ソホスブビル／ベルパタスビル

第 2 部 CTD の概要

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

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁
略号一覧表 6
1 まとめ 8
1.1 ベルパタスビル 8
1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 11
2 単回投与毒性試験 13
2.1 ベルパタスビル 13
3 反復投与毒性試験 14
3.1 ベルパタスビル 14
3.1.1 マウス 14
3.1.1.1 マウス 4 週間経口投与用量設定試験 14
3.1.2 ラット 15
3.1.2.1 ラット 2 週間経口投与試験及び 1 週間回復性試験（小核試験含む） 15
3.1.2.2 ラット 26 週間経口投与試験及び 4 週間回復性試験（13 週間投与中間評価含む） 16
3.1.3 イヌ 17
3.1.3.1 ビーグル犬 2 週間経口投与試験及び 1 週間回復性試験 17
3.1.3.2 ビーグル犬 39 週間経口投与試験及び 4 週間回復性試験（13 週間投与中間評価含む） 18
3.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 19
4 遺伝毒性試験 21
4.1 ベルパタスビル 21
4.1.1 *In Vitro* 21
4.1.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 21
4.1.1.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験 21
4.1.2 *In Vivo* 21
4.1.2.1 *In Vivo* ラット小核試験 21
4.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 22
5 がん原性試験 23
5.1 ベルパタスビル 23
5.1.1 マウス 23
5.1.1.1 rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験 23
5.1.2 ラット 23
5.1.2.1 ラット 2 年間経口投与がん原性試験 23
5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 24
6 生殖発生毒性試験 25
6.1 ベルパタスビル 25
6.1.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 25

6.1.1.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する経口投与試験 25
6.1.2 胚・胎児発生毒性試験 25
6.1.2.1 マウス胚・胎児発生に関する試験 25
6.1.2.2 ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験 26
6.1.2.3 ラット胚・胎児発生に関する試験 27
6.1.2.4 ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験 28
6.1.2.5 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 28
6.1.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験 29
6.1.3.1 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験 29
6.1.4 幼若動物を用いた試験 31
6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 32
7 局所刺激性試験 33
7.1 ベルパタスビル 33
7.1.1 眼刺激性試験 33
7.1.1.1 ウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験 33
7.1.2 皮膚刺激性試験 33
7.1.2.1 ウサギ皮膚刺激性試験 33
7.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 33
8 その他の毒性試験 34
8.1 ベルパタスビル 34
8.1.1 抗原性試験 34
8.1.1.1 マウス局所リンパ節試験 34
8.1.2 免疫毒性試験 34
8.1.3 毒性発現の機序に関する試験 34
8.1.4 依存性試験 34
8.1.5 代謝物の毒性試験 34
8.1.6 不純物の毒性試験 35
8.1.6.1 不純物39* の細菌を用いる復帰突然変異試験 35
8.1.6.2 ベルパタスビルの潜在的工程内不純物の雄性ラット 2 週間経口投与安全性確認試験 35
8.1.7 その他の試験 36
8.1.7.1 雄性ラット 5 日間経口投与予備試験 36
8.1.7.2 Balb/c 3T3マウス線維芽細胞におけるニュートラルレッド取り込み光毒性試験 36
8.1.7.3 有色ラット皮膚に対する反復経口投与光毒性試験 37
9 考察及び結論 38
9.1 標的臓器毒性 38
9.1.1 ベルパタスビル 38
9.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 38

* 新薬承認情報提供時に置き換え

9.2 遺伝毒性 39
9.3 がん原性 39
9.4 生殖発生毒性 39
9.4.1 ベルパタスビル 39
9.4.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 39
9.5 局所刺激性 40
9.5.1 ベルパタスビル 40
9.5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 40
9.6 代謝物及び不純物 40
9.6.1 ベルパタスビル 40
9.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 40
9.7 光毒性試験 40
9.7.1 ベルパタスビル 40
9.8 曝露量比 40
9.9 結論 41
10 表 42
11 参考文献 43

表目次

頁
表 1　ベルパタスビルの毒性試験プログラム.....10
表 2　マウス 4 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....14
表 3　ラット 2 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....16
表 4　ラット 26 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....17
表 5　イヌ 2 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....18
表 6　イヌ 39 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....19
表 7　マウス胚・胎児発生に関する試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター （平均値）.....26
表 8　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....27
表 9　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....28
表 10　ウサギ胚･胎児発生に関する試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....29
表 11　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験における ベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....31
表 12　ラット 5 日間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）.....36

略号一覧表

略号	英語	日本語
8-MOP	8-methoxypsoralen	8-メトキシプソラレン
AUC	the area under the concentration versus time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	the area under the concentration versus time curve from time zero to the last quantifiable concentration	0 時間から定量可能時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{tau}	the area under the concentration versus time curve over the dosing interval	投与間隔間での濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0–24h}$	partial area under the concentration versus time curve from time 0 to time 24	0 時間から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積
BCOP	bovine corneal opacity permeability	ウシ角膜混濁度及び透過性
C_{max}	the maximum observed concentration of drug	最高濃度
ECG	electrocardiogram	心電図
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GS-5816	velpatasvir	ベルパタスビル
GS-9851	isomeric mixture at phosphorous containing sofosbuvir and GS-491241; nucleotide prodrug	ソホスブビル及びそのジアステレオマーである GS-491241 の混合物；ヌクレオチドプロドラッグ
GS-491241	diastereomer of sofosbuvir; nucleotide prodrug	ソホスブビルのジアステレオマー；ヌクレオチドプロドラッグ
GS-566500	metabolite of sofosbuvir; nucleoside analog monophosphate alanine	ソホスブビルの代謝物；ヌクレオシド誘導体一リン酸アラニン
GS-331007	metabolite; nucleoside analog	ソホスブビルの代謝物；ヌクレオシド誘導体
GS-461203	pharmacologically active metabolite of sofosbuvir; nucleoside analog triphosphate	ソホスブビルの活性代謝物；ヌクレオシド誘導体三リン酸
HCV	hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
HPMC	hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
ICH	International Conference on Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IVIS	*in vitro* irritancy score	*in vitro* 刺激性スコア
LLNA	local lymph node assay	局所リンパ節試験

略号一覧表（続き）

略号	英語	日本語
MPE	mean photo effect	平均光作用
NCE	normochromatic erythrocyte	正染性赤血球
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
NS5A	nonstructural protein 5A	非構造タンパク質 5A
NZW	New Zealand White (rabbits)	ニュージーランド白色（ウサギ）
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PCE	polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PIF	photo irritation factor	光毒性係数
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
RO	reverse osmosis	逆浸透
SI	stimulation index	刺激指数
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
UV	ultraviolet	紫外線

1 まとめ

本剤はソホスブビル及びベルパタスビル（GS-5816）を有効成分として含有する配合錠であり、本申請資料は慢性 C 型肝炎ウイルス（HCV）感染症の治療に対する本剤の製造販売承認申請の根拠として提出する。

ソホスブビルは、ソバルディ®錠 400mg として平成 27 年 3 月 26 日に国内で承認された。また、平成 29 年 3 月 24 日に効能追加に係る一部変更承認申請（以下、「一変申請」）が承認された。

レジパスビル／ソホスブビル配合剤は、ハーボニー®配合錠（レジパスビル 90 mg 及びソホスブビル 400 mg）として平成 27 年 7 月 3 日に国内で承認された。また、平成 30 年 2 月 16 日に効能追加に係る一変申請が承認された。

ソホスブビルの非臨床毒性試験に関する資料は、ソバルディ®錠及びハーボニー®配合錠の承認及び一変申請時に提出済みであり、CTD 2.4 及び CTD 2.6.6 に要約した。本申請資料では、ソホスブビル、ベルパタスビル、ソホスブビルとベルパタスビル併用、及び本剤を用いた新規の非臨床試験については詳述し、関連する既提出のソホスブビル非臨床試験については必要に応じて再提出する。

ベルパタスビルを用いた包括的な非臨床毒性試験プログラムが実施された。試験デザイン及び評価項目は医薬品規制調和国際会議（ICH）、経済協力開発機構（OECD）及び当局の規則［米国食品医薬品局（FDA）及び欧州共同体指令］に示された原則及び実施手順に準拠した。特記しない限り、確定試験（反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性）は米国 FDA の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）の規則に準じて行われた。重要な試験以外の試験は、GLP に準拠した試験施設で GLP の精神に則り実施するか、又は適切な試験実施計画書及び文書に従い試験を実施し、データの完全性を確保した。

非臨床毒性試験から得られた処方医師に提供すべきと考えられる全ての情報は添付文書案に含まれる。概して、ソホスブビル及びベルパタスビルの非臨床毒性試験結果から、HCV の治療に対する両薬剤併用による安全性及び有用性が裏付けられた。

1.1 ベルパタスビル

HCV の非構造タンパク質 5A（NS5A）はウイルスリボ核酸（RNA）複製［1］及び HCV 粒子形成［2、3］に必須である。また、NS5A は多数の宿主タンパク質と相互作用し［4］、宿主の自然免疫応答を回避することで感染を促進すると考えられる［5］。ベルパタスビル（{(2*S*)-1-[(2*S*,5*S*)-2-(9-{2-[(2*S*,4*S*)-1-{(2*R*)-2-[(メトキシカルボニル)アミノ]-2-フェニルアセチル}-4-(メトキシメチル)ピロリジン-2-イル]-1*H*-イミダゾール-4-イル}-1,11-ジヒドロ[2]ベンゾピラノ[4',3':6,7]ナフト[1,2-*d*]イミダゾール-2-イル)-5-メチルピロリジン-1-イル]-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル}カルバミン酸メチル）は新規の HCV NS5A 阻害剤で、*in vitro* レプリコン細胞においてジェノタイプ 1～6 の HCV RNA 複製を強力に阻害する。

ベルパタスビルの毒性については、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性及び局所刺激性、更には光毒性及び感作性に関する様々な *in vitro* 及び *in vivo* 試験により、その特徴を

