ラパリムスゲル0.2%

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6　毒性試験の概要文

ノーベルファーマ株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.2.1 ラット単回経皮投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.3.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む） 9
2.6.6.3.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む） 9
2.6.6.3.3 ラットの 26 週間反復経皮投与毒性試験 10
2.6.6.3.4 サルの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む） 10
2.6.6.3.5 サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験 11
2.6.6.4 遺伝毒性試験 12
2.6.6.5 がん原性試験 12
2.6.6.5.1 マウス中期皮膚発がん性試験 12
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 12
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 12
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 12
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 13
2.6.6.6.4 新生児を用いた試験 13
2.6.6.7 局所刺激性試験 14
2.6.6.7.1 ウサギ皮膚刺激性試験 14
2.6.6.7.2 ウサギ眼刺激性試験 14
2.6.6.7.3 最終製剤及びその劣化品を用いたウサギ皮膚刺激性試験 14
2.6.6.8 その他の毒性試験 15
2.6.6.8.1 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験 15
2.6.6.8.2 モルモット皮膚感作性試験（Adjuvant and Patch Test 法） 15
2.6.6.8.3 モルモット皮膚光感作性試験（Adjuvant and Strip 法） 15
2.6.6.8.4 モルモット皮膚光感作性試験の補足試験（Kochever 法） 17
2.6.6.8.5 モルモット光線過敏様皮膚反応の誘発に関する検討試験 1（Kochever 法） 18
2.6.6.8.6 モルモット光線過敏様皮膚反応の誘発に関する検討試験 2（Kochever 法） 18
2.6.6.8.7 最終製剤を用いたモルモット皮膚光感作性試験（Kochever 法） 19
2.6.6.8.8 不純物の安全性評価 20
2.6.6.9 考察 21
2.6.6.10 参考文献 27

略語・略号一覧

略語・略号	内容
ALB	アルブミン
A/G	アルブミン・グロブリン比
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（GPT）
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（GOT）
AUC_{0-24h}	血液中薬物濃度―時間曲線下面積（0-24 時間）
Ca	カルシウム
CHO	総コレステロール
CK	クレアチンキナーゼ
Cl	クロール
C_{max}	最高血液中濃度
CRE	クレアチニン
DMBA	7,12-dimethylbenz[a]anthracene
DMSO	ジメチルスルホキシド
GLU	グルコース
Hb	ヘモグロビン濃度
Ht	ヘマトクリット値
IP	無機リン
K	カリウム
LD	乳酸デヒドロゲナーゼ
LUC	Large unstained cell（ペルオキシダーゼ陰性大型細胞）
Na	ナトリウム
PIF	photo irritation factor（光毒性係数）
PL	リン脂質
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
TG	中性脂肪
TK	トキシコキネティクス
TP	総蛋白
UN	尿素窒素
UV	紫外線
UVA	長波長紫外線
UVB	中波長紫外線

試験製剤一覧

製剤	使用された試験（資料番号）	処方
ラパリムスゲル（本剤）	＜[redacted]にて製造＞ 4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-3、4.2.3.2-4、4.2.3.4-1 参、4.2.3.4-2、4.2.3.5.4-1、4.2.3.6-1、4.2.3.6-2、 ＜[redacted]にて製造（最終製剤）＞ 4.2.2.2-1、4.2.3.6-3、4.2.3.7-7	シロリムス濃度 0～0.8%のエタノール含有水性ゲル剤。添加物としてカルボキシビニルポリマー、エタノール、トリエタノールアミン、精製水を含む。
	＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.2-2、 4.2.3.5.4-2、4.2.3.7-2、4.2.3.7-3、 4.2.3.7-4、4.2.3.7-5 参、4.2.3.7-6 参	大阪大学が製造したシロリムス濃度 0～0.8%のエタノール含有水性ゲル剤。添加物としてカルボキシビニルポリマー、エタノール、[redacted]、精製水を含む。
シロリムス軟膏	＜研究者の施設にて製造＞ 4.2.1.1-1 参 ＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.7-5 参	シロリムス濃度 0～0.8%の軟膏。添加物として、ワセリンを含む。
その他のシロリムス外用剤	＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.7-5 参	シロリムス濃度 0～0.8%のイソプロピルアルコール製剤。

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ラパリムスゲル（以下、「本剤」）の皮膚への長期投与に対する影響についてはこれまで知見がないことから、ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験、サルの 13 週間及び 39 週間反復経皮投与毒性試験のほか、マウス皮膚二段階発がんモデルによるがん原性試験を実施した。なお、げっ歯類の 26 週間反復投与毒性試験については、ラットの 13 週間反復投与毒性試験で投与経路（経皮及び経口投与）の違いによる毒性プロファイルに差がないことから（本項 2.6.6.9 考察）実施しなかった。また、本剤の対象患者に幼児、小児が含まれることから、幼若ラットを用いた試験を実施した。その他、局所刺激性試験、光毒性試験、皮膚感作性試験、皮膚光感作性試験についても検討した（表 2.6.6-1）。なお、毒性試験は、検討試験を除いてすべて GLP に準拠して実施した。

表 2.6.6-1 経皮投与毒性試験の一覧

試験の種類		動物種	投与経路・期間	投与量（mg/kg/day）	添付資料番号
単回投与毒性試験		SD ラット	経皮・2 回/日	0、0.1、0.5、2.0、8.0	＜4.2.3.1-1＞
反復投与毒性試験		SD ラット	経皮・13 週 （4 週回復）	0、0.1、0.5、2.0、8.0	＜4.2.3.2-1＞
		HWY ラット	経皮・13 週 （7 週回復）	0、0.5、2.0、8.0	＜4.2.3.2-2＞
		サル	経皮・13 週 （4 週回復）	0、0.05、0.25、1.0、4.0	＜4.2.3.2-3＞
		サル	経皮・39 週	0、0.25、1.0、4.0	＜4.2.3.2-4＞
新生児の試験		幼若 SD ラット	経皮・4 週	0、0.1、0.5、2.0、8.0	＜4.2.3.5.4-1＞
		幼若 HWY ラット	経皮・7 週	0、0.5、2.0、8.0	＜4.2.3.5.4-2＞
がん原性試験		マウス	経皮	0、0.2、0.8%	＜4.2.3.4-2＞
局所刺激	皮膚刺激性	ウサギ	塗布・1 回	0、0.01、0.05、0.2%	＜4.2.3.6-1＞
	眼刺激性	ウサギ	点眼・1 回	0、0.01、0.05、0.2%	＜4.2.3.6-2＞
	皮膚刺激性（最終製剤）	ウサギ	塗布・1 回	0、0.2%最終製剤、0.2%劣化品	＜4.2.3.6-3＞
その他	光毒性	3T3 細胞	in vitro	0、3.125～175 μg/mL	＜4.2.3.7-1＞
	皮膚感作性	モルモット	塗布・Adjuvant & Patch Test 法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2、0.8%	＜4.2.3.7-2＞
	皮膚光感作性	モルモット	塗布・Adjuvant & Strip 法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2%	＜4.2.3.7-3＞
	皮膚光感作性（補足）	モルモット	塗布・Kochever 法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2%	＜4.2.3.7-4＞
	光線過敏様皮膚反応（検討）	モルモット	塗布・Kochever 法	感作：0、0.05、0.2、0.8% 惹起：－	＜4.2.3.7-5 参＞
	光線過敏様皮膚反応（検討 2）	モルモット	塗布・Kochever 法	感作：0、0.05、0.1、0.2、0.8% 惹起：－	＜4.2.3.7-6 参＞
	皮膚光感作性（最終製剤）	モルモット	塗布・Kochever 法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.2%最終製剤	＜4.2.3.7-7＞
	不純物の変異原性評価	in silico		不純物 10 物質	＜4.2.3.7-8 参＞

－：薬物投与せず UV 照射のみ

単回投与毒性

ラットを用いて経皮投与による単回投与毒性を検討した。投与限界量である 8.0 mg/kg（0.8%）でも、死亡例や毒性症状、体重、剖検に異常は観察されなかった。

反復投与毒性

反復投与毒性をラット（SD、HWY ヘアレス：13 週間投与）及びサル（13 及び 39 週間投与）を用いて検討した。SD ラットの 13 週間反復経皮投与（0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）では、死亡例はなく、一般状態や投与部位にも変化は観察されなかった。0.5 mg/kg/day 以上の雄で体重の低値がみられたが、雌では変化はなかった。8.0 mg/kg/day の雌雄で肺重量の高値（又は高値傾向）がみられ、2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌で肺胞マクロファージ集簇の程度が増強した。4 週間の休薬後では、体重、器官重量及び病理組織学的所見は回復又は回復傾向を示した。

HWY ラットを用いた 13 週間反復経皮投与（0、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）では死亡例はなく、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で体重の低値、雄で摂餌量の低値がそれぞれみられた。

血液学的検査では、主に 2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で好中球数及び好中球比の高値又は高値傾向がみられ、リンパ球比及び好酸球比が低値であった。また、網赤血球数及び血小板数の高値がみられ、8.0 mg/kg/day で APTT が延長した。血液生化学的検査では、0.5 mg/kg/day 以上の雄で ALT の高値が、2.0 mg/kg/day 以上の雌及び 8.0 mg/kg/day の雄で ALB 及び A/G の低値がみられた。他に 8.0 mg/kg/day では AST、LD、CK 及び UN の高値、CRE 、Ca 及び TP の低値がみられた。病理組織学的検査では、対照群を含む被験物質投与群の雌雄で顎下リンパ節及び腸間膜リンパ節で泡沫状マクロファージの増加、肺での肺胞マクロファージの集簇がそれぞれ認められ、8.0 mg/kg/day では高頻度であった。その他 8.0 mg/kg/day の雌雄の顎下リンパ節でラッセル小体、胸腺でマクロファージが増加したほか、副腎球状帯に微細空胞が認められた。7 週間の休薬後では、体重を除きいずれの検査値も回復又は回復傾向を示した。無毒性量は、雌雄とも 0.5 mg/kg/day 未満であった。

サルを用いた 13 週間反復経皮投与（0、0.05、0.25、1.0、4.0 mg/kg/day）では、死亡例はなく、一般状態や投与部位にも変化は観察されず、すべての検査において被験物質に関連する異常は認められなかった。サル 39 週間反復経皮投与（0、0.25、1.0、4.0 mg/kg/day）では、4.0 mg/kg/day の雄 1 例及び 1.0 mg/kg/day の雌 1 例で、投与 32 週以降に軟便、下痢、体重及び摂餌量の低値に加え、自発運動の減少、横臥位、刺激に対する反応性の低下あるいは体温低下がみられ、瀕死期屠殺した。病理組織学的検査では盲腸炎、結腸炎あるいは直腸炎が共通に認められ、雌では、盲腸及び結腸に多量のガスが貯留・拡張し、この物理的圧迫に起因すると考えられる消化管の変化もみられた。死因は、大腸障害による脱水、栄養不良等による全身状態の悪化によるものと考えられた。生存例では一部の動物に軟便がみられたほか、4.0 mg/kg/day で尿蛋白の高値、プロトロンビン時間の短縮、1.0 及び 4.0 mg/kg/day で腎臓の近位尿細管上皮の好酸性/褐色顆粒がみられた。

反復経皮投与毒性試験の無毒性量は、SD ラットの 13 週間投与の雄で 0.1 mg/kg/day、雌で 2.0 mg/kg/day、サル 13 週間投与で 4.0 mg/kg/day、39 週間投与で 0.25 mg/kg/day と判断され

た。無毒性量における最高血液中濃度(C_{max})は、臨床用量（医師主導第Ⅰ/Ⅱ相試験、0.2%製剤投与時）における推定トラフ値（仮　約 0.15 ng/mL、第Ⅲ相試験終了後記載）と比較すると、ラット（13 週間投与試験）の雄で 1.3 倍、雌で 3.3 倍、サル（39 週間投与試験）の雄で 2.8 倍、雌で 2.9 倍であった。

新生児の毒性

幼若動物における反復経皮投与毒性を 2 系統のラット（SD、HWY）を用いて検討した。幼若 SD ラット（22 日齢）を用いた 4 週間反復経皮投与（0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）では、血液学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌及び 8.0 mg/kg/day の雄で Hb 及び/又は Ht の高値がみられた。8.0 mg/kg/day の雌雄で血小板数の低値、雌で好中球比の高値及びリンパ球比の低値がみられた。血液生化学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で AST 及び ALT の高値（高値傾向）がみられた。器官重量では、8.0 mg/kg/day の雌雄で胸腺重量の低値、2.0 mg/kg/ day 以上の雌で肺重量の高値がみられた。病理組織学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で肺胞マクロファージの集簇が、8.0 mg/kg/day の雄の胸腺で染色性マクロファージの増加が認められた。無毒性量は、雌雄とも 0.5 mg/kg/day であった。

幼若 HWY ラット（22 日齢）を用いた 7 週間反復経皮投与（0、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）では、0.5 mg/kg/day 以上の雌及び 2.0 mg/kg/day 以上の雄において摂餌量及び体重の低値がみられた。血液学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雄又は雌で血小板数の高値、白血球分類における数/比率の変動又は APTT の延長がみられ、8.0 mg/kg/day の雌雄で網赤血球の高値がみられた。血液生化学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で ALB 及び A/G の低値が、8.0 mg/kg/day の雌雄で TP の低値がみられた。その他、8.0 mg/kg/day の雌雄で CRE の低値、CHO の高値が、雌で AST、ALT、ALP 及び CK の高値、IP 及び Ca の低値がそれぞれみられた。

病理組織学的検査では、マクロファージの増加が 0.5 mg/kg/day 以上の雌及び 2.0 mg/kg/day 以上の雄の胸腺及び 8.0 mg/kg/day の雌雄の顎下リンパ節で認められた。皮質のリンパ球の低値が 8.0 mg/kg/day の雌の胸腺及び雄の顎下リンパ節で認められたほか、2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌の腸間膜リンパ節でも認められた。無毒性量は、雄で 0.5 mg/kg/day、雌では 0.5 mg/kg/day 未満であった。

成獣ラットと幼若ラットでの毒性パラメータの変動には大きな差異はなく、いずれの所見も本剤の免疫抑制作用あるいはその二次的作用に基づくものと考えられた。両者の無毒性量にも大差はないことから（幼若：0.5 mg/kg/day、成獣：雄 0.1、雌 2.0 mg/kg/day ）、幼若ラットにおける特異な毒性はないと考えられた。

