CD-1 mice	Oral gavage (reverse osmosis water)	Dose range-finding Up to 5 days, followed by a 2-day observation starting on Day 7, 14 or 21 pp	0.1, 10, 50, 100 or 600	8/sex	Mortality or preterminal euthanasia due to poor condition within 24 hours from the first treatment in groups dosing from Day 7 pp at ≥50 µg/kg/day, Day 14 pp at 100 µg/kg/day and on Day 21 pp at 600 µg/kg/day Transient decrease in body weight gains following initiation of treatment at 50 µg/kg/day on Day 14 pp NOAEL/MTD =10, 50 and 100 µg/kg/day when dosing started on Days 7, 14 and 21 pp, respectively	[MNP-103-046-TXR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.15A 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg)**	**No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Juvenile New Zealand White rabbits	Group 1: Oral gavage (reverse osmosis water) Groups 2 to 7: Oral gavage (0.5% methylcellulose)	Acute: 1 day, followed by 2-day observation starting on Day 14 pp Subacute: 5 days, followed by a 2-day observation starting on Day 14 pp	Acute: 2 (Group2) 10 (Group3) 40 (Group4) Subacute: 0.6 (Group1) 2 (Group5) 10 (Group6) 40 (Group7)	Acute: 1/sex, except Group 2, where there were 2 females and no males[a] Subacute: 4/sex, except Group 5, where there were 5 females and 3 males[a]	Clinical condition included fur staining yellow at 2, 10 and 40 mg/kg/day. At necropsy, dilatation, watery digestive contents were found in cecum at ≥ 10 mg/kg dose, digestive contents was found in colon at at 40 mg/kg dose.	[MNP-103-047-TXR-01]

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.15A 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Dosing Period**	**Doses (µg/kg)**	**No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Day 7 pp CD-1 mice	Oral gavage (reverse osmosis water)	Study 1: single dose followed by a 24 hour observation period	0, 10, 20	20/group	Mortality occurred in 10% (2/20) of male and female pups administered 10 µg/kg linaclotide. Mortality occurred in 40% (8/20) of male and female pups administered 20 µg/kg linaclotide. Deaths occurred between 4 and 8 hours post-linaclotide administration. No mortality observed in vehicle-treated pups. Diarrhea was observed in pups administered linaclotide; 18/20 at 10 µg/kg and 20/20 at 20 µg/kg as early as 2.5 hours after linaclotide dosing, and disappeared within 24 hours in all the pups.	[MDP-103-089-PHR-01]
		Study 2: single dose followed by a 1-4 hour observation period	0, 20	20/group	Increases in intestinal fluid secretion, intestinal fluid volume (1.88-2.17-fold compared with vehicle), pH and osmolality observed in pups treated with linaclotide. Increase in gut/carcass ratio represented a 60% increase in intestinal weight observed in linaclotide-treated pups. Linaclotide-related increases in hematocrit (14-32%) and total plasma protein (45-73%) observed.	
		Study 3: single dose followed by 48 hour observation period	0, 20, 0 + supplemental fluid (0.45% NaCl in water, s.c.), 20 + supplemental fluid (0.45% NaCl in water, s.c.)	19-20/group[b]	Mortality occurred in 40% (8/20) of male and female pups administered linaclotide only. No mortality observed in pups administered linaclotide plus supplemental fluid. Diarrhea was observed in 18/20 pups treated with linaclotide and in 19/20 pups treated with linaclotide plus supplemental fluid as early as 1 hour after linaclotide administration.	

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.15A 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Linaclotide						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle)**	**Dosing Period**	**Doses (µg/kg)**	**No. Per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Report Number**
Day 7 pp CD-1 mice	Oral gavage (ultra pure water)	Single dose followed by 48 hour observation period	0, 20, 0 + supplemental fluid (0.45% NaCl in water, s.c.), 20 + supplemental fluid (0.45% NaCl in water, s.c.)	10/sex/group	Mortality occurred in 45% (4/10 males, 5/10 females) of pups administered linaclotide only. No mortality observed in pups administered linaclotide plus supplemental fluid. Adverse clinical signs consistent with diarrhea were observed in linaclotide treated mice with and without supplemental fluid.	[MNP-103-078-TXR-01]
Day 28 pp CD-1 mice	Oral gavage (ultra pure water)	7 days followed by a 7-day observation period	0, 100, 500, 1000	9-10/sex/group[c]	No mortality or clinical signs observed in linaclotide-treated 4 week old mice. No effects upon body weight, body weight gain or food consumption at any dose level.	[MNP-103-074-TXR-01]

a. One animal was identified externally as a male but was found to be a female at internal gross examination.
b. 20 pups were included in all groups, except for Group 1 (vehicle) which had 19 pups.
c. 10 pups were included in all groups, except for Group 1 (vehicle) which had 9 pups.
MTD Maximum Tolerated Dose.
pp post partum.