明らかにした（表 1）。ここに記載する試験及び注目すべき所見は、第 4 部の最終報告書の写しとともに 2.6.7 項にも示している。

皮膚感作性並びに皮膚及び眼刺激性試験では、作業者に対するリスクプロファイルの明確化のため投与経路は異なるが、全ての *in vivo* 試験の投与経路は臨床投与経路である経口投与とした。

表 1　ベルパタスビルの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	被験物質
反復投与毒性			
5 日間	経口	ラット	ベルパタスビル
2 週間	経口	ラット、イヌ	ベルパタスビル
4 週間	経口	マウス	ベルパタスビル
13 週間	経口	ラット[a]、イヌ[a]	ベルパタスビル
26 週間	経口	ラット	ベルパタスビル
39 週間	経口	イヌ	ベルパタスビル
遺伝毒性			
細菌を用いた復帰突然変異試験	*In vitro*	細菌	ベルパタスビル
In vitro 染色体異常試験	*In vitro*	ヒトリンパ球	ベルパタスビル
In vivo 小核試験	経口	ラット	ベルパタスビル
がん原性	経口	マウス、ラット	ベルパタスビル
生殖発生毒性			
受胎能及び初期胚発生試験	経口	ラット	ベルパタスビル
胚・胎児発生試験	経口	マウス、ラット、ウサギ	ベルパタスビル
出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験	経口	ラット	ベルパタスビル
局所刺激性			
眼刺激性試験	*In vitro*	ウシ角膜	ベルパタスビル
皮膚刺激性試験	経皮	ウサギ	ベルパタスビル
その他の毒性試験			
皮膚感作性試験	経皮	マウス	ベルパタスビル
光毒性試験	*In vitro* *In vivo*	Balb/c 3T3 細胞 ラット	ベルパタスビル
細菌を用いた復帰突然変異試験	*In vitro*	細菌	不純物39*[b]
不純物– 安全性試験	経口	ラット	ベルパタスビル

a　13 週間中間評価
b　不純物

ベルパタスビルの水に対する溶解度は低く（pH 8.2 で約 3 µg/mL）、絶食及び摂食状態を模倣した人工腸液に対する溶解度はやや高くなるが（それぞれ 28 及び 210 µg/mL）、毒性試験での曝露量が制限される。毒性試験でベルパタスビルの経口投与後の曝露量を最大とするため、ラット及びウサギで 4 種類の溶媒を評価し、イヌで 2 種類の溶媒を評価した（2.6.4.3.1.3 項）。その結果、ラット及びイヌでは 60%の有機溶媒ベースの溶媒[45%(v/v)プロピレングリコール及び 15%(v/v) Kolliphor® HS-15 含有逆浸透（RO）水（pH 2.0±0.1)]が最適であることが明らかになった。以上のデータ及びラットでの非 GLP 適合反復投与試験のデータから、GLP 適合毒性試験で投与され

* 新薬承認情報提供時に置き換え

た高用量（ラット及びイヌでそれぞれ 200 mg/kg 及び 100 mg/kg）は経口投与において適切な最高用量と判断される。ウサギでは、水性懸濁液［0.5%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.9%（v/v）ベンジルアルコール含有 RO 水］で調製したベルパタスビルの投与で最高の曝露量が得られた。マウスでは水性懸濁液［0.2%（w/v）HPMC、0.2%（v/v）ポリソルベート 20 及び 99.6%（v/v）脱イオン水］で 1000 mg/kg まで曝露量の増加がみられた。

毒性試験の結果、ベルパタスビルはラットで 6 ヵ月まで、イヌで 9 ヵ月まで忍容性は良好であった。毒性試験で投与した最高用量でも標的臓器に対する毒性は確認されなかった。長期反復投与試験における無影響量（NOEL）／無毒性量（NOAEL）（ラット 200 mg/kg/日、イヌ 100 mg/kg/日）でのベルパタスビルの曝露量は、ラット及びイヌで本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量のそれぞれ約 5 倍及び 10 倍であった。

ベルパタスビルは細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性、ヒト末梢血リンパ球における染色体異常試験で染色体損傷の誘発性は陰性、さらに *in vivo* ラット小核試験で陰性であり、ベルパタスビルに遺伝毒性はないと判断される。トランスジェニックマウス及びラットを用いたがん原性試験ではそれぞれ 1000 mg/kg/日までの 26 週間投与及び 200 mg/kg/日までの 92 週間以上の投与でがん原性を認めなかった。マウス及びラットがん原性試験におけるベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量のそれぞれ最大 91 及び 7 倍であった。

生殖発生毒性試験で明らかな作用は認められなかった。ラット受胎能試験で、生殖パラメーターに対する NOEL は投与した最高用量の 200 mg/kg/日であった。雌雄生殖能に対する NOEL でのベルパタスビル曝露量は HCV 感染患者への本剤投与後のベルパタスビル曝露量の約 6 倍であった。マウス、ラット及びウサギ胚・胎児発生毒性試験では、胚・胎児に対する NOEL での曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量と比較してそれぞれ約31倍､6倍及び0.7倍であった。ラットの出生前及び出生後の発生毒性試験では、ベルパタスビルは 200 mg/kg/日までの用量で母動物に対する作用も、出生児の行動、生殖又は発生に対する作用も示さなかった。出生前及び出生後の発生毒性試験の母動物及び F1 出生児に対する NOEL でのベルパタスビル曝露量は、本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量の約 5 倍であった。

有色 Long-Evans ラットにベルパタスビルを 3 日間連日投与したとき､光毒性はないと判断された。また、皮膚感作性は認められず、皮膚及び眼刺激物質ではないと判断された。ベルパタスビル原薬及び製剤中の不純物及び分解生成物は、ラットの反復投与毒性試験で安全性が確認されている。

1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルを併用した毒性試験は実施していない。ソホスブビル及びベルパタスビルはラット及びイヌに反復投与したとき、異なる標的臓器毒性パターンを示し、重複する毒性はなかった。ソホスブビルの長期反復投与試験では、ソホスブビルの主要代謝物である GS-331007 の曝露量が、本剤投与後の臨床曝露量の約 5～6 倍高値を示す投与量まで、ソホスブビルによる臨床的に問題となる標的臓器毒性は認められなかった。イヌで認められた消化管に対する作用（嘔吐、軟便）及び赤血球パラメーターの低下は軽微であった。本剤投与後のベルパタス

ビル臨床曝露量の約 5～10 倍高い曝露量を示すベルパタスビル投与まで、有害な標的臓器毒性は認められなかった。したがって、ソホスブビルとベルパタスビルの併用により既知の毒性が悪化することも、新規の毒性が発現することもないと考えられる。

ソホスブビル及びベルパタスビルはいずれも遺伝毒性を示さず、げっ歯類を用いた長期がん原性試験でがん原性を認めなかった。ソホスブビル及びベルパタスビルの単剤の生殖発生毒性試験において、毒性所見は認められなかった。ソホスブビル及びベルパタスビルは雌雄受胎能、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に対して有害作用を認めなかった。ソホスブビルとベルパタスビルの併用により、個々の薬剤の遺伝毒性及び生殖発生毒性プロファイルが変化するとは考えられない。

ソホスブビル及びベルパタスビルは皮膚に対して非刺激物質であり、眼に強い刺激性を示さず、皮膚感作性も陰性であった。ベルパタスビルに光毒性はなく、ソホスブビルにも光毒性を示唆する所見は認められていない。

ソホスブビル及びベルパタスビルの毒性プロファイルはよく特徴付けられており、本剤を用いた第 2 相及び第 3 相試験成績から、予定される HCV 感染症の治療に対する本剤の使用について、好ましいリスク・ベネフィットプロファイルが明らかにされた。ソホスブビル及びベルパタスビルの全ての非臨床試験から得られた情報は、両剤の実質的な臨床経験と関連させて考慮されるべきである。

2 単回投与毒性試験

2.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルを用いた正式な単回投与毒性試験は実施していない。しかし、単回投与薬物動態試験において、ラットへの 600 mg/kg まで及びイヌへの 200 mg/kg までの投与は忍容性良好であった（2.6.4.3.1.1.2 項；それぞれ AD-281-2014 及び AD-281-2013）。マウス（2.6.6.3.1.1.1 項；TX-281-2028）、ラット（2.6.6.3.1.2 項；TX-281-2003 及び TX-281-2007）及びイヌ（2.6.6.3.1.3 項；TX-281-2004 及び TX-281-2008）の反復投与毒性試験において、投薬に関連する急性毒性所見（投与 1 日目）はいずれも認められなかった。マウス、ラット及びイヌの概略の致死量はそれぞれ 1500 mg/kg 超、600 mg/kg 超及び 200 mg/kg 超であった。

3 反復投与毒性試験

3.1 ベルパタスビル

3.1.1 マウス

3.1.1.1 マウス 4 週間経口投与用量設定試験

本試験では、6 ヵ月間がん原性試験の用量設定を目的に、001178-W（野生型）、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスに少なくとも 4 週間、1 日 1 回強制経口投与してベルパタスビルの毒性及びトキシコキネティクス（TK）を評価した（2.6.7.7.1 項；TX-281-2028）。雌雄マウスを 4 群（毒性評価用に雌雄各 10 匹/群）に割り当て、ベルパタスビルを 0（溶媒）、100、300 又は 1500 mg/kg/日の用量で、投与容量を 10 mL/kg として強制経口投与した。高用量の 1500 mg/kg/日は ICH S1C（R2）に定義されているとおり、最高限度の用量である。死亡、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。TK 評価のため、第 1 日及び第 4 週にサテライト動物から採血した。