がん原性

マウスを用いて中期皮膚発がん性試験により皮膚腫瘍発生を検討した。イニシエーターである 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を事前に塗布した後、本剤（0.2、0.8%）を 19 週間、背部皮膚に経皮投与した。その結果、DMBA 処置の有無にかかわらず、いずれの被験物質投与群にも皮膚腫瘤の発生は認められず、本剤はマウス皮膚に対し発がん促進作用を示さないと判断された。

局所刺激性

本剤（0.01、0.05、0.2%）をウサギの皮膚及び眼に適用した結果、基剤とほぼ同等の眼刺激性がみられたが、皮膚刺激性はなかった。また、最終製剤及びその劣化品でも皮膚刺激性は認められなかった。

その他の毒性

3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験で、シロリムスの光毒性は陰性であった。モルモットの皮膚感作性試験（Adjuvant and Patch Test 法）では、紅斑及び浮腫は認められず、本剤の皮膚感作性は陰性であった。

モルモットの皮膚光感作性試験（Adjuvant and Strip 法）では、本剤 0.8%で 5 日間塗布（＋UVA 照射）して感作し、感作開始後 21 日に本剤（基剤、0.05、0.2%）で惹起（＋UVA 照射）した。その結果、UVA の照射された基剤を含む本剤の塗布部位及びその周囲の非塗布部位で紅斑が認められた。これらの皮膚反応には Adjuvant の影響の可能性が考えられることから、Adjuvant を用いない Kochever 法で再度皮膚光感作性試験を実施した。その結果、本剤感作群に対して無処置、基剤又は本剤で惹起（＋UVA 照射）するといずれの条件でもごく軽度又は明らかな紅斑が認められた。本剤感作及び無処置惹起（UVA 照射のみ）で紅斑が認められたことから、本剤には皮膚光感作性はなく、光線過敏様皮膚反応の可能性が示唆された。なお、紅斑は惹起終了後 48 時間で減弱し、惹起終了後 6 日には消失した。紅斑が認められた感作濃度（投与量）は、0.2%及び 0.8%でその程度には用量依存性がみられた。また、基剤の種類（エタノール、イソプロピルアルコール、軟膏）による皮膚反応には差は明らかでなかった。また、感作時に遮光剤を使用した場合では紅斑の抑制効果はなかったが、惹起時に遮光剤を塗布した場合では紅斑はみられず、遮光剤の抑制効果が認められた。最終製剤を用いた皮膚光感作性試験（Kochever 法）では、本剤感作群に対して無処置、基剤又は本剤を惹起（＋UVA 照射）した場合、いずれの条件でも紅斑が認められ、先に実施した試験結果（添付資料：＜4.2.3.7-4＞）と差異はなかった。

本剤の原薬製造工程由来の不純物及び製剤中に存在が予想される分解生成物などの化学構造について、対象となる 10 物質の in silico 変異原性予測を実施した結果、すべてに警告構造がなかったことから変異原性に関する懸念がないと結論された。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラット単回経皮投与毒性試験

（添付資料：＜4.2.3.1-1＞）

ラット（SD 系 5 週齢、雌雄各 5 匹/群）に、本剤の 0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.5 g/kg/回（投与量；0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg）経皮投与し、投与後 2 週間の観察によりその毒性を検討した。なお、0.8%（8.0 mg/kg）は最大溶解濃度である。

その結果、死亡例は認められなかった。一般状態、体重及び剖検にも、何ら異常は観察されなかった。概略の致死量は、雌雄とも 8.0 mg/kg/day 以上であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）

（添付資料：＜4.2.3.2-1＞）

ラット（SD 系 5～6 週齢、雌雄各 10 又は 16 匹/群）に、本剤の 0（無処置対照群）、0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.5 g/kg/回（投与量；0、0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）13 週間反復経皮投与し、その毒性を検討した。別に TK 測定群（雌雄各 4 又は 8 匹/群）を設け、全身的曝露を検討した。また、無処置対照群、基剤対照群及び 0.8%群（雌雄各 6 匹/群）は投与後 4 週間休薬し、毒性の回復性を検討した。

被験物質に関連する死亡例はなく、一般状態や投与部位にも異常はなかった。0.5 mg/kg/day 以上の雄で体重の低値がみられたが、雌では変化はなかった。血液学的検査では赤血球系パラメータに高値が、血液生化学的検査では雄に変動がそれぞれみられたが、多くは軽微な変化であり、試験実施施設における背景データの範囲内にもあることから毒性学的に問題のある変化ではないと判断した。器官重量では、8.0 mg/kg/day において雌で肺の絶対及び相対重量の高値が、雄で相対重量の高値が認められた。病理組織学的検査では対照群を含めたすべての群で肺胞マクロファージの集簇が軽度に認められたが、2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/ day の雌ではその程度に増強がみられた。4 週間の休薬終了時では、体重値で回復がみられ、肺重量の高値及び肺胞マクロファージの集簇には回復傾向がみられた。

本剤の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24h}）は、投与量に応じた増加傾向がみられ、投与 1 日に比し投与終了時（投与 91 日）で高値となり、雄は雌より高値であった。

以上の結果から、SD ラットの 13 週間反復経皮投与における無毒性量は、雄で 0.1 mg/kg/day、雌で 2.0 mg/kg/day と判断された。

2.6.6.3.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む）

（添付資料：＜4.2.3.2-2＞）

ラット（HWY 雌雄各 10 又は 16 匹/群）に、本剤の 0（基剤対照群）、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、各 0.5 g/kg/回（投与量；0、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）、各 13 週間反復経皮投与し、その毒性を検討した。別に TK 測定群（経皮投与群；雌雄各 4 匹/群、経口投与群；雌雄各 5 匹/群）を設け、全身的曝露を検討した。また、基剤対照群及び 0.8%群（雌雄各 6 匹/群）は投与後 7 週間休薬し、毒性の回復性を検討した。

死亡例はなかった。投与部位である背部皮膚の被覆材の周辺に創傷が、対照群を含む各群でみられ、8.0 mg/kg/day では高頻度であった。また 8.0 mg/kg/day の雄 2 例に全身の蒼白及び暗赤褐色便がみられた。

2.0 mg/kg/day 以上では、雌雄で体重の低値が、雄で摂餌量の低値がそれぞれみられ、8.0 mg/kg/day の雌では摂餌量が低値であった。血液学的検査では、好中球数及び好中球比の高値又は高値傾向が 2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で認められ、好中球数の高値は 0.5 mg/kg/day の雄にもみられた。リンパ球比の低値が 2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 2.0 mg/kg/day の雌でみられた。好酸球数及び好酸球比の低値が 2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌でみられ、好酸球比の低値は 0.5 mg/kg/day の雄にもみられた。網赤血球数の高値が 2.0 mg/kg/day 以上の雌及び 8.0 mg/kg/day の雄で、血小板数の高値が 2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で、APTT の延長が 8.0 mg/kg/day の雌雄でみられた。血液生化学的検査では、0.5 mg/kg/day 以上の雄で ALT の高値が、2.0 mg/kg/day 以上の雌及び 8.0 mg/kg/day の雄で ALB 及び A/G の低値がみられた。他に 8.0 mg/kg/day では AST、LD、CK 及び UN の高値、CRE 、Ca 及び TP の低値が雌雄又は片性でみられた。

剖検では、対照群を含む各群の雌雄で腋窩及び背部の皮膚に痂皮が観察された。器官重量では、0.5 mg/kg/day 以上の雄及び 2.0 mg/kg/day 以上の雌で肺の相対重量の高値、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で副腎の相対重量の高値、8.0 mg/kg/day の雄で胸腺の相対重量の低値、雌で卵巣重量の低値がみられた。病理組織学的検査では、対照群を含む被験物質投与群の雌雄で顎下リンパ節及び腸間膜リンパ節で泡沫状マクロファージの増加、肺での肺胞マクロファージの集簇が認められ、8.0 mg/kg/day ではそれらが高頻度であった。また、8.0 mg/kg/day の雌雄では顎下リンパ節でラッセル小体が、胸腺でマクロファージがそれぞれ増加したほか、副腎の球状帯に微細空胞が認められた。7 週間の休薬終了時では、体重を除き、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査の検査値、器官重量及び病理組織学的検査での所見は、いずれも回復又は回復傾向がみられた。

以上の結果から、HWY ラットの 13 週間反復経皮投与における無毒性量は、雌雄とも 0.5 mg/kg/day 未満と判断された。

2.6.6.3.3 ラットの 26 週間反復経皮投与毒性試験

本剤のラットの 13 週間反復投与毒性試験において、経皮投与の毒性は経口投与と比較して弱く、また経皮及び経口投与での毒性プロファイルに差がなかった(本項 2.6.6.9 考察)。従って、本剤の全身毒性は、ラパリムス錠の承認申請に提出した経口投与による一連の毒性試験の成績で評価されていると考えられることから、げっ歯類の 26 週間経皮投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.3.4 サルの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）

（添付資料：＜4.2.3.2-3＞）

カニクイザル（3 歳齢、雌雄各 4 又は 6 匹/群）に、本剤の 0（無処置対照群）、0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.25 g/kg/回（投与量；0、0、0.05、0.25、1.0、4.0 mg/kg/day）、各 13 週間反復経皮投与し、その毒性及び全身的曝露について検討した。また、

無処置対照群、基剤対照群及び 0.8%群（雌雄各 2 匹/群）は投与後 4 週間休薬し、毒性の回復性を検討した。

死亡例はなく、一般状態や投与部位にも被験物質に関連する異常はなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では一部の検査値に変動がみられたが、関連する検査項目、組織や器官の剖検及び病理組織学的所見に異常が認められなかったことから、本剤による悪影響ではないと判断した。その他、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査には異常は認められなかった。4 週間休薬終了時でも特記すべき変化はみられなかった。

本剤の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24h}）は、投与量に応じて増加し、投与 1 日に比し投与終了時（投与 93 日）で高値となり、雄は雌より高値であった。

以上の結果から、サルの 13 週間反復経皮投与における無毒性量は、雌雄とも 4.0 mg/kg/day と判断された。

2.6.6.3.5 サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験

（添付資料：＜4.2.3.2-4＞）

カニクイザル（3～5 歳齢、雌雄各 4 匹/群）に、本剤の 0（基剤対照群）、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.25 g/kg/回（投与量；0、0.25、1.0、4.0 mg/kg/day）、各 39 週間反復経皮投与し、その毒性及び全身的曝露について検討した。

4.0 mg/kg/day の雄 1 例及び 1.0 mg/kg/day の雌 1 例で、それぞれ投与 36 週及び 32 週目以降に軟便、下痢がみられ、体重・摂餌量の低値、自発運動の減少、横臥位、刺激に対する反応性の低下あるいは体温低下もみられたため、瀕死期屠殺した。病理組織学的検査では、盲腸炎、結腸炎あるいは直腸炎が共通に認められ、さらに雌では、盲腸及び結腸に多量のガスが貯留・拡張し、この物理的圧迫に起因すると考えられる消化管の変化（うっ血，線維素様血栓，出血，粘膜上皮の単細胞壊死及び剥離など）もみられた。瀕死状態に至った原因は、大腸障害による脱水、栄養不良等による全身状態の悪化によるものと考えられた。その他、栄養不良、全身状態の悪化に伴うと考えられる二次的な変化が胸腺、副腎、腎臓、骨髄、リンパ節、骨格筋等にみられた。また、瀕死期屠殺時の血液学的及び血液生化学的検査（雄のみ）において、血小板及び好中球数の高値、リンパ球数の低値、APTT の延長、AST・CK・GLU・UN・CRE の高値並びに Ca・Na・K・Cl の低値等がみられた。

生存例では、4.0 mg/kg/day の雌 1 例で軟便が投与 36 週目から頻回にみられ、1.0 mg/kg/day の雄 1 例でも散発的にみられた。4.0 mg/kg/day では雄 1 例（投与 39 週目）に尿蛋白の高値が、雌でプロトロンビン時間の短縮がみられた。病理組織学的検査では、4.0 mg/kg/day の雌雄及び 1.0 mg/kg/day の雌で、腎臓に近位尿細管上皮の好酸性/褐色顆粒がみられた。眼科的検査及び心電図検査では異常はみられなかった。

本剤の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24h}）は、投与量の増加に応じて増加し、反復投与（投与 27 日、90 日、270 日）による AUC_{0-24h} の上昇が雌の 1.0 及び 4.0 mg/kg/day の投与 90 日にみられたが、雄では認められなかった。

以上より、無毒性量は雌雄ともに 0.25 mg/kg/ day であると判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウス中期皮膚発がん性試験

（添付資料：＜4.2.3.4-2＞）

マウス(Crl:CD1 系雌 7 週齢、20 匹/群)にイニシエーション処置として 7,12-dimethyl benz[a]anthracene (DMBA)を背部皮膚に 1 回塗布し、その 1 週後より本剤の 0（基剤対照群)、0.2 及び 0.8%を 15 mg/mouse 、1 日 1 回、各 19 週間背部皮膚に塗布した。また、DMBA 無処置の基剤対照群及び 0.8%群(各 10 匹/群)も設け、本剤の皮膚腫瘍発生に対する影響を検討した。

DMBA 処置群では、対照群及び 0.8%群の各 1 例に自然発生病変による死亡あるいは瀕死期屠殺がみられた以外、一般状態に被験物質に起因する異常はなく、体重及び摂餌量にも影響はなかった。皮膚腫瘤（表皮嚢胞）が対照群の 1 例に 1 個みられたが、0.2 及び 0.8%群では、過形成病変あるいは腫瘍性病変は観察されなかった。

DMBA 無処置群では、皮膚腫瘤は観察されず、体重、摂餌量、肉眼的病理学検査及び病理組織学的検査においても、被験物質投与に起因する変化はみられなかった。

以上より、本剤はマウスを用いた中期皮膚発がん性試験において 0.8%の濃度（臨床投与量の 4 倍)でも皮膚腫瘤の発生がなく、皮膚に対し発がん促進作用を示さないことが確認された。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

シロリムスの経皮投与の毒性は経口投与と比較して弱く、また経皮及び経口投与での毒性プロファイルには差がなかった（本項 2.6.6.9 考察)。従って、本剤の生殖発生毒性は、ラパリムス錠の承認申請に提出した経口投与による生殖発生毒性試験の成績で評価されていると考えられることから、生殖発生毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.6.4 新生児を用いた試験