2.6.7.15　幼若動物を用いた試験

2.6.7.15B 幼若動物を用いた試験：重要な試験

Test Article: Linaclotide								
Report Title: Linaclotide: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study in the Juvenile Mouse Followed by a 4-Week Recovery Period					**Study No. [MNP-103-054-TXR-01]**			
Species / Strain: CD-1 Mice		**Duration of Dosing: up to 9 weeks from Days 7 to 70 post partum**						
Initial Age: Day 7 post partum		**Duration of Postdose: 4 weeks**			**GLP Compliance: Yes**			
Date of First Dose: 10 May 2010		**Method of Administration: Daily oral gavage**						
Vehicle: Isomalt powder, L-Leucine, calcium chloride dihydrate, polyvinyl alcohol and purified water								
Special Features: Assessments of physical development (vaginal opening, preputial separation), functional observation battery, bone (femur) measurements								
No Observed Adverse Effect Level: 3 µg/kg/day								
Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**1 µg/kg Group 5[a]**		**3 µg/kg Group 2**		**10 µg/kg Group 3**	
No. of Animals:	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Toxicokinetics (linaclotide)[b]								
AUC (ng·h/mL)								
Day 7 post partum	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 70 post partum	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)								
Day 7 post partum	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Day 70 post partum	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.15B 幼若動物を用いた試験：重要な試験

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**1 µg/kg Group 5[a]**		**3 µg/kg Group 2**		**10 µg/kg Group 3**	
No. of Animals:	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Toxicokinetics (MM-419447)[b]								
AUC (ng·h/mL)								
Day 7 post partum	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 70 post partum	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)								
Day 7 post partum	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Day 70 post partum	NA	NA	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund[c]	0	0	0	1	0	0	2	4
Body Weight [g] (%) Day 70 post partum[d]	37.94	27.96	35.65 (-6.0)	27.58 (-1.4)	35.73(-5.8)	27.14 (-2.9)	37.51 (-1.1)	27.78 (-0.6)
Food Consumption (g) Day 28-70 post partum	285.5	253.3	272.0	258.2	277.0	251.4	284.3	252.6
Clinical Observations:	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.15B 幼若動物を用いた試験：重要な試験

Daily Dose:	**0 (Control) Group 1**		**1 µg/kg Group 5[a]**		**3 µg/kg Group 2**		**10 µg/kg Group 3**	
No. of Animals:	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	10	8	10
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated:	10	10	10	11	10	10	8	8
Additional Examinations:								
Physical Development (Vaginal Opening)	NA	28.5	NA	30.5	NA	30.0	NA	28.8
Physical Development (Preputial Separation)	27.3	NA	27.3	NA	28.6	NA	27.8	NA
Functional Observational Battery	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Measurements (Femur Length and Width)	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated:	10	10	10	9	10	10	10	8

a. As a result of pup mortality observed at 30 µg/kg/day in TK groups which were treated first on study, treatment at 30 µg/kg/day was discontinued. The remaining untreated litters assigned to Group 4 (30 µg/kg/day) were transferred to Group 5 (1 µg/kg/day).
b. The linaclotide and MM-419447 toxicokinetic parameters could not be determined because plasma concentrations were below the quantitation limit (2 and 5 ng/mL, respectively).
c. These numbers do not reflect the animals that were euthanized early and replaced due to a gavage accident, cannibalism or death of the dam. Also of note, one Group 5 (1 µg/kg/day) female death was due to a gavage accident and one of the Group 3 (10 µg/kg/day) females that died on study was also due to a gavage accident.
d. At the end of the dosing period. For controls, the group means are shown. For the linaclotide-treated groups, means are shown with percent differences from controls in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
BQL Plasma concentrations were below the quantitation limit
NA Not available/ not applicable, NC Not calculated due to plasma concentrations being below the quantitation limit - No noteworthy findings.

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17 A その他の毒性試験：不純物の復帰突然変異試験

Test Article: 類縁物質4＊[a] **and** 類縁物質５＊[a]						
Species / Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
S. typhimurium and E. coli	NA	NA	50 to 5000 µg/plate of 類縁物質4＊[a] and 類縁物質５＊[a]	N=3	No evidence of toxicity and mutagenicity with all strains with and without metabolic (S9) activation up to 5000 µg/plate	[MNP-103-068-GTR-01]

a. 類縁物質４＊(MM-447619) and 類縁物質５＊(MM-448623) are linaclotide drug product degradants.

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17 B　　その他の毒性試験：：不純物のマウス 4w

Test Article: Linaclotide, 類縁物質4＊[a] **and** 類縁物質５＊[a]						
Species / Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg)**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
CD-1 mice	Oral gavage	4 weeks	20 mg/kg linaclotide and 20 mg/kg linaclotide + 0.040 mg/kg 類縁物質4＊[a] and 0.080 mg/kg 類縁物質５＊[a]	Male, Female 26/sex/group	Administration of linaclotide alone or spiked linaclotide associated with higher incidence of oily fur and dehydration in males. No apparent differences between the two linaclotide treatment groups (linaclotide and spiked linaclotide) and no adverse effects observed. No evidence of toxicity.	[MNP-103-061-TXR-01]

a. 類縁物質４＊(MM-447619) and 類縁物質５＊(MM-448623) are linaclotide drug product degradants.