毒性試験用の全動物は計画屠殺時まで生存した。一般状態観察、体重及び体重変化量並びに摂餌量に投薬に関連した作用は認められなかった。臓器重量、剖検及び病理組織学的検査所見にも投薬に関連した変化はみられなかった。臨床検査において、投薬に関連した所見として 1500 mg/kg/日を投与した雄で白血球数、絶対好中球数及び絶対リンパ球数の軽度低下が観察された。これらの変化の程度は小さく、統計学的有意差はなく、病理組織学的検査に関連した所見は認められなかったことから、有害とは判断しなかった。

ベルパタスビルの曝露量は、概して 100～1500 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、最高濃度（C_{max}）及び 0 時間から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）の増加は用量比を下回った（表 2）。ベルパタスビルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の性差は 2 倍未満であった。マウスへの反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。

表 2 マウス 4 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)	
		Day 1	Day 26	Day 1	Day 26
100	Male	69200	83300	8240	8560
	Female	79500	64900	10800	8020
300	Male	122000	86700	12300	7720
	Female	105000	82300	11800	11700
1500	Male	146000	170000	13400	14200
	Female	261000	269000	18300	18300

VEL = velpatasvir
Source: Study No. TX-281-2028

以上のとおり、ベルパタスビルの NOAEL は 1500 mg/kg/日であり、NOAEL での C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は雌雄合算値でそれぞれ 16300 ng/mL 及び 220000 ng·h/mL であった。本試験の NOAEL におけるベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（ベルパタスビル 100mg 投与後の投与間隔間での AUC（AUC_{tau}）= 2.967 µg·h/mL、2.7.2.3.2.1.3.1 項）の 74 倍であった。

3.1.2 ラット

3.1.2.1 ラット 2 週間経口投与試験及び 1 週間回復性試験（小核試験含む）

ラットにベルパタスビルを 2 週間連日強制経口投与し、その毒性及び TK を検討した。さらに、1 週間の回復期間後の所見の可逆性、持続性又は遅発性を評価した（2.6.7.7.2 項 ; TX-281-2003）。また、ラット骨髄の小核を有する多染性赤血球（PCE）を計数して、ベルパタスビルの *in vivo* 染色体異常誘発性を評価した。

雌雄 Sprague-Dawley ラット［主試験群 : 雌雄各 10 匹/群、回復群（対照及び高用量群）: 雌雄各 5 匹/群］にベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として投与した。本試験の用量はベルパタスビルを用いた 5 日間経口投与毒性試験の結果を基に選択した（8.1.7.1 項 ; TX-281-2001）。回復群の動物には 2 週間投与後 1 週間の回復期間を設けた。TK 評価のため、第 1 及び 14 日にサテライト群の動物から採血した。第 14 日に追加の動物群（雌雄各 5 匹）にシクロホスファミド 60 mg/kg（小核試験の陽性対照）を強制経口投与した。死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。このほか、第 15 日の剖検時に、ミクロソーム酵素分析のための肝試料及び小核試験のための骨髄を採取した。

全動物が計画屠殺時まで生存した。一般状態、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、肝ミクロソーム酵素、臨床検査及び病理検査に投薬に関連した所見はなかった。溶媒対照及び陽性対照シクロホスファミドの結果から、小核試験としての適切性も示された（4.1.2.1 項）。

ベルパタスビルの曝露量は 20～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、C_{max} 及び 0 時間から定量可能時間までの AUC（$AUC_{0\text{-}t}$）の増加は用量比を下回った（表 3）。ベルパタスビルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ に基づく性差は 2 倍未満であった。ラットへの 1 日 1 回 2 週間反復投与後に明らかなベルパタスビルの蓄積は認められなかった。

表 3　ラット 2 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
20	M	5263	5569	597	800
	F	4522	3193[b]	608	578
60	M	10371	14529	914	1323
	F	9770	8364	967	1018
200	M	17285	21396	1167	1607
	F	15852	12865	1154	1041

VEL = velpatasvir, F = female; M = male
a　last time point = 24 h
b　last time point = 12 h
Source: Study No. TX-281-2003

以上のとおり、雌雄ラットに 200 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 2 週間経口投与したときの忍容性は良好であった。本試験のベルパタスビルの NOEL は 200 mg/kg/日であった（第 14 日の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雌雄合算値でそれぞれ 1291 ng/mL 及び 17130 ng·h/mL）。このほか、骨髄小核試験でベルパタスビルは陰性と評価された。本試験の NOEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 6 倍であった。

3.1.2.2　ラット 26 週間経口投与試験及び 4 週間回復性試験（13 週間投与中間評価含む）

ラットにベルパタスビルを 13 又は 26 週間連日強制経口投与し、その毒性及び TK を検討した。さらに、26 週間投与後、4 週間の回復期間を設定し、所見の可逆性を評価した（2.6.7.7.3 項；TX-281-2007）。雌雄 Sprague-Dawley ラット［13 週間投与中間評価群：雌雄各 10 匹/群、26 週間投与最終評価群：雌雄各 10 匹/群及び回復群（対照及び高用量群）：雌雄各 5 匹/群］にベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として 13 又は 26 週間投与した。TK 評価のために第 1 日並びに第 13 及び 26 週にサテライト群の動物から採血した。死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。

200 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 13 又は 26 週間投与し、また、26 週間投与後 4 週間の回復期間を設けた結果、死亡、一般状態、体重変化、摂餌量変化、眼科学的検査、臨床検査及び病理検査に投薬に関連した所見は認められなかった。13 週間投与後の中間評価時の剖検で 1 匹（200 mg/kg/日群の雌）に乳腺がんが認められたが、13 週間及び 26 週間投与後の他の高用量群の雌雄ラットの乳腺に増殖性変化が観察されなかったことから、ベルパタスビル投与に関連しない自然発生腫瘍と判断された。

ベルパタスビルの曝露量は 20～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、C_{max} 及び AUC_{0-t} の増加は概して用量比を下回った（表 4）。血漿中ベルパタスビル濃度の C_{max} 及び AUC_{0-t} に基づく性差は 2 倍未満であった。26 週間の反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。

表 4　ラット 26 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]			C_{max} (ng/mL)		
		Day 1	Week 13	Week 26	Day 1	Week 13	Week 26
20	M	2960[b]	3120	3130	480	504	499
	F	2950[b]	3320	3870	630	707	800
60	M	6980	7780	6690	917	856	852
	F	9170	7080	6720	1340	1040	1160
200	M	11100	15500	11000	1320	1080	1110
	F	14900	15500	13400	1730	1450	1230

VEL = velpatasvir, F = female; M = male
a　last time point = 24 h
b　last time point = 12 h
Source: Study No. TX-281-2007

以上のとおり、雌雄ラットに 200 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 26 週間まで経口投与し、その後 4 週間の回復期間を設けた結果、投薬に関連した作用は認められなかった。ベルパタスビルの NOEL は 200 mg/kg/日であった（第 26 週の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雌雄合算値でそれぞれ 1170 ng/mL 及び 12200 ng·h/mL）。本試験の NOEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 5 倍であった。

3.1.3　イヌ

3.1.3.1　ビーグル犬 2 週間経口投与試験及び 1 週間回復性試験

イヌにベルパタスビルを 2 週間連日強制経口投与し、その毒性及び TK を検討した。さらに、1 週間の回復期間後の所見の可逆性、持続性又は遅発性を評価した（2.6.7.7.4 項；TX-281-2004）。雌雄ビーグル犬［主試験群：雌雄各 3 匹/群、回復群（対照及び高用量群）：雌雄各 2 匹/群］にベルパタスビルを 0（溶媒）、5、20 又は 100 mg/kg/日の用量で、投与容量を 2 mL/kg として投与した。本試験の用量は、ビーグル犬を用いた用量漸増単回経口投与試験の結果を基に選択した。すなわち、同試験でベルパタスビルを 3、10、30、100 及び 200 mg/kg の用量で投与したところ、100 mg/kg 投与で最大曝露量に達したことから、本試験の最高用量を 100 mg/kg/日に設定した（2.6.5.3.10 項；AD-281-2013）。死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図（ECG）パラメーター、血圧測定、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。また、肝ミクロソーム酵素分析のため肝試料を採取し、TK 評価のため第 1 及び 14 日に採血した。

死亡、一般状態、体重又は体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、ECG パラメーター、血圧、肝ミクロソーム酵素、臨床検査及び病理検査に投薬に関連した所見はなかった。

ベルパタスビルの曝露量は 5～100 mg/kg/日で用量増加に伴い増加した（表 5）。概して C_{max} 及び AUC_{0-t} の性差は 2 倍未満であった。5～20 mg/kg/日の C_{max} 及び AUC_{0-t}（雌雄合算）は概して用量に比例して増加したが、20～100 mg/kg/日の増加は用量比を下回った。第 1 及び 14 日の C_{max} 及び AUC_{0-t} は概して類似し、イヌへの反復投与後にベルパタスビルの蓄積はないことが示された。

表 5　イヌ 2 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
5	M	1069[b]	1528	169	228
	F	2094	2230	344	401
20	M	9615	10761	930	950
	F	6137	9648	848	996
100	M	18920	26167	1532	2006
	F	8725	18853	1065	1426

VEL = velpatasvir, F = female; M = male;
a　last time point = 24 h
b　last time point = 20 h
Source: Study No. TX-281-2004

以上のとおり、雌雄ビーグル犬に 100 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 2 週間経口投与したとき、忍容性は良好であった。ベルパタスビルの NOEL は 100 mg/kg/日であった（第 14 日の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雌雄合算値でそれぞれ 1716 ng/mL 及び 22510 ng·h/mL）。本試験の NOEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 8 倍であった。

3.1.3.2　ビーグル犬 39 週間経口投与試験及び 4 週間回復性試験（13 週間投与中間評価含む）

イヌにベルパタスビルを 13 又は 39 週間連日強制経口投与し、その毒性及び TK を評価した。さらに、39 週間投与後、4 週間の回復期間を設定し、所見の可逆性を評価した（2.6.7.7.5 項；TX-281-2008）。雌雄ビーグル犬（対照及び高用量群：雌雄各 9 匹/群、低用量及び中用量群：7 匹/群）にベルパタスビルを 0（溶媒）、5、20 又は 100 mg/kg/日の用量で、投与容量を 2 mL/kg として投与した。死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、ECG パラメーター、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。TK 評価のため、第 1 日並びに第 13 及び 39 週に採血した。