2.6.6.6.4.1 幼若 SD ラットの 4 週間反復経皮投与毒性試験

（添付資料：＜4.2.3.5.4-1＞）

幼若ラット（SD 系 22 日齢、雌雄各 10 匹/群）に、本剤の 0（無処置対照群）、0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.5 g/kg/回（投与量；0、0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）、各 4 週間反復経皮投与し、その毒性を検討した。

被験物質に関連する死亡例はなかった。血液学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌で Hb 及び Ht の高値が、8.0 mg/kg/day の雄で Ht の高値がみられた。8.0 mg/kg/day の雌雄で血小板数の低値、雌で好中球比の高値及びリンパ球比の低値がみられた。血液生化学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で AST 及び ALT の高値（又は高値傾向）がみられた。

器官重量では、8.0 mg/kg/day の雌雄で胸腺重量の低値、2.0 mg/kg/day 以上の雌で肺重量の高値がみられた。病理組織学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で肺胞マクロファージの集簇が、8.0 mg/kg/day の雄の胸腺で染色性マクロファージの増加が認められた。

その他、一般状態、体重、摂餌量、生殖器の発達、行動・機能の発達、眼科学的検査、尿検査及び剖検には異常はなかった。

以上の結果から、SD 幼若ラット（22 日齢）の 4 週間反復経皮投与における無毒性量は、雌雄とも 0.5 mg/kg/day と判断された。

2.6.6.6.4.2 幼若 HWY ラットの 7 週間反復経皮投与毒性試験

（添付資料：＜4.2.3.5.4-2＞）

幼若ラット（HWY 系 22 日齢、雌雄各 10 匹/群）に、本剤の 0（基剤対照群）、0.05、0.2、0.8%を 1 日 2 回、0.5 g/kg/回（投与量；0、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）、各 7 週間反復経皮投与し、その毒性を検討した。別に TK 測定群（雌雄各 3 匹/群）を設け、全身的曝露を検討した。

被験物質に起因する瀕死又は死亡例はなかった。2.0 mg/kg/day 以上の雌雄及び 0.5 mg/kg/day の雌で、被覆材で保護した投与部位の周辺（腰部又は側腹部）に創傷がみられた。2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で、体重及び摂餌量の低値が認められた。体重の低値は 0.5 mg/kg/day の雌でもみられた。生殖器の発育分化の観察では、8.0 mg/kg/day の雌で膣開口の遅れがみられた。

血液学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雄又は雌で血小板数の高値、白血球分類における数/比率の変動、APTT の延長がみられた。8.0 mg/kg/day の雌雄で網赤血球の高値がみられた。血液生化学的検査では、8.0 mg/kg/day の雌雄で CRE の低値、CHO の高値がみられ、雄で PL の高値がみられた。8.0 mg/kg/day の雌で、AST、ALT、ALP 及び CK の高値、IP 及び Ca の低値が

みられた。2.0 mg/kg/day 以上の雌雄で ALB 及び A/G の低値が、8.0 mg/kg/day の雌雄で TP の低値がみられた。

病理組織学的検査では、0.5 mg/kg/day 以上の雌及び 2.0 mg/kg/day 以上の雄で胸腺のマクロファージの増加及び 8.0 mg/kg/day の雌の胸腺で皮質のリンパ球の低値及びリンパ球の壊死が認められた。顎下リンパ節では 8.0 mg/kg/day の雌雄でマクロファージの増加が、同群の雄で皮質のリンパ球の低値が認められた。対照群を含むすべての群で腸間膜リンパ節のマクロファージの増加、脾臓の髄外造血亢進及び副腎球状帯の微細空胞化が認められ、それぞれの病変の程度は用量増加に伴い増強傾向がみられた。腸間膜リンパ節では 2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌で皮質リンパ球の低値が認められた。

以上の結果から、幼若 HWY ラット（22 日齢）の 7 週間反復経皮投与における無毒性量は、雄で 0.5 mg/kg/day、雌で 0.5 mg/kg/day 未満と判断された。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギ皮膚刺激性試験

（添付資料：＜4.2.3.6-1＞）

ウサギ（日本白色種雄、17 週齢 4 匹/群）の背部皮膚（Intact 及び Abraded）に、本剤の 0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2%を単回（0.5 g/部位）塗布し、24 時間閉塞した。塗布部位は、パッチ除去後 1、24、48、72 時間に Draize の評価基準に従って観察した。

その結果、塗布部位に紅斑及び浮腫は認められず、本剤は皮膚刺激性を示さなかった。

2.6.6.7.2 ウサギ眼刺激性試験

（添付資料：＜4.2.3.6-2＞）

ウサギ（日本白色種雄、11～12 週齢 3 匹/群）の左眼結膜嚢に、本剤の 0（基剤対照群）、0.01、0.05、0.2%を単回（0.1 g）点眼した。右眼は無処置とした。点眼部位は、投与後 1、24、48、72 時間及び最長 8 日まで Draize の評価基準に従って観察した。

その結果、本剤の刺激性はいずれの濃度においても投与後 24 時間で最大となり、それぞれの平均評価点は基剤対照群、0.01、0.05、0.2%群で 22.0、30.3、30.7、33.0（Moderately irritant）であった。そのため本剤の眼刺激性は基剤によるものと考えられた。

2.6.6.7.3 最終製剤及びその劣化品を用いたウサギ皮膚刺激性試験

（添付資料：＜4.2.3.6-3＞）

最終製剤及びその劣化品を用いた局所刺激性を検討した。ウサギ（日本白色種雄、17 週齢 4 匹/群）の背部皮膚（Intact 及び Abraded）に、本剤の 0.2%最終製剤、基剤及び 0.2%製剤劣化品（類縁物質[redacted]分解物A *[redacted]%[redacted]分解物A *[redacted]以外の類縁物質の合計[redacted]%）を単回（0.5

*情報提供時に置き換えを行った。

g/部位）塗布し、24 時間閉塞した。塗布部位は、パッチ除去後 1、24、48、72 時間に Draize の評価基準に従って観察した。

その結果、いずれの塗布部位にも紅斑及び浮腫は認められず、最終製剤及びその劣化品は皮膚刺激性を示さなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験

（添付資料：＜4.2.3.7-1＞）

Balb/c 3T3 細胞を用いた in vitro ニュートラルレッド取り込み試験によりシロリムスの光毒性を検討した。シロリムスの 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100、150、175 μg/mL（1%DMSO 培養液）を 3T3 細胞に 1 時間曝露した後、5J/cm^2/50 min の UVA を照射した。UVA 照射 18～22 時間後にニュートラルレッドの取り込みにより細胞生存率（IC_{50}）を求め、非照射の細胞生存率との比較により光毒性係数（PIF 値）を算出した。

その結果、IC_{50} は UVA 照射群で 32.7 μg/mL、非 UVA 照射群で 29.9 μg/mL であった。PIF 値は約 0.9（PIF＜2：光毒性なし）であることから、本試験条件下においてシロリムスに光毒性は認められなかった。

2.6.6.8.2 モルモット皮膚感作性試験（Adjuvant and Patch Test 法）

（添付資料：＜4.2.3.7-2＞）

モルモット（Slc:Hartley、6 週齢、雄 20 匹）を用い、Adjuvant and Patch Test 法[1)]により皮膚感作性を検討した。感作は、一次感作として Freund's complete adjuvant（FCA）を皮内投与した頸背部皮膚に本剤の 0（基剤）及び 0.8%を 3 日間、閉鎖塗布した。二次感作として、一次感作開始後 7 日に頸背部皮膚にラウリル硫酸ナトリウムを塗布し、翌日に一次感作と同様の感作物質を 48 時間閉鎖塗布した。惹起は、一次感作開始後 21 日目に本剤の 0（基剤）、0.05、0.2、0.8%を側腹部に開放塗布した。惹起終了後 24 及び 48 時間に Draize の皮膚刺激評価基準に従って皮膚反応を観察した。

その結果、本剤の 0（基剤）、0.05、0.2、0.8%のいずれにおいても紅斑及び浮腫は認められず、本剤の皮膚に対する感作性は陰性であった。

2.6.6.8.3 モルモット皮膚光感作性試験（Adjuvant and Strip 法）

（添付資料：＜4.2.3.7-3＞）

モルモット（Slc:Hartley、5～6 週齢、雄 20 匹）を用い、Adjuvant and Strip 法[2)3)]により皮膚光感作性を検討した。感作は、FCA を皮内投与した頸背部皮膚の角層をセロハンテープで剥離した後、本剤 0.8%を 5 日間塗布し、塗布ごとに UVA 10 J/cm^2 を照射した（被験物質感作

群)。対照として無処置（非感作群）及び陽性対照群（6-メチルクマリンで感作）を設けた。惹起は、感作開始後 21 日に本剤の 0（基剤)、0.05、0.2%を塗布し、UVA を同様に照射又は非照射した。惹起終了後 24 及び 48 時間に Draize の判定基準に従って皮膚反応を観察した。また、皮膚反応が認められた動物についてはその回復性を検討した。

試験結果を表 2.6.6-2 に示した。本剤 0.8%で感作し、本剤 0（基剤)、0.05、0.2%で惹起した場合、UVA が照射された塗布部位及びその周囲（非塗布部位）に明らかな紅斑が、惹起終了後 24 及び 48 時間に全例で認められた。また、ごく軽度な浮腫も各群 2/10 例に認められた。これらの皮膚反応は、惹起終了後 3 日以降経日的に減弱し、4 日以降には鱗屑がみられ、惹起終了後 5～12 日に消失した。

一方、惹起時に UVA を照射しなかった場合では紅斑はなかった。また、非感作群に本剤 0（基剤)、0.05、0.2%で惹起した場合でも紅斑はなかった。

これらの結果から、本剤又は基剤成分が皮膚光感作性を有する可能性又は光線過敏様反応を誘発する可能性が示された。

表 2.6.6-2 モルモット皮膚光感作性試験の結果（Adjuvant and Strip 法）

感作 (感作物質)	惹起					
	惹起物質	惹起後時間 皮膚反応	UVA 照射部位		UVA 非照射部位	
			24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
非感作群 (無処置)	基剤	紅斑・浮腫	−	−	−	−
	本剤 0.05%	紅斑・浮腫	−	−	−	−
	本剤 0.2%	紅斑・浮腫	−	−	−	−
被験物質群 (本剤 0.8%)	基剤	紅斑	2(10/10) a*	2(10/10) *	−	−
		浮腫	1(2/10)	1(2/10)		
	本剤 0.05%	紅斑	2(10/10) *	2(10/10) *	−	−
		浮腫	1(2/10)	1(2/10)		
	0.2%	紅斑	2(10/10) *	2(10/10) *	−	−
		浮腫	1(2/10)	1(2/10)		
陽性対照群 (5% 6-MC)	アセトン	紅斑・浮腫	−	−	−	−
	1% 6-MC	紅斑	2(5/5)	2(5/5)	−	−
		浮腫	1(5/5)	1(5/5)		

−：全例皮膚反応なし、a：評点（発現例数/対象動物数)、*：塗布部位周囲（非塗布部位）の UVA が照射された部位にも紅斑がみられた、6-MC：6-メチルクマリン

2.6.6.8.4 モルモット皮膚光感作性試験の補足試験（Kochever 法）

（添付資料：＜4.2.3.7-4＞）

先に実施した Adjuvant and Strip 法による皮膚光感作性試験（添付資料：＜4.2.3.7-3＞）に対し、アジュバントを使用しない Kochever の感作方法[4)]について皮膚光感作性を検討した。

モルモット（Slc:Hartley、5～6 週齢、雄 23 匹）を用い、感作のため頸背部皮膚の角層をセロハンテープで剥離した後、感作物質の本剤 0.8%を 48 時間間隔で 5 回塗布し、塗布ごとに UVB 6.6 J/cm^2 及び UVA 10.2 J/cm^2 を照射した。対照として無処置（非感作群）、基剤対照群及び陽性対照群（テトラクロロサリチルアニリドで感作）を設けた。惹起は感作開始後 21 日に本剤（基剤、0.05、0.2%）を背部に塗布し（被験物質感作群では無処置惹起を追加）、UVA 10.2 J/cm^2 を照射した。惹起終了後 24 及び 48 時間に Draize の判定基準に従って皮膚反応を観察した。なお、皮膚反応が認められた動物についてはその回復性を検討するとともに、一部の動物では皮膚の病理組織学的検査を実施した。

試験結果を表 2.6.6-3 に示した。被験物質感作群では基剤及び本剤惹起並びに無処置惹起（UVA 照射のみ）の惹起終了後 24 時間で、UVA 照射部皮膚にごく軽度又は明らかな紅斑が全例に認められた。惹起終了後 48 時間では、被験物質感作群の全例で UVA 照射された部位にごく軽度な紅斑が認められた。紅斑は惹起終了後 6 日に消失した。なお、紅斑部位の真皮では軽度な炎症性細胞の浸潤が認められた。非感作群及び基剤感作群では異常はなかった。

以上のように、被験物質感作―無処置惹起群において紅斑が認められ、被験物質感作―被験物質惹起群における塗布部位周囲（非塗布部位）で UVA が照射された部位にも紅斑が認められたことから、本剤には光感作性物質の再接触と UVA によって皮膚炎が惹起されるような皮膚光感作性はなく、光線過敏様皮膚反応を誘発する特性を有する可能性が示唆された。

表 2.6.6-3 モルモット皮膚光感作性試験の結果（Kochever 法）

感作（感作物質）	惹起				
	惹起後時間 / 惹起物質	UVA 照射部位の紅斑		UVA 非照射部位の紅斑	
		24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
非感作群（無処置）	基剤	－	－	－	－
	本剤 0.05%	－	－	－	－
	本剤 0.2%	－	－	－	－
対照群（基剤）	基剤	－	－	－	－
	本剤 0.05%	－	－	－	－
	本剤 0.2%	－	－	－	－
被験物質群（本剤 0.8%）	無処置	2(3/3)[a]	1(3/3)	－	－
	基剤	1～2(5/5) *	1(5/5) *	－	－
	本剤 0.05%	1～2(5/5) *	1(5/5) *	－	－
	本剤 0.2%	1～2(5/5) *	1(5/5) *	－	－
陽性対照群（3.0% TCSA）	エタノール	－	－	－	－
	0.5% TCSA	1(2/5)	1(5/5)	－	－
	1.0% TCSA	1(2/5)	1(5/5)	－	－