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.18 反復投与毒性試験・生殖発生毒性試験・がん原性試験の用量補正値の一覧

Study Type Report Number	Drug Substance Lot Number	Original Peptide Content Based on CoA (w/w %)	Adjusted Linaclotide Content Based on Lot 103PRS001 (w/w %)	% Difference	NOAEL (mg/kg/day)	Adjusted NOAEL (mg/kg/day)	Range (± 10%) of Adjusted NOAEL (mg/kg/day)
Repeated Dose							
13 week mouse MNP-103-007-TXR-01	[redacted]MD11000601B1	93.0	94.8	+2%	20 mg/kg/day	20.4 mg/kg/day	18 – 22 mg/kg/day
26 week mouse MNP-103-027-TXR-01	[redacted]MD11000601D	90.1	91.4	+1%	20 mg/kg/day	20.2 mg/kg/day	18 – 22 mg/kg/day
14-day rat MNP-103-020-TXR-01	[redacted]MD11000401	91.6	89.9	-2%	20 mg/kg/day	19.6 mg/kg/day	18 – 22 mg/kg/day
13 week rat MNP-103-005-TXR-01	[redacted]MD11000501	93.1	81.8	-12%	100 mg/kg/day	88 mg/kg/day	79 – 97 mg/kg/day
15-day monkey MNP-103-021-TXR-01	[redacted]MD11000401	91.6	89.9	-2%	5 mg/kg/day	4.9 mg/kg/day	4.4 – 5.4 mg/kg/day
13 week monkey MNP-103-006-TXR-02	[redacted]MD11000501	93.1	81.8	-12%	50 mg/kg/day	44 mg/kg/day	40 – 48 mg/kg/day
39 week monkey MNP-103-028-TXR-01	[redacted]MD11000601C	90.1	92.4	+3%	5 mg/kg/day	5.15 mg/kg/day	4.5 – 5.6 mg/kg/day
	[redacted]MD11000603A	93.2	91.4	-2%		4.9 mg/kg/day	
	[redacted]MD11000603C	92.6	92.8	0%		5.0 mg/kg/day	

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.18　反復投与毒性試験・生殖発生毒性試験・がん原性試験の用量補正値の一覧

Study Type Report Number	Drug Substance Lot Number	Original Peptide Content Based on CoA (w/w %)	Adjusted Linaclotide Content Based on Lot 103PRS001 (w/w %)	% Difference	NOAEL (mg/kg/day)	Adjusted NOAEL (mg/kg/day)	Range (± 10%) of Adjusted NOAEL (mg/kg/day)
Developmental and Reproductive Toxicity							
Fertility and Early Embryonic Development in Rats MNP-103-026-RTR-01	[redacted]MD11000602A	94.9	93.0	-2%	100 mg/kg/day	98 mg/kg/day	88 – 108 mg/kg/day
Embryo-fetal Development in Rats MNP-103-014-RTR-01	[redacted]MD11000601A	95.5	94.0	-2%	100 mg/kg/day	98 mg/kg/day	88 – 108 mg/kg/day
Embryo-fetal Development in Rabbits MNP-103-015-RTR-01	[redacted]MD11000601A	95.5	94.0	-2%	40 mg/kg/day	39.2 mg/kg/day	36 – 44 mg/kg/day
Embryo-fetal Development in Mice MNP-103-033-RTR-01	[redacted]MD11000603C	92.6	92.8	0%	5 mg/kg/day	5.0 mg/kg/day	4.5 – 5.5 mg/kg/day
Prenatal and Postnatal Development in Rats MNP-103-041-RTR-01	[redacted]MD11000604A	89.9	88.1	-2%	100 mg/kg/day	98 mg/kg/day	90 – 110 mg/kg/day
	[redacted]MD11000601D	90.1	91.4	+1%		101 mg/kg/day	
	[redacted]MD11000601A	95.5	94.0	-2%		98 mg/kg/day	

（次頁に続く）

（続き）

2.6.7.18　反復投与毒性試験・生殖発生毒性試験・がん原性試験の用量補正値の一覧

Study Type Report Number	Drug Substance Lot Number	Original Peptide Content Based on CoA (w/w %)	Adjusted Linaclotide Content Based on Lot 103PRS001 (w/w %)	% Difference	NOAEL (mg/kg/day)	Adjusted NOAEL (mg/kg/day)	Range (± 10%) of Adjusted NOAEL (mg/kg/day)
Carcinogenicity Studies							
Rat MNP-103-029-CAR-01	[redacted]MD11000602B	94.7	93.0	-2%	3500 µg/kg/day	3430 µg/kg/day	3150 – 3850 µg/kg/day
	[redacted]MD11000801	94.1	89.0	-5%		3325 µg/kg/day	
Mouse MNP-103-030-CAR-01	[redacted]MD11000602B	94.7	93.0	-2%	6000 µg/kg/day	5880 µg/kg/day	5400 – 6600 µg/kg/day
	[redacted]MD11000801	94.1	89.0	-5%		5700 µg/kg/day	