投薬に関連した死亡は認められなかった。また、体重、体重増加量、眼科学的検査、ECG パラメーター及び病理検査に投薬に関連した所見は認められなかった。一般状態観察では、投薬に関連した所見として 100 mg/kg/日群の雌雄に、嘔吐の発現頻度の軽度増加がみられたのみであった。摂餌量は 100 mg/kg/日群の雌で軽度低値であった。これらの所見はいずれも有害とは判断しなかった。

投薬に関連した臨床検査値変動は、39 週間投与後の 100 mg/kg/日群の雌にみられたフィブリノゲン及びグロブリン濃度の軽度低下並びにアルブミン：グロブリン比の軽度上昇のみであった。これらの作用は、回復期間終了時に可逆性を示さなかったが、その作用の程度は小さく、関連する所見が認められなかったことから有害とは判断されなかった。100 mg/kg/日群の雄に同様の影響は認められなかった。

13 週間投与後に実施した中間評価において、対照群と比較して 100 mg/kg/日群に前立腺重量の一過性の増加が認められた。しかし、前立腺重量の生物学的変動は一般的に大きく、39 週間投与後に前立腺重量に対する作用がなかったこと及び病理組織学的検査において 13 週間又は 39 週間

投与後の前立腺に毒性作用を示唆する所見が観察されなかったことから、中間評価時の前立腺重量の軽微な増加は投薬に関連しないと判断した。

ベルパタスビルの曝露量は 5～100 mg/kg/日で用量増加に伴い増加した（表 6）。5～20 mg/kg/日までの C_{max} 及び AUC_{0-t} は概して用量に比例して増加したが、20～100 mg/kg/日の増加は用量比を下回った。ベルパタスビルの C_{max} 及び AUC_{0-t} の性差は 2 倍未満であった。反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。

表 6　イヌ 39 週間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)[a]		
		Day 1	Week 13	Week 39	Day 1	Week 13	Week 39
5	M	335	303	273	1880[b]	1500[b]	1500
	F	231	326	356	1250[c]	1720	1950
20	M	946	929	859	8610	8700	6380
	F	1170	1050	1050	10900	10500	7030
100	M	2370	2090	1940	32800	28600	25500
	F	2040	2060	2170	25300	31100	29800

VEL = velpatasvir, F = female; M = male
a last time point = 24 h
b last time point = 22.3 h
c last time point = 17.1 h
Source: Study No. TX-281-2008

以上のとおり、雌雄イヌに 100 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 1 日 1 回 13 週間又は 39 週間経口投与したとき、投薬に関連した有害な作用は認められなかった。39 週間投与後のベルパタスビルの NOAEL は 100 mg/kg/日であった（第 39 週の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雌雄合算値でそれぞれ 2060 ng/mL 及び 27800 ng·h/mL）。本試験の NOAEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 10 倍であった。

3.2　ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビル併用による反復投与試験は実施していない。ソホスブビル及びベルパタスビルをそれぞれ単剤でラット及びイヌに反復投与したとき、標的臓器毒性は異なるパターンを示した。GS-9851（ソホスブビルと GS-491241 のジアステレオマー混合物）を用いた 7 日間投与試験では、忍容性が不良な極めて高い曝露量（ラット及びイヌの試験でそれぞれ GS-331007 曝露量が臨床曝露量の 15 倍及び 63 倍以上）において、潜在的な標的臓器はラットで心血管系、イヌで消化管、肝臓及び造血器（赤血球）系であった。次に実施したソホスブビル短期投与試験では、ラットに 2000 mg/kg/日までの用量でソホスブビルを 7 日間投与したところ、早期死亡も心毒性の徴候も認められなかった。ラット摘出心組織はソホスブビル及びその代謝物に曝露されており（GS-331007 及び活性代謝物である三リン酸型 GS-461203 が組織に存在することで立証）、GS-566500（代謝物）及び GS-331007（代謝物）の血漿中濃度は 2 つのラット 7 日間試験で同程度であったことから、GS-9851 投与により認められた死亡及び心毒性は GS-491241 曝露

によるものであり、ソホスブビルが原因ではないことが示唆された。500 mg/kg/日までのソホスブビルを用いたラット及びイヌの長期反復投与毒性試験（GS-331007 曝露量は本剤の臨床曝露量のそれぞれ約 5 倍及び 14 倍）で、投薬による心臓及び肝臓に対する毒性は認められず、毒性は高用量群のイヌでみられた軽微な消化管関連の一般状態観察（軟便及び嘔吐）及び赤血球パラメーターの軽度減少（10%）に限られた。ソホスブビルの NOAEL は、ラットで 500 mg/kg/日、イヌで 100 mg/kg/日であり、NOAEL での曝露量は、本剤投与後の臨床曝露量と比較して、それぞれ約 5 倍及び約 6 倍高かった。

ベルパタスビルを用いたマウス、ラット及びイヌの反復投与試験では、ベルパタスビルによる標的臓器毒性は認められず、各試験の高用量が NOAEL/NOEL と判断された（マウス 4 週間：1500 mg/kg/日、ラット 26 週間：200 mg/kg/日、イヌ 39 週間：100 mg/kg/日）。これらの試験の NOEL/NOAEL におけるベルパタスビル曝露量は、本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量のそれぞれ約 74 倍、5 倍及び 10 倍高かった。したがって、ソホスブビル及びベルパタスビルの併用により既知の毒性が悪化することも、新規の毒性が発現することもないと考えられる。

4 遺伝毒性試験

4.1 ベルパタスビル

4.1.1 *In Vitro*

4.1.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

細菌を用いる復帰突然変異試験（2.6.7.8.1 項；TX-281-2005）では、プレート法を用い、ラット由来肝ホモジネート分画（S9 mix）の存在下及び非存在下で、最高 5000 µg/プレートまでの濃度範囲のベルパタスビルで *Salmonella typhimurium* 株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び *Escherichia coli* 株 WP2 *uvrA* を処理した。標準の陽性対照物質及び溶媒も細菌とインキュベートし、これらの物質に対する種々の菌株の反応に基づき、試験系の感度及び適切性並びに S9 mix 活性を確認した。被験物質が沈殿する 5000 µg/プレートまでの濃度で試験したところ、S9 mix の存在下又は非存在下で、復帰突然変異体コロニー数が増加した菌株はなかった。以上の結果は同じ用量による確定試験で確認された。このように、本試験条件下でベルパタスビルは遺伝毒性を示さなかった。

4.1.1.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

培養ヒト末梢血リンパ球を代謝活性化系の存在下又は非存在下で 3 時間、あるいは代謝活性化系非存在下で 20 時間ベスパタスビルで処理し、*in vitro* 染色体異常試験を実施した（2.6.7.8.2 項；TX-281-2006）。最高濃度は 500 µg/mL とした。これは ICH S2（R1）によって定義されている限界用量である。染色体異常の有無について培養細胞を分析した。

分析した培養細胞に、染色体異常、倍数性及び核内倍加のみられた細胞の有意な増加は認められなかった。溶媒対照の染色体異常を有する細胞数は背景値の範囲内であり、陽性対照では溶媒対照と比較して、染色体異常を有する細胞数の有意な増加がみられた。以上の結果は、代謝活性化系存在下及び非存在下の培養ヒトリンパ球において、ベルパタスビルに染色体異常誘発性がないことを示すものである。

4.1.2 *In Vivo*

4.1.2.1 *In Vivo* ラット小核試験

ラット 2 週間反復経口投与毒性試験の一環としてベルパタスビルの *in vivo* 小核試験を実施した（2.6.7.9.1 項；TX-281-2003）。ベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 及び 200 mg/kg/日の用量で 2 週間強制経口投与し、その後、大腿骨骨髄を摘出し、雄 5 匹/群について各ラットあたり 2000 個の PCE における小核の出現頻度を分析した。各ラットあたり最初の 500 個の赤血球中の PCE 数及び正染性赤血球（NCE）数をスコア化し、細胞毒性を調べた。ベルパタスビルは小核を有する PCE 数の統計学的に有意な増加を示さなかった。PCE：NCE 比の有意な低下も誘発せず、骨髄細胞毒性がないことが示唆された。

以上のとおり、ベルパタスビルを 200 mg/kg/日までの用量で 2 週間投与し、染色体損傷誘発性を *in vivo* で検討した結果、遺伝毒性はみられなかった。200 mg/kg/日投与雄ラットにおける第 14 日のベルパタスビルの $AUC_{0\text{-}t}$ は 21396 ng·h/mL であった。本用量におけるベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 7 倍であった。

4.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルは、いずれも一連の遺伝毒性試験の結果は陰性であった。個々の薬剤の遺伝毒性プロファイルがソホスブビルとベルパタスビルの併用によって変化するとは考えられない。

5 がん原性試験

5.1 ベルパタスビル

5.1.1 マウス

5.1.1.1 rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験

001178-T（ヘミ接合）rasH2 マウスにベルパタスビルを 26 週間経口投与し、がん原性を検討した。雌雄各 25 匹/群のマウスにベルパタスビルを 0（溶媒）、30、100 又は 1000 mg/kg/日の用量で、投与容量を 10 mL/kg として 26 週間連日強制経口投与した（2.6.7.10.1 項；TX-281-2043）。単回投与薬物動態試験（2.6.5.3.1 項；AD-281-2028 及び 2.6.5.3.2 項；AD-281-2034）における 1000 mg/kg/日投与時の曝露量が 4 週間反復投与試験（2.6.7.7.1 項；TX-281-2028）での 1500 mg/kg/日投与時の曝露量と類似したことから、吸収の飽和が示唆されたため、本試験の高用量を 1000 mg/kg/日に設定した。陽性対照群（雌雄各 15 匹）のマウスには第 1 日に 75 mg/kg の N-メチル N-ニトロソ尿素（MNU）を単回腹腔内投与した。がん原性は病理検査に基づき評価した。死亡、一般状態観察、体重及び摂餌量についても評価した。