－：全例皮膚反応なし、a：評点（発現例数/対象動物数）、＊：塗布部位周囲（非塗布部位）の UVA が照射された部位にも紅斑がみられた、TCSA：3,3',4',5-テトラクロロサリチルアニリド

2.6.6.8.5 モルモット光線過敏様皮膚反応の誘発に関する検討試験 1 （Kochever 法）

（添付資料：＜4.2.3.7-5 参＞）

Kochever 法において本剤の感作と UVA 照射のみの惹起で紅斑が認められ、本剤が光線過敏様皮膚反応を誘発する可能性が示唆されたことから（添付資料：＜4.2.3.7-4＞）、前章と同一条件で本剤を感作後、UVA 照射のみで惹起し、本剤の感作に関してシロリムス濃度（投与量）及び基剤の影響を検討した。

試験結果を表 2.6.6-4 に示した。紅斑の発現は本剤の感作濃度に依存し、0.05%の感作濃度では紅斑はみられず、0.2 及び 0.8%ではごく軽度又は明らかな紅斑が認められた。また、エタノール、イソプロピルアルコールなどの基剤による差は明らかではなかった。

表 2.6.6-4 モルモット光線過敏様皮膚反応の結果（Kochever 法）

感作		惹起　（無処置：UVA 照射の有無のみ）			
		UVA 照射部位の紅斑		UVA 非照射部位の紅斑	
シロリムス濃度	基剤	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
0%	エタノール	－	－	－	－
0.2%		1(1/3) [a]	－	－	－
0.8%		1～2(3/3)	1(3/3)	－	－
0.2%	ワセリン軟膏	1～2(3/3)	1(3/3)	－	－
0.05%	イソプロピルアルコール	－	－	－	－
0.2%		1(3/3)	1(2/3)	－	－
0.8%		1～2(3/3)	1(3/3)	－	－

－：全例皮膚反応なし、a：評点（発現例数/対象動物数）

2.6.6.8.6 モルモット光線過敏様皮膚反応の誘発に関する検討試験2(Kochever 法)

（添付資料：＜4.2.3.7-6 参＞）

前章の検討試験 1 の感作条件に遮光剤の塗布を加え、光線過敏様皮膚反応に対する影響を検討した。遮光剤を使用する群については、5 回の感作物質のそれぞれの塗布後 30 分又は 8 時間に遮光剤（スーパーサンシールド EX SPF50+･PA ++++）を塗布し、前記と同一条件で UVB 及び UVA の照射を行った。また、惹起時においても遮光剤を塗布し、UVA を照射する部位を設けた。

試験結果を表 2.6.6-5 に示した。被験物質で感作したすべての群において、惹起後 24 時間でごく軽度（評点 1）の紅斑が認められた。惹起後 48 時間でも紅斑はみられたが、その発現率は 24 時間の観察に比べ減少した。感作後 30 分又は 8 時間に遮光剤を塗布し UV 照射した場合では紅斑が認められたが、惹起時に遮光剤を塗布し UVA 照射した場合では紅斑は認められなかった。また、UVA の非照射部位では遮光剤の有無にかかわらず紅斑を認めなかった。

以上の結果から、感作部位に遮光剤を塗布しても、惹起時の UV 照射で紅斑がみられたが、惹起時の UV 照射部位に遮光剤を塗布した場合では紅斑は認められず、UVA の遮光効果が認められた。

表 2.6.6-5 モルモット光線過敏様皮膚反応の結果（UVA 照射部位）

感作		惹起（UVA 照射部位）			
シロリムス濃度	遮光剤の塗布	遮光剤非塗布		遮光剤塗布	
		24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
0%	無	-	-	-	-
	塗布（30 分[*1]）	-	-	-	-
0.05%	無	紅斑 1[*2]（1/5 例）	-	-	-
0.1%	無	紅斑 1(3/5 例)	-	-	-
	塗布（30 分）	紅斑 1(4/5 例)	紅斑 1(3/5 例)	-	-
0.2%	無	紅斑 1(4/5 例)	紅斑 1(1/5 例)	-	-
	塗布（30 分）	紅斑 1(4/5 例)	紅斑 1(2/5 例)	-	-
	塗布（8 時間）	紅斑 1(5/5 例)	紅斑 1(3/5 例)	-	-
0.8%	無	紅斑 1(4/4 例)	紅斑 1(4/4 例)	-	-

-：全例皮膚反応なし、*1：感作物質塗布後から遮光剤の塗布までの時間、*2：評点（発現例数/動物数）

2.6.6.8.7 最終製剤を用いたモルモット皮膚光感作性試験（Kochever 法）

（添付資料：＜4.2.3.7-7＞）

最終製剤を用いて皮膚光感作性（Kochever 法）を検討した。モルモット（Slc:Hartley、5～6 週齢、雄 20 匹）を用いて、感作群には本剤 0.8%群、基剤対照群及び陽性対照群（テトラクロロサリチルアニリドで感作）を設けた。感作開始後 21 日に、陽性対照群を除くそれぞれの感作群の背部に無処置、基剤及び本剤 0.2%（最終製剤）を塗布して惹起した。陽性対照群にはエタノール又はテトラクロロサリチルアニリドを塗布した。感作及び惹起の方法、UV 照射条件及び皮膚反応の観察は、前項の 2.6.6.8.4 モルモット皮膚光感作性試験の補足試験（Kochever 法）（添付資料：＜4.2.3.7-4＞）と同様の条件とした。

試験結果を表 2.6.6-6 に示した。被験物質感作群では無処置惹起を含めて基剤及び本剤 0.2%の惹起終了後 24 時間で、UVA 照射部皮膚の全例に紅斑が認められた。基剤及び本剤 0.2%の惹起では、塗布部位周囲（非塗布部位）の UVA が照射された部位にも紅斑がみられた。惹起終了後 48 時間においても、被験物質感作群の全例にごく軽度な紅斑が認められた。紅斑は惹起終了後 5 日に消失した。UVA を照射しない部位には紅斑はなく、また、基剤感作群（対照群）ではいずれの惹起物質でも異常はなかった。

以上、被験物質感作群では無処置惹起を含め、基剤及び本剤（最終製剤）の惹起で UVA 照射部皮膚に紅斑がみられ、先に実施した試験（添付資料：＜4.2.3.7-4＞）と同様の結果であった。

表 2.6.6-6 モルモット皮膚光感作性試験の結果（Kochever 法）

感作（感作物質）	惹起				
	惹起後時間 ＼ 惹起物質	UVA 照射部位の紅斑		UVA 非照射部位の紅斑	
		24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
対照群（基剤）	無処置	−	−	−	−
	基剤	−	−	−	−
	本剤 0.2%	−	−	−	−
被験物質群（本剤 0.8%）	無処置	1.4(10/10)[a]	1.1(10/10)	−	−
	基剤	1.4(10/10) *	1.1(10/10) *	−	−
	本剤 0.2%	1.4(10/10) *	1.1(10/10) *	−	−
陽性対照群（3.0% TCSA）	無処置	−	−	−	−
	エタノール	−	−	−	−
	0.5% TCSA	1.2(4/5)	1.6(5/5)	0.2(1/5)	0.6(2/5)

−：全例皮膚反応なし、a：評点（発現例数/対象動物数）、*：塗布部位周囲（非塗布部位）の UVA が照射された部位にも紅斑がみられた、TCSA：3,3',4',5-テトラクロロサリチルアニリド

2.6.6.8.8 不純物の安全性評価

2.6.6.8.8-1 個別規格を設定する不純物の毒性評価

シロリムスの原薬製造工程由来の不純物で安全性確認の閾値を超える類縁物質 A(規格限度値[redacted]%)及び本剤の製剤製造工程において生じる分解物で規格限度値が安全性確認の閾値を超える[redacted]（規格限度値[redacted]%）については、「ラパリムス錠 1 mg」の承認申請時に実施されたラット 4 週間反復経口投与毒性試験において安全性に問題ないことが確認されている。

2.6.6.8.8-2 不純物の遺伝毒性の検討

（添付資料：＜4.2.3.7-8 参＞）

「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（薬生審査発 1110 第 3 号　平成 27 年 11 月 10 日）」に準拠し、本薬の原薬製造工程由来の不純物＜2.3.S.3.2＞、製剤中に存在が予想される分解生成物＜2.3.P.5.5＞及びシロリムスの互変異性体＜2.3.S.3.1＞の化学構造について、対象となる 10 物質（類縁物質 A、類縁物質 B1、類縁物質 B2、類縁物質 C、類縁物質 D、類縁物質 E、類縁物質 F1、類縁物質 F2、[redacted]、シロリムス異性体 C)の in silico 変異原性予測を実施した。変異原性試験結果を予測する(Q)SAR 法は、知識ベースの DEREK 及び統計ベースの MultiCASE を用い、変異原性（Ames 試験）をエンドポイントとして対象物質の警告構造の有無を判断し、in silico 総合評価を行った。

In silico 予測の結果、対象となる不純物 10 物質のすべての化学構造に警告構造のないことが示されたことから、これら 10 物質には変異原性に関する懸念がないと結論された。

*情報提供時に置き換えを行った。

2.6.6.9 考察

シロリムスの毒性については、経口投与製剤である「ラパリムス錠 1 mg」の承認申請にあたって実施された単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性等の試験により既に評価されている。本剤の開発にあたってシロリムスの経皮投与による毒性を評価するために実施された試験成績の毒性学的意義について以下のように考察した。

1) 投与経路の違いによるラット及びサルの反復投与毒性試験成績の比較

経皮投与及び経口投与による SD ラット 13 週間反復投与毒性試験成績及びサル 13 週間反復投与毒性試験成績を比較し表 2.6.6-7、表 2.6.6-8 に示した。

ラットの経口投与[5)]では、雄の 0.5 mg/kg/day 以上で体重の低値、2.0 mg/kg/day 以上で摂餌量の高値がみられ、白内障が観察された。また、2.0 mg/kg/day 以上で膵島細胞の空胞化に伴う糖尿病様症状（グルコースの高値と血液濃縮）、及び免疫抑制作用による好中球比の高値とリンパ球比の低値がみられた。剖検では、2.0 mg/kg/day 以上で精巣の小型化がみられた。病理組織学的検査では、2.0 mg/kg/day 以上の雄で精細管の萎縮、0.5 mg/kg/day 以上で肺胞マクロファージの集簇、心筋変性、腎臓のミネラル沈着が認められ、無毒性量は 0.5 mg/kg/day 未満であった。経皮投与では、雄の 0.5 及び 2.0 mg/kg/day で体重の低値がみられたが、雌では変化はなかった。2.0 mg/kg/day 以上の雌、8.0 mg/kg/day の雄で赤血球系の高値が、8.0 mg/kg/day の雄でリンパ球比の低値及び ALT の高値など経口投与と同様の変化がみられた。その他、8.0 mg/kg/day で肺の重量の高値がみられ、病理組織学的検査では肺胞マクロファージの集簇（中等度）が 2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌で認められた。無毒性量は雄で 0.1 mg/kg/day、雌で 2.0 mg/kg/day であった。

一方、サルの経口投与[6)]では、0.5 mg/kg/day 以上で慢性的な下痢/軟便を伴う大腸炎/盲腸炎がみられ、体重の低値及び衰弱を呈し、死亡/瀕死状態がみられた。病理組織学的検査では脾臓、胸腺、リンパ節でのリンパ萎縮がみられ、無毒性量は 0.5 mg/kg/day 未満であった。これに対し、経皮投与では CK の高値を除き特記すべき異常は認められず、無毒性量は 4 mg/kg/day であった。

以上のように、経口投与では、シロリムスの免疫抑制作用若しくは長期間の免疫抑制状態による二次的な変化が多様な組織・器官において観察されたが、経皮投与ではこれらの変化は限定的であり、新たな毒性も認められなかった。また、ラット及びサルの経皮投与の曝露量はいずれも経口投与より低値であった（表 2.6.6-9）。

表 2.6.6-7 ラット 13 週間反復投与毒性試験（経口・経皮）成績の比較

投与経路	経口投与						経皮投与							
投与量	0.5		2.0		5.0		0.1		0.5		2.0		8.0	
(mg/kg/day)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	20	20	20	20	20	20	10	10	10	10	10	10	10	10
体重	↓	－	↓	－	↓	↓	－	－	↓	－	↓	－	－	－
摂餌量	－	－	↑	－	↑	－	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科検査（白内障）	－	－	↑	－	↑	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査														
RBC･Hb･Ht	－	↑	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	↑	↑	↑
好中球比	↑	－	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
リンパ球比	↓	－	↓	↓	↓	↓	－	－	－	－	－	－	↓	－
血液生化学的検査														
GLU	－	－	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
ALT	－	－	－	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	↑	－
器官重量　肺	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	↑	↑
精巣	－		↓		↓		－		－		－		－	
子宮		↓		↓		↓		－		－		－		－
病理組織学的検査														
精細管の萎縮	－		↑		↑		－		－		－		－	
膵島細胞の空胞化	－	－	↑	－	↑	－	－	－	－	－	－	－	－	－
肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞ	↑	↑	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	↑	－	↑	↑
心筋変性	↑	↑	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
腎ミネラル沈着	↑	↑	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－

－：対照群に比し変化なし、↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値

表 2.6.6-8 サル 13 週間反復投与毒性試験（経口・経皮）成績の比較

投与経路	経口投与						経皮投与							
投与量	0.5		5.0		10.0		0.05		0.25		1.0		4.0	
(mg/kg/day)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	6	6
死亡/瀕死期屠殺	1	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
症状（下痢・軟便）	↑	↑	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
体重・摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査														
フィブリノーゲン	－	↑	－	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査														
CK	↑	↑	↑	↑	－	↑	－	－	－	－	↑	－	↑	↑
TP	－	－	↓	－	↓	－	－	－	－	－	－	－	－	－
ALB	－	－	↓	↓	↓	↓	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査														
大腸炎・盲腸炎	↑	－	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－
リンパ萎縮（脾臓、胸腺、リンパ節）	↑	－	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	－	－	－	－