ベルパタスビルの投与は生存率に影響しなかった。投与期間終了時の雌雄マウスの生存率は全用量群でそれぞれ 92%以上及び 96%以上であった（対照群の生存率は 92%以上）。したがって、ベルパタスビルのがん原性評価に十分な数の動物が生存した。陽性対照群の生存率は雌雄でそれぞれ 13%及び 47%であった。

1000 mg/kg/日のベルパタスビル投与まで、投薬に関連した腫瘍性病変及び非腫瘍性病変は認められなかった。陽性対照群では明らかながん原性が認められた。陽性対照群での死亡率上昇は主に悪性腫瘍の発現に関連した。一般状態、腫瘤の発現、体重及び体重増加量の変化及び摂餌量に投薬に関連した所見は認められなかった。

以上のとおり、本試験では高用量の 1000 mg/kg/日までがん原性を示唆する所見は認められなかった。なお、本試験では TK 測定を実施していないが、マウス 4 週間反復投与試験の第 4 週のデータ（2.6.7.7.1 項；TX-281-2028）に基づくと、臨床曝露量（AUC）と比較して 1000 mg/kg/日投与時のベルパタスビル曝露量は雄で最大 57 倍、雌で最大 91 倍に相当する。

5.1.2 ラット

5.1.2.1 ラット 2 年間経口投与がん原性試験

Sprague Dawley ラット（雌雄各 60 匹/群）にベルパタスビルを 0（RO 水）、0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で連日経口投与し、がん原性を検討した（2.6.7.10.2 項；TX-281-2030）。一般状態、触診可能な腫瘤、体重及び摂餌量変化を観察し、計画屠殺時には、剖検及び病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査所見は専門家による評価を受け、腫瘍所見は統計学処理を実施した。サテライト群の動物にも同様に投与し、TK 評価のために第 1 日及び第 27 週に採血した。さらに、何も投与しないセンチネル群（雌雄各 10 匹）を設定し、第 27、52 及び 78 週並び

に投与終了時に採血し、ウイルススクリーニングを実施した。

ベルパタスビルのがん原性評価に十分な数の動物が適切な期間生存した。雄は RO 水対照群の生存動物数が低下したため第 99 週に屠殺した。雌は溶媒対照群の生存動物数が低下したため第 92 週に屠殺した。終了時の各投薬群の生存率は雄で 30%以上、雌で 44%以上であり、いずれの群にも死亡率に統計学的有意差は認められなかった。

一般状態、腫瘤発現、体重及び摂餌量、眼科学的検査、剖検並びに病理組織学的検査に投薬に関連した所見はみられなかった。腫瘍の発現頻度に投薬の影響はみられなかった。

ベルパタスビルの曝露量は 20～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加は概して用量比を下回った。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の性差は 2 倍未満であった。ラットへの反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。

以上のとおり、ベルパタスビルを臨床曝露量（AUC）の雄で 5 倍、雌で 7 倍までの曝露量でラットに連日強制経口投与した試験において、がん原性を示唆する所見はみられなかった。

5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルは治療用量でのヒト曝露量を上回る曝露量での従来の 2 年間がん原性試験でがん原性を示さなかった。ベルパタスビルはトランスジェニックマウス及びラットを用いたがん原性試験において、それぞれ臨床曝露量の 91 倍及び 7 倍の曝露量までがん原性を示さなかった。各薬剤のがん原性試験の結果から、ソホスブビルとベルパタスビルの併用によりがん原性が認められることはないと判断される。

6 生殖発生毒性試験

6.1 ベルパタスビル

6.1.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験

6.1.1.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する経口投与試験

雌雄ラットに交配前から剖検時（雄）又は妊娠初期（雌）までベルパタスビルを 1 日 1 回、強制経口投与し、交配及び受胎能に対する作用を評価した（2.6.7.12.1 項；TX-281-2012）。本試験では、生殖機能、交尾行動、着床、雌の性周期及び受胎能に対する評価を実施した。

雌雄 Crl:CD(SD)ラット（雌雄各 22 匹/群）に、ベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として 1 日 1 回経口投与した。雌には少なくとも交配前 14 日間から交配期間を通して妊娠 7 日まで投与した。妊娠 13 日に雌を剖検し、子宮の生存胎児数、死亡胎児数、胚吸収数及び卵巣の黄体数を調べた。雄には少なくとも交配前 28 日間から交配期間を通して 10 週間以上投与後の剖検前日まで投与し、生殖機能を評価した。

死亡、一般状態観察、体重、体重増加量、摂餌量、生殖能、性周期（雌）、剖検所見、臓器重量、帝王切開の所見（黄体数、着床痕数、吸収胚数及び生存胎児数）及び精子分析（精子の死亡率及び数）により毒性を評価した。

投薬に関連した死亡はなかった。一般状態、体重、摂餌量に投薬に関連した作用は認められず、親動物に対する毒性所見もみられなかった。投薬に関連した剖検所見や生殖器重量の変化もなかった。

雌雄の生殖能に対する作用は認められなかった。生物学的に意味のある性周期に対する作用はみられなかった。黄体数、着床痕数、吸収胚数及び生存胎児数は群間で類似し、ベルパタスビルに胚・胎児の生存に対する影響はみられなかった。いずれの精子パラメーターにもベルパタスビルの影響はなかった。

以上のとおり、交配前から剖検（雄）又は妊娠初期（雌）まで雌雄ラットにベルパタスビルを 20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で経口投与したところ、雌雄生殖能に対する作用も胚・胎児の生存に対する作用もみられなかった。これらの結果に基づき、ラットの受胎能及び初期胚発生に対するベルパタスビルの NOEL は 200 mg/kg/日であった。ラット 2 週間試験の第 14 日のベルパタスビル曝露量に基づくと、本試験の NOEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 6 倍であった（2.6.7.7.2 項；TX-281-2003）。

6.1.2 胚・胎児発生毒性試験

6.1.2.1 マウス胚・胎児発生に関する試験

Crl:CD-1 妊娠マウス（25 匹/群）の器官形成期（妊娠 6～15 日）にベルパタスビルを 0（溶媒）、10、30、100 又は 1000 mg/kg/日の用量で、投与容量を 10 mL/kg として 1 日 1 回強制経口投与し、その母動物毒性、胚・胎児毒性及び TK を評価した（2.6.7.13.1 項；TX-281-2032）。サテライト動

物（溶媒対照群：6 匹、投薬群：36 匹/群）を追加し、妊娠 6 及び 15 日に TK を評価した。母動物の死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、子宮内検査並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査により評価した。

全動物は妊娠 18 日の計画屠殺時まで生存した。いずれの用量群にも一般状態観察、体重、摂餌量及び剖検に投薬に関連した所見はみられなかった。子宮内胎児の成長及び生存に対する母動物へのベルパタスビル投与の影響はみられなかった。胎児の外表、内臓又は骨格検査にベルパタスビル投与に起因する所見はなかった。

ベルパタスビルの曝露量は、概して 10～1000 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、C_{max} 及び AUC_{0-t} の増加は用量比を下回った（表 7）。妊娠マウスへの反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。溶媒対照群の血漿中ベルパタスビル濃度はいずれも定量下限未満（<2.00 ng/mL）であった。

表 7　マウス胚・胎児発生に関する試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター
（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		GD 6	GD 15	GD 6	GD 15
10	Female	7550[b]	6820	2100	1730
30	Female	22700[b]	22100	4650	4070
100	Female	56300	43700	9240	6560
1000	Female	156000	93000	13500	10300

VEL = velpatasvir, GD = gestation day
a　last time point = 24 h
b　last time point = 12 h
Source: Study No. TX-281-2032

1000 mg/kg/日までの投与で母動物毒性及び胚･胎児発生毒性は認められなかった。したがって、Crl:CD-1 妊娠マウスにベルパタスビルを強制経口投与したときの母動物毒性及び胚･胎児発生毒性に対する NOEL は最高用量の 1000 mg/kg/日と考えられた（妊娠 15 日の母動物の AUC_{0-t} は 93000 ng·h/mL）。本試験の NOEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の 31 倍であった。

6.1.2.2　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験

胚・胎児発生毒性試験のための用量設定試験として、妊娠ラットの器官形成期にベルパタスビルを 1 日 1 回強制経口投与し、母動物毒性、胚・胎児毒性及び TK を評価した（2.6.7.11 項；TX-281-2009）。Crl:CD(SD)妊娠ラット（8 匹/群）の妊娠 6～17 日にベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として投与した。サテライト動物（3～9 匹/群）を追加し、妊娠 6 及び 17 日に TK を評価した。母動物の死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、子宮内検査並びに胎児の外表及び内臓検査により毒性を評価した。

母動物の死亡、一般状態観察、体重、体重増加量、摂餌量、剖検、生殖能及び子宮内検査において、ベルパタスビルの作用は認められなかった。また、胎児の外表奇形や内臓奇形も認められ

ず、投薬に関連した内臓変異も観察されなかった。

ベルパタスビルの曝露量は 20～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加した（表 8）。20～60 mg/kg/日の C_{max} 及び AUC_{0-t} は概して用量に比例して増加したが、60～200 mg/kg/日の増加は概して用量比を下回った。C_{max} 及び AUC_{0-t} は妊娠 6 日と比較して妊娠 17 日で軽度高値であった。

表 8　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
20	Female	2170[b]	3830	308	550
60	Female	6840	9300	880	1120
200	Female	12100	17100	1300	1750

VEL = velpatasvir, GD = gestation day
a　last time point = 24 h
b　last time point = 12 h
Source: Study No. TX-281-2009

以上のとおり、200 mg/kg/日（妊娠 17 日の AUC_{0-t}：17100 ng·h/mL）までの用量でベルパタスビルを妊娠 6～17 日に投与したとき、妊娠ラットにベルパタスビルの作用は認められなかった。本試験の NOEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 6 倍であった。

6.1.2.3　ラット胚・胎児発生に関する試験

妊娠ラットの器官形成期にベルパタスビルを 1 日 1 回強制経口投与し、母動物毒性及び胚･胎児毒性を評価した（2.6.7.13.2 項；TX-281-2013）。

Crl:CD(SD)妊娠ラット（22 匹/群）の妊娠 6～17 日にベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として 1 日 1 回経口投与した。母動物の死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、生殖能、剖検、子宮内検査並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査により毒性を評価した。

試験期間中、途中死亡はなかった。試験期間を通して体重、摂餌量及び一般状態に対する投薬に関連した作用は認められなかった。全ラットが生存児を出産し、溶媒対照群及び投薬群の子宮内検査値は類似した。胎児の外表、内臓及び骨格検査においてベルパタスビル投与に起因する変異や奇形は観察されなかった。

以上のとおり、妊娠ラットの器官形成期にベルパタスビルを 20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で経口投与したところ、母動物毒性及び胚･胎児毒性に対する作用はみられず、ラットにおける胚･胎児発生毒性の NOEL は 200 mg/kg/日であった。本試験の NOEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 6 倍であった［妊娠 17 日の AUC_{0-t}：17100 ng·h/mL（2.6.7.11 項；TX-281-2009）］。

6.1.2.4 ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験

胚・胎児発生毒性試験のための用量設定試験として、妊娠ウサギの器官形成期にベルパタスビルを 1 日 1 回強制経口投与し、ベルパタスビルの母動物毒性、胚・胎児毒性及び TK を評価した（2.6.7.11 項；TX-281-2010）。Hra:(NZW)SPF 妊娠ウサギ（6 匹/群）の妊娠 7～20 日にベルパタスビルを 0（溶媒）、100、300 又は 600 mg/kg/日の用量で、投与容量を 10 mL/kg として投与した。母動物の死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、子宮内検査並びに胎児の外表及び内臓検査により毒性を評価した。TK 評価のため妊娠 7 及び 20 日に全動物から採血した。

母動物の死亡、一般状態観察、体重、体重増加量、摂餌量、剖検、生殖能及び子宮内検査値に投薬に関連した作用はなかった。ベルパタスビル投与に起因した胎児奇形は認められず、内臓の奇形や変異もなかった。

ベルパタスビルの曝露量は、概して 100～300 mg/kg/日では用量増加に伴い増加したが、300～600 mg/kg/日では用量増加に伴う曝露量増加はみられなかった（表 9）。100～300 mg/kg/日の C_{max} 及び AUC_{0-t} の増加は概して用量比を下回った。ウサギへの反復投与後、ベルパタスビルの蓄積（4.2～6.1 倍）が認められた。

表 9 ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		GD 7	GD 20	GD 7	GD 20
100	Female	1210	5966	143	783
300	Female	1920	11800	184	892
600	Female	2170	9010	144	719

VEL = velpatasvir, GD = gestation day
a last time point = 24 h
Source: Study No. TX-281-2010

以上のとおり、600 mg/kg/日（GD 20 の C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ 719 ng/mL 及び 9010 ng·h/mL）までの用量でベルパタスビルを妊娠 7～20 日に投与したとき、妊娠ウサギにベルパタスビルの作用は認められなかった。本試験の NOEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の 3 倍であった。

6.1.2.5 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

妊娠ウサギの器官形成期にベルパタスビルを 1 日 1 回強制経口投与し、母動物毒性、胚･胎児毒性及び TK を評価した（2.6.7.13.3 項；TX-281-2014）。Hra:(NZW)SPF 妊娠ウサギ（25 匹/群）の妊娠 7～20 日にベルパタスビルを 0（溶媒）、30、100 又は 300 mg/kg/日の用量で、投与容量を 10 mL/kg として 1 日 1 回強制経口投与した。ウサギ用量設定試験で 300 mg/kg/日と 600 mg/kg/日投与時のベルパタスビル曝露量が類似していたことから最高用量を 300 mg/kg/日とした（2.6.7.11 項；TX-281-2010）。母動物の死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、生殖能子宮内検査並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査により毒性を評価した。TK 評価のため妊娠 7 及び 20 日に採血した。

妊娠 21 日に 300 mg/kg/日群の母動物 1 匹が瀕死状態となったため切迫屠殺した。死亡は投薬に関連すると判断した。死亡前に削痩、糞量過少又はなし、被毛粗剛、全身衰弱及び体重減少が観察された。他の全動物は計画屠殺時まで生存した。母動物の一般状態観察、体重、摂餌量、剖検、生殖能及び子宮内検査値に投薬に関連した影響は認められなかった。溶媒対照群並びに 30、100 及び 300 mg/kg/日群でそれぞれ 2、6、3 及び 3 匹に妊娠が認められなかったが、用量反応性はなく、対照動物でも同様に発生していることからベルパタスビル投与とは無関係であった。胎児の外表、内臓及び骨格検査の変異又は奇形の発現に投薬の影響はみられなかった。

ベルパタスビルの曝露量は 100 及び 300 mg/kg/日群で類似した（表 10）。妊娠ウサギへの反復投与後、ベルパタスビルの蓄積（2.3～6.6 倍）が認められた。

表 10　ウサギ胚・胎児発生に関する試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

VEL (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)[a]		C_{max} (ng/mL)	
		GD 7	GD 20	GD 7	GD 20
30	Female	NA	NA	NA	NA
100	Female	739[b]	1940	107	258
300	Female	442	2060	66.7	218

VEL = velpatasvir, NA = not applicable (Note: Mean was not calculated as only 1 animal was pregnant.)
a last time point = 24 h
b last time point = 20 h
Source: Study No. TX-281-2014

以上のとおり、Hra:(NZW)SPF 妊娠ウサギに妊娠 7～20 日までベルパタスビルを強制経口投与したところ、投薬に関連する死亡が 300 mg/kg/日群の 1 匹に認められた。全用量群に胎児毒性は認められなかった。したがって、母動物毒性の NOEL は 100 mg/kg/day（妊娠 20 日の母動物の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ はそれぞれ 258 ng/mL 及び 1940 ng·h/mL）であり、胚･胎児発生に対する NOEL は 300 mg/kg/day（妊娠 20 日の母動物の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ はそれぞれ 218 ng/mL 及び 2060 ng·h/mL）であった。本試験の母動物及び胚・胎児毒性に関する NOEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）のいずれも 0.7 倍であった。

6.1.3　出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験

6.1.3.1　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験

着床から離乳時まで母動物にベルパタスビルを投与し、母動物の妊娠、分娩及び授乳並びに F1 新生児の発生、生存及び成長に対するベルパタスビルの毒性を評価した（2.6.7.14.1 項；TX-281-2027）。F1 世代の生殖能も評価した。Crl:CD(SD)妊娠ラット（25 匹/群）に妊娠 6 日～授乳 20 日までベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として 1 日 1 回強制経口投与した。離乳時に同腹児あたり雌雄各 1～2 匹を無作為に選択して F1 世代とした（雌雄各 24 匹/群）。これらの動物には直接投与しなかった。TK 評価のため、サテライト群の動物にも同様に投与し、妊娠 6 日及び授乳 10 日の所定の時点で採血した。同様に、生後 10 日（授乳 10 日）に、採血した母動物の同腹児雌雄各 1 匹からも同じ採血時点で採血した。

F0 雌は、死亡、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量並びに剖検により毒性を評価した。さらに、分娩中の一般状態観察、妊娠期間、生存同腹児数及び母動物の行動についても評価した。F1 児動物の生存、体重及び一般状態を各同腹児について記録した。F1 世代については、死亡、一般状態観察、体重、体重変化量及び性成熟（生後 25 日からの膣開口、生後 35 日からの亀頭包皮分離）を全動物について記録した。F1 動物の一部において行動能力（生後 21 及び 61 日の自発運動量、生後 20 及び 60 日の聴覚性驚愕反射並びに生後 22 及び 62 日の Biel 型水迷路）及び生殖能を評価した。生殖能検査に割り付けた各 F1 雌の性周期を雄との交配前の 10 日間にわたり連日評価した。F1 世代の一部を約 85 日齢で 15 日間交配させた。F1 雌は全て出産させ、出生児を生後 4 日まで哺育させた。F2 世代については、適切な時期に一般状態観察、体重及び性別を記録した。全ての生存 F1 雌は交配後 25 日目、すなわち同居後 25 日目の授乳 4 日に剖検した。F1 雄は最後の雌の剖検後に屠殺した。死亡又は切迫屠殺動物あるいは母動物死亡のため屠殺した F2 児動物は全て剖検し、残る全ての F2 児動物は生後 4 日に屠殺し、剖検は実施しなかった。

妊娠及び授乳中、いずれの用量群にも F0 雌に投薬に関連した作用は認められなかった。一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、妊娠期間又は分娩過程にベルパタスビル投与に関連した所見はなく、剖検並びに着床痕数及び着床後胚損失数にも投薬に関連した作用はなかった。F1 児動物における出生児数、生存同腹児数、出生時の性比並びに生後の生存、体重、一般状態、成長、驚愕反射、自発運動量、学習・記憶、生殖能及び剖検所見に影響はなく、F0 母動物へのベルパタスビル投与に起因した F1 世代に対する作用はなかった。F2 児動物における出生児数、生後 0 日の生存率並びに生後の生存性、身体状態、体重、体重増加量及び死亡又は母動物死亡により屠殺した F2 児動物の剖検所見についても、F0 母動物へのベルパタスビル投与に起因した作用はなかった。