－：対照群に比し変化なし、↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値、

表 2.6.6-9 経口及び経皮投与での曝露量（AUC_{0-24h}）の比較（ng·h/mL）

投与量 (mg/kg/day)	ラット				サル			
	経口[a]（3 週*）		経皮[b]（13 週）		経口[c]（2 週）		経皮[d]（13 週）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.1			2.8	3.7				
0.2	17.9	7.9						
0.25							10.94	10.75
0.5			6.2	4.7	218			
0.65	40.1	25.1						
1.0							33.40	28.58
2.0	101	71.5	17.8	9.7				
4.0							78.92	87.21
6.0	430	304						
8.0			23.2	16.5				

*：採血時期、a：ラット 52 週経口投与[7]、b：ラット 13 週経皮投与、c：サル 2 週経口投与[8]、d：サル 39 週経皮投与

2）反復経皮投与毒性試験における無毒性量と臨床用量の関係について

ラット及びサルの反復投与毒性試験の無毒性量とその最高血液中濃度(C_{max})を表 2.6.6-10 に示した。臨床試験（第Ⅲ相試験、0.2%製剤投与時）において測定された全血中シロリムス濃度は、投与開始 12 週後で 70%の患者で検出され、その平均濃度は 0.24 ng/mL であった(＜2.7.2.2.3＞)。これを反復投与毒性試験の無毒性量における最高血液中濃度（C_{max}）と比較すると、ラット（13 週間投与試験）の雄で 0.8 倍、雌で 2.0 倍、サル（39 週間投与試験）の雄で 1.7 倍、雌で 1.8 倍の安全域があるものと考えられた。

表 2.6.6-10 反復経皮投与毒性試験の無毒性量と臨床用量での曝露量の比較

試験	性	無毒性量 (mg/kg/day)	無毒性量での C_{max} (ng/mL)[a]	曝露量比[b]
ラット 13 週間経皮投与	雄	0.1	0.20	0.8
	雌	2.0	0.49	2.0
サル 13 週間経皮投与	雄	4.0	2.71	11.3
	雌	4.0	1.31	5.5
サル 39 週間経皮投与	雄	0.25	0.41	1.7
	雌	0.25	0.44	1.8

a：最終投与時の値、b：NPC-12G（0.2%）を皮膚病変に 1 日 2 回投与したときの投与開始 12 週後の任意測定時間の全血中シロリムス濃度の平均(0.24ng/mL)との比較（2.7.2.2.3）

3）サル 39 週間反復経皮投与における瀕死例（大腸炎）について

サル 39 週間反復経皮投与毒性試験において 4.0 mg/kg/day の雄 1 例及び 1.0 mg/kg/day の雌 1 例で、それぞれ投与 36 週及び 32 週以降に軟便、下痢がみられ、体重及び摂餌量の低値、自発運動の減少、横臥位、刺激に対する反応性の低下あるいは体温低下を呈したため瀕死期屠殺した。病理組織学的検査では、盲腸炎、結腸炎あるいは直腸炎が共通して認められた。さらに

雌では、盲腸及び結腸に多量のガスが貯留・拡張し、この物理的圧迫に起因すると考えられる消化管の変化（うっ血、線維素様血栓、出血、粘膜上皮の単細胞壊死及び剥離など）もみられた。そのため大腸炎が契機となり、軟便・下痢に伴う脱水、栄養不良及び腸内細菌叢の内毒素などの障害により、瀕死状態を招いたものと推察された。

死亡・瀕死例の発現に投与量との関連性は明らかではなかったが、別に実施されたシロリムスのサルの 13 週及び 26 週反復経口投与毒性試験[6)9)]においても、経皮投与の場合と同様に投与期間中に軟便、下痢及び大腸炎がみられ、表 2.6.6-11 に示す死亡・瀕死動物が認められた。経口投与の場合にも個体差がみられたが、高用量群では死亡・瀕死動物が増加する傾向にあり、シロリムス投与との関連があるものと考えられる。個体差の要因は明らかではないが、須藤は各種実験動物のストレスによる腸内細菌叢の変化について概説[10)]しており、サルでは胎生期・幼若期のストレス（母動物への驚愕性音響、親サルとの分離）が腸内細菌叢を変動させることが報告[11)12)]されている。大腸炎の発現にはこのような腸内細菌叢の個体差が関与したとも考えられる。

大腸炎はマウス、ラットの反復経口投与毒性試験では認められず、ヒトにおいても外国での臓器移植患者を対象とした臨床試験では 0.2%（8/3,416 例）と、頻度は極めて低い。本剤の第Ⅲ相試験においても大腸炎などの消化器症状は認められていない（<2.7.4.2.1>）。また、類似構造のテムシロリムス[13)]、エベロリムス[14)]などに大腸炎に対する注意喚起はみられないことから、サルではシロリムスに対する感受性が大腸で高いものと考えられ、ヒトでのリスクが強く懸念される所見ではないと判断した。

表 2.6.6-11 シロリムスのサル経口投与毒性試験における死亡・瀕死動物

	用量（mg/kg）	雄	雌
13 週経口投与	対照	0/3*	0/3
	0.5	1/3　(12w)#	0/3
	5	0/3	2/3　(4,11w)
	10	1/3　(9w)	2/3　(9,12w)
26 週経口投与	対照	0/3	0/3
	0.05	0/3	0/3
	0.25	0/3	0/3
	0.5	1/6　(23w)	1/6　(22w)

*：発現数/検査数、#：死亡・瀕死期屠殺の時期

4）幼若動物に対する影響について

幼若ラット（SD 系 22 日齢）を用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験（用量：0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）では、2.0 mg/kg/day 以上において血液学的検査（Hb・Ht の高値、好中球比の高値とリンパ球比の低値、血小板数の低値）、血液生化学的検査（AST・ALT の高値）、並びに病理組織学的検査（肺胞マクロファージの集簇）に影響が認められた。無毒性量は、雌雄とも 0.5 mg/kg/day と判断された。

ラット（SD 系 6 週齢）13 週間反復経皮投与毒性試験（用量：0、0.1、0.5、2.0、8.0 mg/kg/day）

では、0.5 mg/kg/day 以上の雄で体重の低値、2.0 mg/kg/day 以上又は 8.0 mg/kg/day で赤血球系の高値、リンパ球比の低値、AST・ALT などの高値がみられ、また、2.0 mg/kg/day 以上の雄及び 8.0 mg/kg/day の雌で肺胞マクロファージの集簇が認められ、8.0 mg/kg/day の雌雄で肺重量の高値がみられた。無毒性量は、雄で 0.1 mg/kg/day、雌で 2.0 mg/kg/day と判断された（表 2.6.6-12）。成獣ラットと幼若ラットでの毒性パラメータの変動には大きな差異はなく、いずれの所見も本剤の免疫抑制作用あるいはその二次的作用に基づくものと考えられた。両者の無毒性量にも大差はないことから（幼若：0.5 mg/kg/day、成獣：雄 0.1、雌 2.0 mg/kg/day ）、幼若ラットにおける特異な毒性はないと考えられる。

なお、HWY ラットを用いた幼若（22 日齢）及び成獣（6 週齢）ラットの毒性試験成績は、両者とも体重・摂餌量の低値、血液学的検査（白血球系の変動など）、血液生化学的検査（肝酵素活性の上昇など）に影響がみられ、病理組織学的変化（胸腺又は肺胞のマクロファージの増加など）が観察され、各種毒性パラメータの変動には大きな差異はなかった。また、両者の無毒性量（幼若：雄 0.5 mg/kg/day、雌 0.5 mg/kg/day 未満、成獣：雌雄 0.5 mg/kg/day 未満 ）にも差はなかった。

表 2.6.6-12 幼若及び成獣ラット(SD)における反復経皮投与毒性試験成績の比較

投与量(mg/kg/day)	幼若ラット（4 週間投与）						成獣ラット（13 週間投与）					
	0.5		2.0		8.0		0.5		2.0		8.0	
動物数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
体重	－	－	－	－	－	－	↓	－	↓	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査												
RBC･Hb･Ht	－	－	－	↑	↑	↑	－	－	－	↑	↑	↑
好中球比	－	－	－	－	－	↑	－	－	－	－	－	－
リンパ球比	－	－	－	－	－	↓	－	－	－	－	↓	－
PLT	－	－	－	－	↓	↓	－	－	－	－	－	－
生化学的検査												
AST・ALT	－	－	↑	↑	↑	↑	－	－	－	－	↑	－
CHO	－	－	－	－	－	－	－	－	↑	－	↑	－
PL	－	－	－	－	－	－	－	－	↑	－	↑	－
器官重量												
胸腺	－	－	－	－	↓	↓	－	－	－	－	－	－
肺	－	－	－	↑	－	↑	－	－	－	－	↑	↑
病理組織学的検査												
胸腺ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞ	－	－	－	－	↑	－	－	－	－	－	－	－
肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞ a	－	－	－	－	↑	↑	－	－	↑	－	↑	↑
無毒性量	雌雄 0.5 mg/kg/day						雄：0.1、雌：2.0 mg/kg/day					

－：対照群に比し変化なし、↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値、a：中等度の変化

5）経皮投与による発がん性について

先のラパリムス錠の添付資料における経口投与によるがん原性試験では、マウスでリンパ腫、肝細胞癌（雄）及び顆粒球性白血病（雌）の増加、ラットで精巣間細胞腺腫の増加が認められ

た。これらの腫瘍の増加は、自然発生腫瘍として知られた腫瘍がシロリムスの免疫抑制作用により増強されたものと考えられた。シロリムスには、遺伝毒性がないことからも、これらの腫瘍の増加はヒトへの外挿性を有する所見ではないと考えられた。

投与部位である皮膚への長期投与に対する影響を、マウス中期皮膚がん原性試験（皮膚二段階発がんモデル）により検討した。その結果、本剤 0.8%濃度（臨床投与量の 4 倍）までの投与で皮膚の過形成あるいは腫瘍性病変は観察されず、皮膚に対し発がん促進作用を示さないことが確認された。また、サル 39 週間経皮投与毒性試験の経皮投与部位においても異常は認められなかった。このため本剤の投与部位である皮膚局所におけるがん原性の懸念は少ないものと考えられた。

6）皮膚光感作性について

モルモットの皮膚光感作性試験（Adjuvant and Strip 法）において、本剤の惹作及び惹起（＋UVA 照射）により UVA の照射された塗布部位及びその周囲の非塗布部位で紅斑が認められた。アジュバントを使用しない Kochever 法においても同様の紅斑が認められ、また、惹起時に本剤を塗布せず UVA 照射のみでも紅斑が認められた。このように本剤には再接触と UVA によって皮膚炎が惹起されるような皮膚光感作性はないものの、光線過敏様皮膚反応を誘発する作用が認められた。また、最終製剤を用いた場合でも同様の結果であった。

本剤のウサギ皮膚刺激性及びモルモットの皮膚感作性はともに陰性で、光毒性試験（3T3 細胞による in vitro 光毒性及びウサギ経口投与後の皮膚の UVA 照射）においても光毒性反応は認められなかった。

感作後に皮膚反応が UVA 照射のみで発現する点では、ヒトにおける慢性光線過敏性皮膚炎（CAD）が類似している。CAD では、光接触性皮膚炎や薬剤性光線過敏症が引き金となり、光抗原が除去されても皮膚の光に対する特性が存続する。こうした光抗原無くして光線過敏が起こる機序は未だ明瞭ではないが、UV が表皮細胞の表面に何らかの物質を誘導し、それを自己反応性 T 細胞が認識して皮膚炎を起こす可能性が考えられている [15)]。本剤の臨床試験において光感作性あるいは光線過敏を強く疑わせる有害事象は報告されていないが（＜2.7.4.2.1＞）、同効他剤のうち免疫抑制作用を主作用とした場合には、UV 曝露の制限、遮光剤使用の推奨などの注意喚起がなされている。本剤では投与部位である皮膚での曝露量が高くなることも考えられるので、本剤の臨床使用に際しては紫外線の曝露を避ける等の対策が必要であることを情報提供する必要がある。

2.6.6.10 参考文献

1) Sato Y, Katsumura Y, Ichikawa H, et al. A modified technique of guinea pig testing to identify delayed hypersensitivity allergens. Contact Dermatitis. 1981;7:225-37 ＜4.3.4-1 参＞
2) 市川秀之. 光感作試験法. 香粧会誌. 1984;8(4):337-47 ＜4.3.4-2 参＞
3) 佐藤悦久. 勝村芳雄. 市川秀之. 小林敏明. 中嶋啓介. モルモットによる光接触感作性試験法（Adjuvant-Strip 法）. 西日皮膚. 1980;42:831-7 ＜4.3.4-3 参＞
4) Kochever IE, Zalar GL, Einbinder J, Harber LC. Assay of contact photosensitivity to musk ambrette in guinea pigs. J Invest Dermatol. 1979;73(2);144-6 ＜4.3.4-4 参＞
5) [redacted]: Rapamycin - three month oral (gavage) toxicity study with recovery - rat([redacted]). [redacted] 社社内資料. 1995 年 ＜4.3.4-5 参＞
6) [redacted]: Rapamycin three month oral (gavage) toxicity study with one month interim sacrifice - monkey ([redacted]). [redacted] 社社内資料. 1991 年 ＜4.3.4-6 参＞
7) [redacted]: Fifty-two week oral (gavage) toxicity study in rats([redacted]). [redacted] 社社内資料. 1995 年 ＜4.3.4-7 参＞
8) Rapamycin: Multiple(14 days) and single dose oral (gavage) pharmacokinetic study following a dose of 0.5 mg/kg in cynomolgus monkeys([redacted]). [redacted] 社社内資料. 1994 年 ＜4.3.4-8 参＞
9) Rapamycin: Six month oral (gav) toxicity study with recovery - monkey. [redacted] 社内資料. 1993 年 ＜4.3.4-10 参＞
10) 須藤信行. ストレスと腸内フローラ. 腸内細菌学雑誌 2005;19:25-9 ＜4.3.4-11 参＞
11) Bailey MT, Coe CL. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. Dev Psychobiol. 1999;35:146-55. ＜4.3.1-12 参＞
12) Bailey MT, Lubach GR, Coe CL. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;38:414-21. ＜4.3.1-13 参＞
13) トーリセル点滴静注液 25 mg（テムシロリムス点滴静注液），添付文書，2015 年 6 月改訂（第 4 版），ファイザー株式会社 ＜4.3.1-14 参＞
14) アフィニトール錠 2.5 mg，5 mg（エベロリムス錠），添付文書，2016 年 8 月改訂（第 11 版），ノバルティスファーマ株式会社 ＜4.3.1-15 参＞
15) 戸倉新樹. 光アレルギーの発症機序と対策. 日内科会誌. 2007;96:146-52 ＜4.3.1-16 参＞

ラパリムスゲル0.2%

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7　毒性試験概要表

ノーベルファーマ株式会社

目次

2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験の一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表 7
2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質の一覧表 8
2.6.7.5 単回投与毒性試験 9
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 9
2.6.7.7 反復投与毒性試験 10
2.6.7.7.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む） 10
2.6.7.7.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む） 13
2.6.7.7.3 サルの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む） 16
2.6.7.7.4 サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験 18
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 20
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 20
2.6.7.10 がん原性試験 21
2.6.7.10.1 マウス中期皮膚発がん性試験 21
2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験） 22
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 22
2.6.7.13 生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験 22
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動物の機能に関する試験 22
2.6.7.15 新生児を用いた試験 23
2.6.7.15.1 幼若 SD ラットの 4 週間反復経皮投与毒性試験 23
2.6.7.15.2 幼若 HWY ラットの 7 週間反復経皮投与毒性試験 25
2.6.7.16 局所刺激性試験 28
2.6.7.17 その他の試験 28

試験製剤一覧

製剤	使用された試験（資料番号）	処方
ラパリムスゲル（本剤）	＜[redacted]にて製造＞ 4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-3、4.2.3.2-4、4.2.3.4-1 参、4.2.3.4-2、4.2.3.5.4-1、4.2.3.6-1、4.2.3.6-2、 ＜[redacted]にて製造（最終製剤）＞ 4.2.2.2-1、4.2.3.6-3、4.2.3.7-7	シロリムス濃度 0～0.8%のエタノール含有水性ゲル剤。添加物としてカルボキシビニルポリマー、エタノール、トリエタノールアミン、精製水を含む。
	＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.2-2、 4.2.3.5.4-2、4.2.3.7-2、4.2.3.7-3、 4.2.3.7-4、4.2.3.7-5 参、4.2.3.7-6 参	大阪大学が製造したシロリムス濃度 0～0.8%のエタノール含有水性ゲル剤。添加物としてカルボキシビニルポリマー、エタノール、[redacted]、精製水を含む。
シロリムス軟膏	＜研究者の施設にて製造＞ 4.2.1.1-1 参 ＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.7-5 参	シロリムス濃度 0～0.8%の軟膏。添加物として、ワセリンを含む。
その他のシロリムス外用剤	＜大阪大学薬剤部にて製造＞ 4.2.3.7-5 参	シロリムス濃度 0～0.8%のイソプロピルアルコール製剤。

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

被験物質：本剤*

試験の種類		動物種	投与経路・期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施場所（報告年）	試験番号	添付資料
単回投与毒性試験		SD ラット	経皮・単回（2回/日）	0、0.1、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.1-1〉
反復投与毒性試験		SD ラット	経皮・13 週（4 週回復）	0、0.1、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.2-1〉
		HWY ラット	経皮・13 週（7 週回復）	0、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.2-2〉
		カニクイザル	経皮・13 週（4 週回復）	0、0.05、0.25、1.0、4.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.2-3〉
		カニクイザル	経皮・39 週	0、0.25、1.0、4.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.2-4〉
がん原性試験		ICR マウス	経皮・4 週（予備試験）	0、0.2、0.8%	非	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.4-1 参〉
		ICR マウス	経皮（中期皮膚発がん性）	0、0.2、0.8%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.4-2〉
新生児の試験		幼若 SD ラット	経皮・4 週	0、0.1、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.5.4-1〉
		幼若 HWY ラット	経皮・7 週	0、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.5.4-2〉
局所刺激性試験	皮膚刺激	JW ウサギ	塗布・1回	0、0.01、0.05、0.2%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.6-1〉
	眼刺激	JW ウサギ	点眼・1回	0、0.01、0.05、0.2%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.6-2〉
	皮膚刺激（最終製剤）	NZW ウサギ	塗布・1回	0、0.2%最終製剤、劣化品	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.6-3〉
その他の試験	光毒性	3T3 細胞	in vitro	0、3.125～175 μg/mL	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-1〉
	皮膚感作性	Hartleyモルモット	塗布・Adjuvant & Patch Test法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2、0.8%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-2〉
	皮膚光感作性	Hartley モルモット	塗布・Adjuvant & Strip 法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-3〉
	皮膚光感作性（補足）	Hartley モルモット	塗布・Kochever法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.05、0.2%	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-4〉
	光線過敏様皮膚反応（検討）	Hartley モルモット	塗布・Kochever法	感作：0、0.05、0.2、0.8% 惹起：－	非	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-5 参〉
	光線過敏様皮膚反応（検討 2）	Hartley モルモット	塗布・Kochever法	感作：0、0.05、0.1、0.2、0.8% 惹起：－	非	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-6 参〉
	皮膚光感作性(最終製剤)	Hartley モルモット	塗布・Kochever法	感作：0、0.8% 惹起：0、0.2%最終製剤	適	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-7〉

	不純物の変異原性評価	in silico			非	[redacted]	[redacted]	〈4.2.3.7-8 参〉

－：薬物投与せず UV 照射のみ、[redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：本剤

試験の種類	動物種	投与経路・期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施場所（報告年）	試験番号	添付資料
反復投与毒性試験	SD ラット	経皮・13 週（4 週回復）	0、0.1、0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	<4.2.3.2-1>
	HWY ラット	経皮・13 週（7 週回復）	0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	<4.2.3.2-2>
		経口・13 週	0、0.25				
	カニクイザル	経皮・13 週（4 週回復）	0、0.05、0.25、1.0、4.0	適	[redacted]	[redacted]	<4.2.3.2-3>
		経皮・39 週	0、0.25、1.0、4.0	適	[redacted]	[redacted]	<4.2.3.2-4>
新生児の試験	幼若 HWY ラット	経皮・7 週	0.5、2.0、8.0	適	[redacted]	[redacted]	<4.2.3.5.4-2>

[redacted]

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表

被験物質：本剤

投与量 (mg/kg/day)	曝露量 (AUC_{0-24h}：ng·h/mL)													
	ラット								サル					
	HWY・経口[a] 投与 91 日		SD・経皮[b] 投与 91 日		HWY・経皮[a] 投与 91 日		幼若 HWY・経皮[c] 投与 49 日		経皮[d] 投与 93 日		経皮[e] 投与 90 日		経皮[e] 投与 270 日	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.05									1.928	1.089				
0.1			2.825	3.667										
0.25	22.0	12.9							4.974	3.922	10.94	10.75	7.70	9.07
0.5			6.159	4.710	BLQ	(8.30)[#]	BLQ	BLQ						
1.0									11.07	6.321	33.40	28.58	48.86	27.11
2.0			17.77	9.690	6.40	(8.34)	9.18	0.674						
4.0									45.24	16.48	78.92	87.21	129.1	93.64
8.0			23.21	16.47	29.2	21.5	34.0	17.2						

BLQ：定量限界以下、#：括弧内 n=1

a：HWY ラット 13 週経皮投与毒性試験（経口投与を含む）、b：SD ラット 13 週経皮投与毒性試験、c：HWY 幼若ラット 7 週経皮投与毒性試験、d：サル 13 週経皮投与毒性試験、e：サル 39 週経皮投与毒性試験、

2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質の一覧表

被験物質：本剤

原薬ロット番号*	純度(%)	規格設定された不純物(%)								試験番号	試験の種類
		総量	A	B1/B2	C	D	E	F1/F2	その他		
01116010	99.3	0.48	0.14	0.03	0.11	0.05	ND	0.09	0.06	[redacted]	SD ラット単回経皮投与毒性試験
										[redacted]	SD ラット 13 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	サル 13 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	幼若 SD ラット 4 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	ウサギ皮膚刺激性試験
										[redacted]	ウサギ眼刺激性試験
										[redacted]	3T3 細胞の光毒性試験
										[redacted]	マウス中期皮膚発がん性試験（予備）
02116008	99.1	0.44	0.18	0.03	0.06	ND	0.09	0.05	0.03	[redacted]	サル 39 週経皮投与毒性試験
03116006	99.4	0.42	0.19	0.05	0.06	0.02	ND	0.04	0.06	[redacted]	サル 39 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	マウス中期皮膚発がん性性試験
04116015	100.1	0.5	0.18	0.05	0.06	0.04	0.02	0.07	0.08	[redacted]	ウサギ皮膚刺激性試験（最終製剤、劣化品）
										[redacted]	モルモット皮膚光感作性試験（最終製剤）
110901	97.5	2.4								[redacted]	HWY ラット 13 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	幼若 HWY ラット 7 週経皮投与毒性試験
										[redacted]	モルモット皮膚感作性試験
										[redacted]	モルモット皮膚光感作性試験
										[redacted]	モルモット皮膚光感作性（補足）試験
										[redacted]	モルモット光線過敏様皮膚反応検討試験 1
										[redacted]	モルモット光線過敏様皮膚反応検討試験 2

ND：未検出、*:ゲル化剤の製造に用いた原薬

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：本剤

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量（mg/kg）	動物数/群	最大非致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号	添付資料
ラット/SD	経皮[a]、2 回/日、 (基剤/ゲル剤)	0、0.1、0.5、2.0、 8.0	雌雄各 5	＞8.0	死亡例なし、一般状態、体重、剖検所見に異常なし	[redacted]	〈4.2.3.1-1〉

a：塗布部位に被覆材を装着

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

被験物質：本剤

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量（%）	動物数/群	無毒性量 (mg/kg/day)	特記すべき所見	試験番号	添付資料
マウス /ICR*	経皮[a]、4 週間 （基剤/ゲル 剤）	0、0.2、0.8	雌 10（主群） 雌 9（TK 群）[b]	＞4.0	死亡例なし、一般状態、体重、摂餌量、剖検所見に異常なし、(被覆材の装着による胸部，腋下部、肩甲部の皮膚の外傷、痂疲形成、胸部の脱毛がみられた) 皮膚中シロリムス濃度測定では、0.2%及び 0.8%群（投与後 2、8 及び 24 時間後）で用量増加に伴い皮膚中濃度は上昇した。	[redacted]	〈4.2.3.4-1 参〉

*:本試験は中期皮膚発がん性試験の予備試験として実施、a：塗布部位に被覆材を装着、b：皮膚中シロリムス濃度測定用

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）

報告書の題名：A 13-week percutaneous toxicity study of sirolimus in rats with a 4-week recovery period　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：ラット/Crl:CD(SD)/雌雄　投与期間：13 週間　試験番号：[redacted]
試験開始週齢：5～6 週齢　休薬期間： 4 週間　添付資料：<4.2.3.2-1>
初回投与年月：20[redacted]年 11 月　投与方法：経皮投与(投与重量 0.5g/kg/回×2/日)、開放塗布(被覆材を装着)　GLP 適用：適
特記事項：なし　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤
無毒性量：雄；0.1 mg/kg/day、雌；2.0 mg/kg/day

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（無処置対照）		0（基剤対照）		0.1(0.01)		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数					雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
TK C_{max}（ng/mL） 1 日	NE	NE	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.09443	BLQ
91 日	NE	NE	NE	NE	0.2034	0.1695	0.3959	0.2205	0.9870	0.4876	1.387	0.8939
AUC_{0-24h}（ng･h/mL） 1 日	NE	NE	NE	NE	NC	NC	NC	NC	NC	NC	0.7082	NC
91 日	NE	NE	NE	NE	2.825	3.667	6.159	4.710	17.77	9.690	23.21	16.47
動物数	雄 16	雌 16	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 15	雌 16
特記すべき所見												
死亡/瀕死期殺	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(1 [a])	0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
体重 g（投与 91 日）	478	272	483	273	478	275	431*	270	438*	255	448	259
摂餌量 g/日（投与 88-91 日）	27.9	18.8	28.8	19.7	28.7	18.6	27.0	19.7	27.8	19.4	27.6	20.0
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
血液学的検査												
赤血球数（$10^6/\mu L$）	9.10	8.16	8.78	7.96	8.69	8.31	8.90	8.31	8.97	8.52**	9.25*	8.77**
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	16.3	15.7	15.7	15.4	16.0	15.8	16.4	15.8	16.5	16.4**	16.7*	16.5**
ヘマトクリット値(%)	48.0	45.4	46.8	44.4	46.7	45.9	48.1	45.9	48.5	47.5**	49.7	48.4**

NE：未実施、NC：算出せず、BLQ：定量限界以下（＜0.1 ng/mL）、a：骨髄性白血病（自然発症性）による死亡、－：特記すべき所見なし、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.7.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）　試験番号：[redacted]（続き）

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（無処置対照）		0（基剤対照）		0.1(0.01)		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
血液生化学的検査												
CHO(mg/dL)	48	61	51	64	55	60	59	62	77**	66	94**	71
PL(mg/dL)	79	120	82	123	88	114	93	117	109**	124	126**	127
ALT(U/L)	34	35	36	33	43	42	44	36	44	50	47*	36
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量												
肺（g）	1.39	1.05	1.46	1.07	1.44	1.10	1.40	1.12	1.45	1.08	1.56	1.23*
肺（%）	0.309	0.429	0.325	0.420	0.317	0.429	0.341	0.446	0.348	0.457	0.361*	0.506**
下垂体（mg）	14	21	14	21	14	21	16	19	14	17**	13	17**
下垂体（mg %）	3.0	8.4	3.2	8.4	3.1	8.0	3.8*	7.4	3.3	7.1	3.0	6.8*
副腎（mg）	64	71	63	67	66	71	70	74	71	75	67	78*
副腎（mg %）	14.3	29.0	14.2	26.5	14.6	27.6	17.1*	29.4	17.1*	32.1*	15.5	32.2*
病理組織学的検査												
肺胞マクロファージの集簇												
+/- ～+[a]	2	4	4	3	7	7	9	4	6	6	6	5
++	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	5

－：特記すべき所見なし、a（グレード）：+/-軽度、+中等度、++重度、＊：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.7.1 SD ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）　試験番号：[redacted]（続き）

【回復期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（無処置対照）		0（基剤対照）		8.0(0.8)	
動物数	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 5	雌 6
死亡/瀕死期殺	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－
体重 g（休薬 28 日）	532	－	556	－	496	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－
器官重量						
肺（g）	1.48	1.11	1.54	1.10	1.63	1.10
肺（%）	0.298	0.387	0.293	0.413	0.352**	0.443
病理組織学的検査						
肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの集簇　+/－ ～+[a]	2	2	2	4	3	3
++	0	0	0	0	2	1