F0 母動物でのベルパタスビルの曝露量は、概して 20～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加した（表 11）。20～60 mg/kg/日の F0 世代の C_{max} 及び AUC_{0-t} は概して用量に比例して増加したが、60～200 mg/kg/日の増加は概して用量比を下回った。いずれの用量群でも F0 母動物における妊娠 6 日及び授乳 10 日のベルパタスビルの曝露量は同程度であった。F1 児動物でのベルパタスビルの曝露量は母動物への 20～200 mg/kg/日の投与において、概して用量増加に伴い増加した。F1 児動物の C_{max} は概して用量に比例して増加したが、AUC_{0-t} は 20～200 mg/kg/日で用量比を上回る増加を示した。ベルパタスビルの C_{max} 及び AUC_{0-t} の性差は 2 倍未満であった。F0 母動物の授乳 10 日の AUC_{0-t} は F1 児動物の雌雄より 20 倍超高かった。

表 11　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験における
ベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

Interval	VEL (mg/kg/day)	Generation	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]	M:O Ratio AUC_{0-t}
GD 6	20	F0	Female	503	2790[b]	NA
	60		Female	750	6500	NA
	200		Female	1180	10200	NA
LD 10	20	F0	Female	402	2540[b]	NA
	60		Female	970	7940	NA
	200		Female	1670	13900	NA
PND 10	20	F1	Male	3.79	36.1[b]	70.3
			Female	3.80	34.6	73.3
			Combined	3.80	34.0	74.7
	60	F1	Male	11.8	186	42.6
			Female	12.2	193	41.2
			Combined	12.0	190	41.9
	200	F1	Male	31.8	617	22.5
			Female	27.5	548	25.3
			Combined	29.7	583	23.8

M:O = maternal to offspring ratio; NA = not applicable, GD = gestation day, LD = lactation day, PND = postnatal day, VEL = velpatasvir
Note: Combined (male/female) data is based on the analysis of the combined mean concentration data for both F1 sexes.
a last time point = 24 h
b last time point = 12 h
Source: Study No. TX-281-2027

以上のとおり、いずれの用量群でも投薬に関連する作用は認められなかった。したがって、ラットにベルパタスビルを経口投与したときの F0 母動物の全身毒性、F1 新生児の発生毒性、F1 親動物の全身毒性、F1 の生殖毒性並びに F2 新生児の生後初期の毒性に対する NOEL は 200 mg/kg/日と考えられた。本試験の NOEL での F0 母動物（授乳 10 日）及び F1 児動物（生後 10 日）の AUC_{0-t} はそれぞれ 13900 ng· h/mL 及び 583 ng· h/mL であり、NOEL での母動物におけるベルパタスビルの曝露量は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量（AUC）の約 5 倍であった。

6.1.4　幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた独立したベルパタスビルの毒性試験は実施していない。反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験によってベルパタスビルの毒性は適切に特徴付けられた。小児集団で発生する可能性のある組織に対する有害作用は認められていない。したがって、幼若動物を用いたベルパタスビルの非臨床試験を追加実施しても、小児被験者の安全性評価に大きく寄与することはないと考えられる。

6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルの単剤の生殖発生毒性試験において、毒性所見は認められなかった。ベルパタスビルを用いたウサギ胚･胎児発生毒性試験における NOEL でのベルパタスビルの曝露量を除き、生殖発生毒性試験における NOEL/NOAEL での個々の薬剤の曝露量はいずれも臨床曝露量を上回った。ソホスブビルとベルパタスビルの併用によって個々の薬剤の生殖発生毒性プロファイルが変化するとは考えられないため、ソホスブビルとベルパタスビルの併用試験の実施は必要ないと判断した。

7 局所刺激性試験

7.1 ベルパタスビル

7.1.1 眼刺激性試験

7.1.1.1 ウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験

OECD ガイドライン 437 に従いウシ角膜混濁度及び透過性（BCOP）試験を行い、*in vitro* におけるベルパタスビルの眼刺激性を評価した（2.6.7.16 項；TX-281-2039）。ベルパタスビル及び陽性対照（イミダゾール）を 20%（w/w）濃度で生理食塩液に溶解し、角膜に 4 時間適用した。ベルパタスビルが惹起した *in vitro* 刺激性スコア（IVIS）は 3.4 ± 0.6 であり、国際連合の化学品の分類及び表示に関する世界調和システム（2011）に従うと、強度の刺激物質ではなかった。イミダゾールの IVIS は 154.3 ± 13.0 であり、本試験に腐食性・強度刺激物質の検出力があることが確認された。

7.1.2 皮膚刺激性試験

7.1.2.1 ウサギ皮膚刺激性試験

OECD ガイドライン 404 に従い、ニュージーランド白色（NZW）ウサギにおけるベルパタスビルの皮膚刺激性を評価した（2.6.7.16 項；TX-281-2040）。雌性ウサギ 3 匹に約 0.5 g のベルパタスビルを 4 時間、単回半閉塞貼付した（RO 水 0.5 mL で湿らせた剃毛した正常皮膚）。対照部位もベルパタスビル無添加で同様に処置した。動物を 4 日間観察し、半閉塞貼付の除去後 1、24、48 及び 72 時間目に皮膚反応をスコア化した。全動物が生存し、明らかな臨床徴候はなかった。試験期間中、皮膚反応は認められなかった。皮膚一次刺激性指数は 0.0 と算出され、ベルパタスビルはウサギ皮膚に対して「刺激性なし」と分類された。

7.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

本剤は経口投与することが想定されている。ソホスブビルとベルパタスビル併用の局所刺激性試験は実施していない。

8 その他の毒性試験

8.1 ベルパタスビル

8.1.1 抗原性試験

8.1.1.1 マウス局所リンパ節試験

OECD ガイドライン 429 に従い、マウス局所リンパ節試験（LLNA）を実施し、ベルパタスビルの皮膚感作性を評価した（2.6.7.17.2 項；TX-281-2041）。ジメチルホルムアミドでベルパタスビルを 10、25 又は 50%（w/v）濃度に調製した。雌性 CBA/Ca マウス（5 匹/群）の両耳介の背面に、溶媒、陽性対照（25% v/v ヘキシルシンナミックアルデヒド）及び各濃度のベルパタスビル 25 µL を 3 日間連日塗布した。初回塗布から 5 日後に ^{3}H-メチルチミジンを静脈内投与し、流入領域耳介リンパ節から採取したリンパ節細胞の増殖反応を、β-シンチレーション検出器により ^{3}H-メチルチミジンの取り込みを測定することにより評価した。

試験期間中、死亡はなく、投薬に関連した有害な一般状態、皮膚反応、耳の肥厚及び体重変化は認められなかった。流入領域リンパ節に取り込まれたチミジン由来放射能の試験群/対照群比（刺激指数、SI）は 10%、25%及び 50% w/v 濃度のベルパタスビル塗布においてそれぞれ 2.4、2.3 及び 2.8 であり、ベルパタスビルは皮膚感作性を誘発しないことが示された。陽性対照物質ヘキシルシンナミックアルデヒドの SI は 32.5 であり、この試験の妥当性が示された。したがって、ベルパタスビルは潜在的な皮膚感作性物質ではないと結論される。

ベルパタスビルの反復投与毒性試験において、アレルギー反応を誘発する可能性を示唆する所見は認められなかったことから、独立した抗原性試験は実施していない。

8.1.2 免疫毒性試験

ベルパタスビルを用いた独立した免疫毒性試験は実施していない。ベルパタスビルの反復投与毒性試験では免疫学的な懸念を示す所見はなかった。

8.1.3 毒性発現の機序に関する試験

ベルパタスビルを用いた独立した毒性発現の機序に関する試験は実施していない。

8.1.4 依存性試験

ベルパタスビルの依存性に関する独立した試験は実施していない。標識したベルパタスビルを用いたマウス及びラットの組織内分布試験では（2.6.4.4.1.2 項）、中枢神経系組織の放射能濃度は極めて低濃度であった。結論として、ベルパタスビルの依存性試験は必要ないと考える。

8.1.5 代謝物の毒性試験

ベルパタスビルの代謝物を用いた独立した試験は実施していない。ベルパタスビル経口投与後の血漿中主要代謝物もヒト特異的な代謝物もなかった（2.6.4.5.1.2 項）。

8.1.6 不純物の毒性試験

8.1.6.1 不純物39* の細菌を用いる復帰突然変異試験

製造工程の出発物質である 不純物39* について、*Salmonella typhimurium* 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）のヒスチジン遺伝子座及び *Escherichia coli* 株 WP2 *uvrA* のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発能を評価した（2.6.7.17.1 項；TX-281-2033）。S9 mix の存在下又は非存在下で評価を行った。

初回の変異原性試験では、S9 mix の存在下及び非存在下で、全ての試験菌株について 5～5000 µg/プレートの濃度で 不純物39* を評価した。この試験結果に基づき、TA1535 及び WP2 *uvrA* 株では 5～5000 µg/プレート、TA98、TA100 及び TA1537 株については 0.016～50 µg/プレートの濃度で、S9 mix 非存在下で確定試験を行った。

S9 mix 存在下又は非存在下での初回及び確定試験において、復帰突然変異コロニー数の 2 倍以上の増加が TA98 及び TA100 で認められた。その他の試験菌株では初回及び確認試験において S9 mix 存在下又は非存在下のいずれも復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。陽性及び溶媒対照の値は全て背景値の範囲内であり、全ての基準に適合し、試験の妥当性が確認された。

以上のとおり、不純物39* は細菌を用いる復帰突然変異試験で、S9 mix の非存在下及び存在下、TA98 及び TA100 について陽性であった。

8.1.6.2 ベルパタスビルの潜在的工程内不純物の雄性ラット 2 週間経口投与安全性確認試験

ラット 2 週間反復経口投与毒性により、ベルパタスビルの潜在的工程内不純物の安全性を評価した（2.6.7.17.2 項；TX-281-2042）。

雄性ラット（10 匹/群）に、0（溶媒）、200 mg/kg/日のベルパタスビルあるいは 60 又は 200 mg/kg/日のベルパタスビル-B（添加不純物含有ロット）を投与容量 5 mL/kg として 1 日 1 回強制経口投与した。死亡、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、臨床検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）及び病理検査により毒性を評価した。TK 評価のため、サテライト動物（雄性ラット 3～9 匹/群）から採血した。