－：特記すべき所見なし、a（グレード）：+/-軽度、+中等度、++重度、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.7.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む）

報告書の題名：シロリムス外用剤のラットにおける 13 週間反復経皮投与毒性試験及び 7 週間回復性試験　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：ラット/HWY/Slc/雌雄　　投与期間：13 週間　　試験番号：[redacted]
試験開始週齢：6 週齢　　休薬期間： 7 週間　　添付資料：<4.2.3.2-2>
初回投与年月：20＊年＊月　　投与方法：経皮投与(投与重量 0.5g/kg/回×2/日)、開放塗布(被覆材を装着)、経口投与(投与容量 1mL/kg/回×2/日)　　GLP 適用：適
特記事項：なし
無毒性量：雌雄；0.5　mg/kg/day 未満　　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤(経皮投与)、経口用製剤(経口投与)

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）		0（基剤対照）		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)		0.25、経口[a]	
動物数				雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5
TK C_{max}（ng/mL）	1 日	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.670[b]	1.83	1.40
	91 日	NE	NE	BLQ	0.860[b]	0.583	0.867[b]	1.61	1.38	1.78	1.21
AUC_{0-24h}（ng･h/mL）	1 日	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	5.70[b]	22.6	16.9
	91 日	NE	NE	BLQ	8.30[b]	6.40	8.34[b]	29.2	21.5	22.0	12.9
動物数		雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16		
特記すべき所見											
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	0	0		
一般状態（投与部周辺の創傷）		2	0	3	5	3	8	11[c]	14		
体重 g（投与 91 日）		338	229	317	222	296**	213*	269**	200**		
摂餌量 g/日（投与 85-91 日）		30.3	24.8	29.7	24.3	28.2*	24.3	25.3**	23.8		
尿検査		－	－	－	－	－	－	－	－		
動物数		雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10		
血液学的検査											
好中球数（$10^3/\mu L$）		2.11	1.56	2.92*	1.86	3.47**	2.69**	4.83**	2.48		
好中球比（%）		26.2	29.3	32.9	36.4	37.6**	41.8*	46.2**	40.7*		
リンパ球比（%）		67.0	63.4	60.1	55.8	56.0**	52.0*	47.4**	55.1		
好酸球数（$10^3/\mu L$）		0.11	0.06	0.09	0.04	0.07*	0.06	0.05**	0.02**		
好酸球比（%）		1.3	1.1	1.0*	0.8	0.8**	0.8	0.5**	0.3**		
網赤血球数（10^9/L）		188.9	172.0	224.2	171.4	216.3	217.7*	427.1**	239.5*		
血小板数（$10^3/\mu L$）		1013	1088	1042	1148	1169**	1279**	1176**	1417**		
APTT（s）		16.8	16.4	17.1	16.6	17.4	16.6	18.0**	16.8*		

NE：未実施、BLQ：定量限界以下（＜0.5 ng/mL）、a：TK 群のみ、b：n=1、－：特記すべき所見なし、＊：p＜0.05、＊＊：p＜0.01、c：2/16 例で全身蒼白及び暗赤褐色便

2.6.7.7.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む）　試験番号：[redacted]（続き）

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）		0（基剤対照）		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数		雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
血液生化学的検査									
AST（U/L）		79	85	89	90	89	96	111	131**
ALT（U/L）		28	31	34*	32	34*	34	40*	41
LD（U/L）		106	152	95	147	107	160	130*	231*
CK（U/L）		118	156	116	164	126	174	154*	317**
UN（mg/dL）		26.4	23.2	24.5	25.9	26.8	25.6	31.1*	33.1*
CRE（mg/dL）		0.33	0.31	0.31	0.31	0.32	0.29	0.31	0.26**
Ca（mg/dL）		9.71	9.97	9.57	9.71	9.49	9.58	9.29**	9.27**
TP（g/dL）		5.47	5.57	5.42	5.60	5.42	5.39	5.11**	4.90**
ALB（g/dL）		2.11	2.35	2.08	2.30	2.01	2.05**	1.84**	1.74**
A/G		0.63	0.73	0.62	0.69	0.59	0.62**	0.57*	0.55**
剖検									
痂皮形成（腋窩皮膚）		2	0	2	0	2	2	3	2
（背部皮膚）		0	0	2	5	2	8	7	9
器官重量									
胸腺（mg%）		102.6	108.3	103.8	98.3	102.2	103.2	84.0*	99.8
肺（%）		0.352	0.451	0.385**	0.467	0.413**	0.485**	0.428**	0.519**
副腎（mg%）		19.3	34.1	19.6	36.1	22.7**	38.4*	23.4**	39.5**
卵巣（mg）			82		89		74		62**
病理組織学的検査									
胸腺	染色性ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	0	0	0	0	0	0	4	6
顎下リンパ節	泡沫状ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	0	1	0	0	0	1	7	2
	ラッセル小体の増加	0	0	0	0	0	0	5	7
腸間膜リンパ節	泡沫状ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	1	2	4	3	2	3	10	9
肺	肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの集簇	5	5	9	7	8	9	10	10
副腎 球状帯	微細空胞の増加	0	0	0	0	0	0	6	6

－：特記すべき所見なし、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.7.2 HWY ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験（7 週間回復群を含む）　　試験番号：[redacted]（続き）

【回復期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）		0（基剤対照）		8.0(0.8)	
動物数		雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0
一般状態（投与部周辺の創傷）		1	3	5	6
体重 g（休薬 47 日）		358	253	310*	212*
摂餌量 g/日（休薬 36-47 日）		28.3	25.3	25.6*	24.2
尿検査		—	—	—	—
血液学的検査					
血小板数（$10^3/\mu L$）		963	1084	1107**	1199
好酸球比（%）		0.9	1.1	0.5*	0.6*
血液生化学的検査					
ALT（U/L）		30	24	38*	30
ALP（U/L）		507	262	565*	325
CK（U/L）		101	106	124*	168
CHO（mg/dL）		49	57	57*	52
Ca（mg/dL）		9.67	9.80	9.56	9.41*
CRE（mg/dL）		0.37	0.41	0.36	0.34*
剖検					
痂皮形成（腋窩皮膚）		0	0	1	0
（背部皮膚）		1	3	4	6
器官重量		—	—	—	—
病理組織学的検査					
胸腺	染色性ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	0	0	2	0
腸間膜リンパ節	泡沫状ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	0	0	2	2
肺	肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの集簇	6	5	5	6
副腎 球状帯	微細空胞の増加	0	0	1	1

－：特記すべき所見なし、*：$p<0.05$、**：$p<0.01$

2.6.7.7.3 サルの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）

報告書の題名：A 13-week percutaneous toxicity study of sirolimus in monkeys with a 4-week recovery period

被験物質：本剤

動物種/系統/性：カニクイザル/雌雄
投与期間：13 週間
試験番号：[redacted]
試験開始週齢：3 歳齢
休薬期間：4 週間
添付資料：<4.2.3.2-3>
初回投与年月：20＊ 年 ＊ 月
投与方法：経皮投与(投与重量 0.25g/kg/回×2/日)、開放塗布
GLP 適用：適
特記事項：なし
溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤
無毒性量：雌雄；4.0　mg/kg/day

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）		0（陰性対照）		0（基剤対照）		0.05(0.01)		0.25(0.05)		1.0(0.2)		4.0(0.8)	
動物数		雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
TK C_{max}（ng/mL）	1 日	NE	NE	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.4679	BLQ
	93 日	NE	NE	NE	NE	0.1459	0.09818	0.2665	0.2486	0.5884	0.4694	2.712	1.313
AUC_{0-24h}（ng･h/mL）	1 日	NE	NE	NE	NE	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6.676	NC
	93 日	NE	NE	NE	NE	1.928	1.089	4.974	3.922	11.07	6.321	45.24	16.48
特記すべき所見													
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
体重		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
心電図		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査													
Hb（g/dL）		－	12.0	－	12.3	－	12.7	－	12.2	－	11.8	－	11.6*
白血球数($10^3/\mu L$)		11.18*	－	7.65	－	9.96	－	10.71	－	10.70	－	13.08**	－
好中球数($10^3/\mu L$)		3.85	－	2.06	－	2.39	－	2.93	－	3.44	－	5.61**	－
単球数（$10^3/\mu L$）		0.45	－	0.35	－	0.35	－	0.38	－	0.45	－	0.52*	－
LUC（%）		0.9	－	0.9	－	0.7	－	0.8	－	0.8	－	0.6*	－
PT（s）		9.8*	9.9	10.2	10.0	9.8*	10.0	10.0	9.8	10.1	10.1	9.7**	9.4*
APTT（s）		22.3	－	22.7	－	22.2	－	23.2	－	24.8*	－	24.7*	－

NE：未実施、BLQ：定量限界以下（＜0.1 ng/mL）、NC：算出せず、－：特記すべき所見なし、＊：p＜0.05、＊＊：p＜0.01

2.6.7.7.3 サルの 13 週間反復経皮投与毒性試験（4 週間回復群を含む）　　試験番号：[redacted]（続き）

【投与期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（陰性対照）		0（基剤対照）		0.05(0.01)		0.25(0.05)		1.0(0.2)		4.0(0.8)	
動物数	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
血液生化学的検査												
CK（U/L）	144	132	142	127	230	174	177	129	322*	181	305*	260*
AST（U/L）	32	－	24	－	27	－	20	－	30	－	39**	－
A/G	1.30	－	1.30	－	1.24	－	1.30	－	1.22	－	1.08*	－
LD（U/L）	－	212	－	225	－	225	－	245	－	297	－	319**
剖検												
肺の白色斑	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし、*：p＜0.05、**：p＜0.01

【回復期間終了時】

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（陰性対照）		0（基剤対照）		4.0(0.8)	
動物数	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2
死亡/瀕死期殺	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－
体重	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－
剖検						
肺の白色結節	0	0	0	0	0	1
器官重量	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

2.6.7.7.4 サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験

報告書の題名：シロリムス外用剤のカニクイザルにおける 39 週間反復経皮投与毒性試験　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：カニクイザル　　投与期間：39 週間　　試験番号：[redacted]
試験開始時週齢：3～5 歳　　休薬期間：なし　　添付資料：<4.2.3.2-4>
初回投与年月：20＊ 年 ＊ 月　　投与方法：経皮投与(投与重量 0.25g/kg/回×2/日)、開放塗布
特記事項： なし　　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤　　GLP 適用：適
無毒性量：雌雄； 0.25 mg/kg/day

投与量 mg/kg/day（濃度%）		0（基剤対照）		0.25(0.05)		1.0(0.2)		4.0(0.8)	
動物数		雄:4	雌:4	雄:4	雌:4	雄:4	雌:4	雄:4	雌:4
トキシコキネティクス									
TK C_{max} (ng/mL)	27 日	NE	NE	0.6303	1.158	2.007	1.049	7.506	2.390
	90 日	NE	NE	0.6340	0.5557	1.862	1.626	4.302	5.312
	270 日	NE	NE	0.4128	0.4420	2.495	1.499	7.300	4.913
AUC_{0-24h} (ng・h/mL)	27 日	NE	NE	12.49	7.956	39.79	16.25	135.8	40.90
	90 日	NE	NE	10.94	10.75	33.40	28.58	78.92	87.21
	270 日	NE	NE	7.70	9.07	48.86	27.11	129.1	93.64
特記すべき所見									
瀕死期殺動物数		0	0	0	0	0	1(No. 24 [a])	1(No. 27)	0
一般状態：軟便（投与末期）		－	－	－	－	1	1(No. 24)	1(No. 27)	1
：下痢便、体温低下		－	－	－	－	－	1(No. 24)	1(No. 27)	－
体重:減少		－	－	－	－	－	1(No. 24)	1(No. 27)	－
摂餌量:減少		－	－	－	－	－	1(No. 24)	1(No. 27)	－
眼科学的検査		―	―	―	―	―	―	―	―
心電図検査		―	―	―	―	―	―	―	―
尿検査：尿蛋白の高値		―	―	―	―	―	―	1	―

NE：未実施、－：特記すべき所見なし、a：個体番号（瀕死期屠殺例を示す）

2.6.7.7.4 サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験　試験番号：[redacted]（続き）

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（基剤対照）		0.25(0.05)		1.0(0.2)		4.0(0.8)	
動物数	雄:4	雌:4	雄:4	雌:4	雄:4	雌:4	雄:4	雌:4
血液学的検査 PT（s） その他；	－	10.58	－	10.28	－	9.87	－ (No. 27[#1])[a]	9.65**
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－	(No. 27[#2])	－
骨髄検査	－	－	－	－	－	(No. 24[#3])	(No. 27[#3])	－
剖検	－	－	－	－	－	(No. 24[#4])	(No. 27[#4])	－
器官重量	－	－	－	－	－	(No. 24[#5])	(No. 27[#5])	－
病理組織学的検査 腎臓；近位尿細管上皮の好酸性/褐色顆粒 その他；	－	－	－	－	－	1 (No. 24[#6])	2 (No. 27[#6])	3

－：特記すべき所見なし、a：個体番号（瀕死期屠殺例を示す）、**：p<0.01
#1：(No.27) 血小板・好中球の高値、リンパ球数の低値、APTT の延長
#2：(No.27) AST・CK・GLU・UN・CRE の高値、Ca・Na・K・Cl の低値
#3：(No.27,24) 骨髄有核細胞数の低値
#4：(No.27) 胸腺の小型、副腎の腫大、(No. 24) 盲腸・結腸の拡張、粘膜の赤色化、胸腺の小型、腹水貯留
#5：(No.27,24) 副腎の絶対・相対重量の高値、胸腺の絶対・相対重量の低値
#6：(No.27,24) 結腸炎、直腸炎、腎臓の近位尿細管上皮の空胞化、副腎束状帯の肥大/好酸性化、骨髄の細胞減少、胸腺・リンパ節などの萎縮

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 マウス中期皮膚発がん性試験

報告書の題名：シロリムス外用剤のマウス中期皮膚発がん性試験　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：マウス/Crl:CD1(ICR)雌　　投与期間：DMBA 投与 1 週後より 19 週間　　報告書番号：[redacted]
試験開始週齢：7 週齢　　休薬期間：なし　　添付資料：<4.2.3.4-2>
初回投与年月：20[redacted] 年[redacted] 月　　投与方法：経皮投与(投与重量 15mg/mouse)、開放塗布(被覆材を装着)　　GLP 適用：適
無毒性量： なし　　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤
特記事項： なし

イニシエーター(DMBA)処置[a]	処置			無処置		処置
投与量（%）	0（基剤対照）	0.2	0.8	0（基剤対照）	0.8	TPA(陽性対照) (4μg/mouse)
動物数	20	20	20	10	10	20
特記すべき所見						
死亡/瀕死期殺	(1[b])	0	(1[b])	0	0	0
一般状態： 死亡/瀕死期殺の所見	腹部膨満、不規則呼吸、自発運動低下		削痩、不規則呼吸、低体温			
皮膚の腫瘤	1	0	0	0	0	20
体重	―	―	―	―	―	低値
摂餌量	―	―	―	―	―	低値
肉眼的病理検査：						
皮膚腫瘤発生数(%)	1(5)	0	0	0	0	20(100)**
皮膚腫瘤平均発生個数/匹	0.1±0.2	0	0	0	0	25.4±8.7**
病理組織学的検査：						
非腫瘍性変化：表皮嚢胞(%)	1(5)	0	0	0	0	0
腫瘍性変化：扁平上皮過形成(%)	0	0	0	0	0	11(55)**
扁平上皮乳頭腫(%)	0	0	0	0	0	20(100)**
角化棘細胞腫(%)	0	0	0	0	0	3(15)

―：特記すべき所見なし、a：DMBA(7,12-dimethylbenz(a)anthracene) 100μg/100μL/mouse を単回経皮投与、b：自然発生病変による死亡/瀕死期殺、**：p＜0.01、

2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

該当する試験は実施していない。

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

該当する試験は実施していない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

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動物の機能に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1 幼若 SD ラットの 4 週間反復経皮投与毒性試験

報告書の題名：A 4-week percutaneous toxicity study of sirolimus in juvenile rats　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：ラット/Crl:CD(SD)/雌雄　　投与期間：4 週間　　試験番号：[redacted]

試験開始時週齢：22 日齢　　休薬期間：なし　　添付資料：<4.2.3.5.4-1>

初回投与年月：20[redacted] 年[redacted]月　　投与方法：経皮投与(投与重量 0.5g/kg/回×2/日)、開放塗布(被覆材を装着)　　GLP 適用：適

特記事項：なし

無毒性量：雌雄； 0.5 mg/kg/day　　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（無処置対照）		0（基剤対照）		0.1(0.01)		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
特記すべき所見												
死亡/瀕死期殺	0	0	(1[a])	0	0	0	(1[a])	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
体重	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
生殖器の発育分化	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
行動・機能の発達	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査												
Hb（g/dL）	－	15.8	－	15.7	－	15.8	－	16.2	－	16.5*	－	16.8**
Ht（%）	46.6	47.4	46.5	47.0	47.1	47.1	49.3	48.7	47.9	49.5*	49.4*	50.8**
血小板数（$10^3/\mu L$）	1219	1409	1233	1213	1157	1283	1204	1278	1233	1231	1041**	932*
好中球比（%）	－	8.7	－	8.8	－	11.2	－	11.4	－	11.1	－	19.1**
リンパ球比（%）	－	85.9	－	86.0	－	83.3	－	83.2	－	83.3	－	75.5**
血液生化学的検査												
AST（U/L）	113	96	111	96	122	116	110	110	130	112*	129*	119**
ALT（U/L）	45	33	45	32	50	43	51	69	58*	43*	57	47**

a：薬物起因でない死亡、－：特記すべき所見なし、*：$p<0.05$、**：$p<0.01$

2.6.7.15.1 幼若 SD ラットの 4 週間反復経皮投与毒性試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（無処置対照）		0（基剤対照）		0.1(0.01)		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量												
胸腺（mg）	439	421	482	435	441	413	478	416	446	366	372*	280**
胸腺（mg%）	—	312.4	—	307.9	—	286.0	—	286.9	—	256.9	—	215.3**
肺（g%）	—	0.546	—	0.526	—	0.524	—	0.540	—	0.578*	—	0.635**
病理組織学的検査												
胸腺染色性ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加 +/-[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
肺　肺胞ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの集簇 +/-	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7	8	7
+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3

—：特記すべき所見なし、a（グレード）：+/-軽度、+中等度、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.15.2 幼若 HWY ラットの 7 週間反復経皮投与毒性試験

報告書の題名：シロリムス外用剤の幼若ラットにおける 7 週間反復経皮投与毒性試験　　被験物質：本剤

動物種/系統/性：ラット/HWY/Slc/雌雄　　投与期間：7 週間　　試験番号：[redacted]
試験開始時週齢：22 日齢　　休薬期間：なし　　添付資料：<4.2.3.5.4-2>
初回投与年月：20[redacted] 年[redacted] 月　　投与方法：経皮投与(投与重量 0.5g/kg/回×2/日)、開放塗布(被覆材を装着)　　GLP 適用：適
特記事項：なし　　溶媒/投与形態：基剤/ゲル剤
無毒性量：雄；0.5　mg/kg/day、雌；0.5　mg/kg/day 未満

投与量 mg/kg/day（濃度%))		0（基剤対照）		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数				雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3
TK C_{max} (ng/mL)	1 日	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.519	0.651
	49 日	NE	NE	BLQ	BLQ	0.447	0.449	1.57	1.11
AUC_{0-24h} (ng･h/mL)	1 日	NE	NE	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	4.41	10.8
	49 日	NE	NE	BLQ	BLQ	9.18	0.674	34.0	17.2
動物数		雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
特記すべき所見									
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	0	(1[a])
一般状態（創傷[b])		0	0	0	4	4	5	2	6
体重 g（投与 49 日）		259	190	240	173*	229*	170*	209**	149**
摂餌量 g/日（投与 43-49 日）		24.8	20.1	23.7	18.0	22.6*	17.8*	21.0**	17.3**
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
生殖器の発育分化									
包皮分離		—		—		—		—	
膣開口（投与 30 日、%）			100.0		100.0		90.0		66.7*

NE：未実施、BLQ：定量限界以下（＜0.5 ng/mL)、－：特記すべき所見なし、a：薬物起因でない死亡、b：被覆材で保護された投与部位の周辺、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.15.2 幼若 HWY ラットの 7 週間反復経皮投与毒性試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量 mg/kg/day（濃度%）	0（基剤対照）		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 9
血液学的検査								
網赤血球数（10^9/L）	231.1[a]	203.5	251.2	166.4	247.4	225.1	279.6*	279.9**
血小板数（$10^3/\mu L$）	1169[a]	1235	1187	1247	1284*	1392**	1339**	1375**
好中球数（$10^3/\mu L$）	1.71[a]	1.62	2.15	1.99	3.18**	2.54**	3.34**	3.27**
リンパ球比（%）	69.2[a]	58.6	64.5	56.5	59.7	53.2	53.2**	45.6**
好酸球比（%）	1.3[a]	1.4	1.2	1.6	1.0	0.9*	0.7**	0.7**
APTT（s）	—	16.0	—	16.2	—	16.6*	—	16.9**
血液生化学的検査								
AST（U/L）	—	81	—	94	—	100	—	115**
ALT（U/L）	—	24	—	32*	—	31	—	38**
ALP（U/L）	—	374	—	385	—	394	—	491**
CK（U/L）	—	178	—	268	—	210	—	295**
CRE（mg/dL）	0.34	0.32	0.33	0.31	0.33	0.30	0.30**	0.29*
CHO（mg/dL）	46	51	47	47	51	57*	57**	58**
PL（mg/dL）	79	—	80	—	85	—	89*	—
IP（mg/dL）	—	7.59	—	7.57	—	7.05	—	6.80**
Ca（mg/dL）	—	9.74	—	9.70	—	9.58	—	9.00**
TP（g/dL）	5.40	5.44	5.46	5.41	5.45	5.36	5.18**	4.79**
ALB（g/dL）	2.29	2.37	2.29	2.22	2.17**	2.15*	2.04**	1.86**
A/G	0.73	0.78	0.72	0.70	0.66**	0.67**	0.65**	0.64**

－：特記すべき所見なし、a：1 試料に凝固塊あり(n=9)、*：$p<0.05$、**：$p<0.01$

2.6.7.15.2 幼若 HWY ラットの 7 週間反復経皮投与毒性試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量 mg/kg/day（濃度%）			0（基剤対照）		0.5(0.05)		2.0(0.2)		8.0(0.8)	
動物数			雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 9
剖検　　痂皮形成（背部皮膚）			0	0	0	4	4	5	2	6
器官重量			—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査										
胸腺	染色性ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	+/- [a]	0	0	0	4	3	5	5	7
	皮質）リンパ球の減少	+/-	0	0	0	0	0	0	0	2
	リンパ球の壊死	+/-	0	0	0	0	0	0	0	2
顎下リンパ節	泡沫状ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	+/-	0	0	0	0	0	0	3	4
	皮質）リンパ球の減少	+/-	0	0	0	0	0	0	1	0
腸間膜リンパ節	泡沫状ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞの増加	+/-	3	1	7	5	8	8	7	5
		1+	0	0	2	0	1	2	3	4
	皮質）リンパ球の減少	+/-	0	0	0	0	2	0	5	6
脾臓	髄外造血	+/-	5	7	4	8	4	9	1	2
		1+	5	3	6	1	6	1	7	6
		2+	0	0	0	0	0	0	2	1
副腎 球状帯	微細空胞の増加	+/-	2	3	4	7	4	8	4	7

－：特記すべき所見なし、a（グレード）：+/-軽度、1+中等度、2+重度

2.6.7.16 局所刺激性試験

被験物質：本剤

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量（%）	性別及び 動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
ウサギ/ Kbl:JW	経皮、投与重量0.5 g 基剤/ゲル剤	0（基剤）、0.01、 0.05、0.2	雄：4	本剤を背部皮膚に24時間閉鎖塗布した結果、皮膚刺激性はみられなかった。	適	[redacted] 〈4.2.3.6-1〉
ウサギ/ Kbl:JW	眼、投与重量0.1 g 基剤/ゲル剤	0（基剤）、0.01、 0.05、0.2	雄：3	本剤の最大平均評価点はいずれの濃度においても基剤(Moderately irritant)と同等であり、本剤の眼刺激性は基剤によるものであった。	適	[redacted] 〈4.2.3.6-2〉
ウサギ/ Kbl:NZW	経皮、投与重量0.5 g 基剤/ゲル剤	0（基剤）、0.2最終製剤、0.2劣化品	雄：4	最終製剤及びその劣化品を背部皮膚に24時間閉鎖塗布した結果、皮膚刺激性はみられなかった。	適	[redacted] 〈4.2.3.6-3〉

2.6.7.17 その他の試験

被験物質：本剤

試験	動物種/系統	投与方法	投与量 (濃度%)	動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
In vitro 光毒性	Balb/c 3T3 細胞	in vitro	0、3.125～175 μg/mL	4 wells	UVA照射時又は非照射時での細胞生存率（IC_{50}）に差はなく(PIF≒1)、光毒性はなかった。	適	[redacted] 〈4.2.3.7-1〉
皮膚感作性	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Adjuvant & Patch Test法	感作：0、0.8 惹起：0、0.05、 0.2、0.8	雄5～10	本剤で二次感作した後、同剤で惹起しても皮膚反応は認められないことから、皮膚感作性はないと考えられた。	適	[redacted] 〈4.2.3.7-2〉
皮膚光感作性	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Adjuvant & Strip法	感作：0、0.8 惹起：0、0.05、 0.2	雄5～10	本剤を塗布（＋UVA照射）感作した後、基剤及び本剤で惹起（＋UVA照射）すると、塗布部位及びその周囲の非塗布部位に紅斑がみられ、皮膚光感作性又は光線過敏を誘発する可能性が示された。	適	[redacted] 〈4.2.3.7-3〉

2.6.7.17 その他の試験（続き）

被験物質：本剤、シロリムス軟膏、シロリムスイソプロピルアルコール製剤

試験	動物種/系統	投与方法	投与量 (濃度%)	動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
皮膚光感作性―補足試験	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Kochever 法	感作：0、0.8 惹起：0、0.05、0.2	雄 3～5	アジュバントを使用しない皮膚光感作性を検討した結果、本剤で感作し（＋UV 照射）、基剤及び本剤で惹起（＋UVA 照射）すると照射部位全域に紅斑がみられた。また、無処置（UVA 照射のみ）の惹起群でも紅斑が認められ、光線過敏を誘発する特性が認められた。	適	[redacted] 〈4.2.3.7-4〉
光線過敏様皮膚反応―検討試験 （基剤の検討）	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Kochever 法	感作：0、0.05、0.2、0.8 惹起：－	雄 3	HD13051 試験の結果を受け、シロリムスの感作濃度及び基剤の影響について検討した。紅斑の発現は 0.05%では認められず、0.2%及び 0.8%では感作濃度に依存して紅斑が強くなる傾向がみられた。また、基剤の種類（エタノール、イソプロピルアルコール、軟膏）による影響は明らかではなかった。	非	[redacted] 〈4.2.3.7-5 参〉
光線過敏様皮膚反応―検討試験 2 （遮光剤の検討）	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Kochever 法	感作：0、0.05、0.1、0.2、0.8 惹起：－	雄 3～5	本剤を感作時又は惹起時に遮光剤の使用を検討した結果、感作時に遮光剤を塗布した場合では紅斑が認められたが、惹起時に遮光剤を塗布した場合では紅斑はなく、遮光剤による予防効果が認められた。	非	[redacted] 〈4.2.3.7-6 参〉
皮膚光感作性―最終製剤	モルモット/ Slc:Hartley	経皮、Kochever 法	感作：0、0.8 惹起：0、0.2	雄 5～10	本剤で感作し、基剤及び本剤（最終製剤）で惹起すると UVA 照射部位全域に紅斑がみられた。また、無処置（UVA 照射のみ）の惹起群でも紅斑が認められ、最終製剤においても、先の結果（4.2.3.7-4）と同様であった。	適	[redacted] 〈4.2.3.7-7〉
不純物の変異原性	in silico				不純物 10 物質の化学構造には警告構造がなく、変異原性の懸念はなかった。	非	〈4.2.3.7-8 参〉

－：薬物投与せず UV 照射のみ、PIF(Photo irritation factor)：UVA 照射時及び非照射時の IC_{50} の比