全動物が計画屠殺時まで生存した。一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量に投薬に関連した所見はみられなかった。また、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査にもベルパタスビル及びベルパタスビル-B 投与に関連した有害所見は観察されなかった。臨床検査では、ベルパタスビル及びベルパタスビル-B の 200 mg/kg/日群で同程度の赤血球パラメーターの軽微な低下のみが認められたが、有害とはみなさなかった。

ベルパタスビル-B 投与後のベルパタスビルの曝露量は 60～200 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加は概して用量比を下回った。ベルパタスビル群及びベルパタスビル-B 群のいずれの動物にも反復投与後にベルパタスビルの蓄積は認められなかった。ベルパタスビル及びベルパタスビル-B を 200 mg/kg/日の用量で経口投与したときのベルパタスビルの曝露量は類似した。

以上のとおり、ベルパタスビル又はベルパタスビル-B を 200 mg/kg/日までの用量で 14 日間経

* 新薬承認情報提供時に置き換え

口投与したところ有害作用はなかった。ベルパタスビル及びベルパタスビル-B の NOAEL は 200 mg/kg/日であり、NOAEL での第 14 日の平均 C_{max} 及び AUC_{0-24h} はベルパタスビルでそれぞれ 952 ng/mL 及び 7620 ng·h/mL、ベルパタスビル-B でそれぞれ 1300 ng/mL 及び 9330 ng·h/mL であった。本試験の比較ロットで観察された所見は過去の試験で認められた所見と類似したことから、これらの結果に基づきベルパタスビルの潜在的工程内不純物の安全性は確認された。

8.1.7 その他の試験

8.1.7.1 雄性ラット 5 日間経口投与予備試験

ラットにベルパタスビルを 5 日間、1 日 1 回強制経口投与し、その毒性及び TK を検討した（2.6.7.17.2 項；TX-281-2001）。雄性 Sprague-Dawley ラット（5 匹/群）にベルパタスビルを 0（溶媒）、50、150 又は 450 mg/kg/日の用量で、投与容量を 5 mL/kg として投与した。死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、臨床検査及び病理検査により毒性を評価した。TK 評価のため、第 1 及び 5 日にサテライト群の動物から採血した。

全動物が計画屠殺時まで生存した。ベルパタスビルは一般状態、体重、体重増加量、摂餌量及び臨床検査値に影響しなかった。計画屠殺時の検査では、投薬に起因する臓器重量変化、剖検及び病理組織学的検査所見はなかった。認められた臓器重量変化及び剖検/病理組織学的検査所見は生物学的変動の正常範囲内であるか、又は偶発所見と考えられた。

ベルパタスビルの曝露量（AUC_{0-24h}）は 50～150 mg/kg/日で用量増加に伴い増加したが、150～450 mg/kg/日では類似した。第 5 日の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は第 1 日の数値と同程度であり、蓄積はないことが示された（表 12）。

表 12 ラット 5 日間経口投与試験におけるベルパタスビルの TK パラメーター（平均値）

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)	
		Day 1	Day 5	Day 1	Day 5
50	Male	4960	5500	656	810
150	Male	11600	12800	1190	1300
450	Male	14300	16100	1450	1420

Source: Study No. TX-281-2001

以上のとおり、450 mg/kg/日までの用量でベルパタスビルを 5 日間経口投与したときの忍容性は良好であり、投薬に関連する所見は認められなかった。したがって、本試験の NOAEL は 450 mg/kg/日であった（第 5 日の C_{max} 及び AUC_{0-24h} はそれぞれ 1420 ng/mL 及び 16100 ng·h/mL）。本試験の NOAEL でのベルパタスビルの曝露量は本剤投与後の臨床曝露量（AUC）の約 5 倍であった。

8.1.7.2 Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞におけるニュートラルレッド取り込み光毒性試験

Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞をベルパタスビル及び紫外線（UV）に曝露したときの生存率を、UV 照射なしでのベルパタスビル曝露時の生存率と比較し、ベルパタスビルの光毒性を *in vitro* で

評価した（2.6.7.17.1 項；TX-281-2015）。陽性対照としてプロメタジンを使用した。

ベルパタスビルの Photo-Irritation-Factor（PIF、光毒性係数）は 266 超、Mean Photo Effect（MPE、平均光作用）は 0.625 であり、判定基準（それぞれ>5 及び>0.15）に従い、光毒性ありと判断した。試験した最高濃度で、ベルパタスビルに細胞毒性はなかった。プロメタジンの細胞毒性及び光毒性の基準は試験施設の背景値に従うと適合しており、試験の妥当性が示された。

以上のとおり、ベルパタスビルは光毒性を示したが細胞毒性はなかった。

8.1.7.3 有色ラット皮膚に対する反復経口投与光毒性試験

有色 Crl:LE（Long-Evans）ラットにベルパタスビルを 1 日 1 回 3 日間強制経口投与し、その後キセノンランプ（太陽光を模倣）を照射してラット皮膚に対するベルパタスビルの光毒性を評価した（2.6.7.17.2 項；TX-281-2016）。ベルパタスビルは 8-メトキシプソラレン（8-MOP、陽性対照）と比較した。雌性有色ラット（5 匹/群）にベルパタスビルを 0（溶媒）、20、60 又は 200 mg/kg/日の用量で、3 日間連日経口投与した。8-MOP は UV 照射日に経口投与した（3 匹/群）。最終投与約 4 時間後（又は 8-MOP 群では 1 時間後）、鎮静させたラット背部の色素の薄い及び濃い皮膚に 10.29～10.78 J/cm^2 の UVA 及び 145～152 mJ/cm^2 の UVB を 42～44 分間照射した。UV 照射日に 2 回、その後 3 日間は 1 日 1 回、一般状態及び皮膚反応を観察した。投与期間中、UV 照射日及び照射後の観察期間中に毎日体重を記録した。ベルパタスビル濃度測定のため、第 3 日の投与前及び投与約 4 時間後にサテライト群の動物から採血した。観察期間及び採血終了時に動物を屠殺した。剖検は実施しなかった。

一般状態及び体重に特記すべき所見は認められず、全動物が計画屠殺時まで生存した。ベルパタスビルを 200 mg/kg/日までの用量で 3 日間連日投与し、その後 UVA 及び UVB を単回照射した結果、光毒性を示唆する皮膚反応（紅斑又は浮腫）は誘発されなかった。8-MOP を投与したラットでは光毒性を示す皮膚所見がみられ、試験の妥当性が確認された。UV 照射時の血漿中ベルパタスビル濃度は用量増加に伴い増加し、第 3 日の 20、60 及び 200 mg/kg/日の投与 4 時間後の血漿中ベルパタスビル濃度はそれぞれ 240、846 及び 1266 ng/mL であった。

以上のとおり、200 mg/kg/日までの用量でラットに 3 日間経口投与したとき、ベルパタスビルに光毒性はないと判断された。本試験の NOEL でのベルパタスビルの曝露量（C_{max}；1266 ng/mL）は本剤投与後のベルパタスビル臨床曝露量［C_{max}（259 ng/mL）、2.7.2.3.2.1.3.1 項］と比較して約 5 倍であった。

9 考察及び結論

ベルパタスビルはマウスで 4 週間まで、ラットで 6 ヵ月まで、イヌで 9 ヵ月までの試験でいずれも忍容性は良好であった。いずれの反復投与毒性試験でも標的臓器は特定されず、試験された最高用量が NOEL/NOAEL であった。本剤投与後の HCV 感染患者のベルパタスビル曝露量と比較して、NOEL/NOAEL でのベルパタスビルの全身曝露量（雌雄合算値）は、マウス、ラット及びイヌでそれぞれ約 74 倍、5 倍及び 10 倍高かった。

ソホスブビルとベルパタスビルを併用した反復投与試験は実施していない。ソホスブビル及びベルパタスビルは、マウス、ラット及びイヌに反復投与したとき、異なる標的臓器毒性パターンを示した。したがって、ソホスブビル及びベルパタスビルの併用により既知の毒性が悪化することも、新規の毒性が発現することもないと考えられる。

9.1 標的臓器毒性

9.1.1 ベルパタスビル

マウスで 4 週間まで、ラットで 26 週間まで、イヌでは 39 週間までの反復投与試験で、標的臓器は特定されず、いずれの試験でも最高用量が NOEL/NOAEL であった。マウスでは投薬に関連した所見として 1500 mg/kg/日を投与した雄で白血球数、絶対好中球数及び絶対リンパ球数の軽度な低下のみが観察されたが、有害とはみなさなかった。ラット試験では、13 週間投与後中間評価時の剖検で 1 匹に乳腺がんが認められた。しかし、13 週間及び 26 週間投与後の他の高用量群の雌雄ラットの乳腺に増殖性変化は観察されず、同様の週齢の雌性 Sprague-Dawley ラットにおいて報告されている乳腺がんの発現頻度と同程度であったことから、投薬には関連しない自然発生腫瘍と判断した［6、7］。イヌの長期反復投与試験で、100 mg/kg/日群の雌雄にみられた嘔吐の発現頻度の軽度増加及び 100 mg/kg/日群の雌にみられた摂餌量の中等度の低下は有害ではないと判断した。100 mg/kg/日群の雌において 39 週間投与後にみられたフィブリノゲン及びグロブリン濃度の軽度低下並びにアルブミン：グロブリン比の軽度上昇も有害ではないと判断した。イヌの長期反復投与試験で、13 週間投与後中間評価時に前立腺重量の増加が認められた。しかし、39 週間投与後に前立腺重量に対する作用がなかったこと及び前立腺に病理組織学的変化がなかったことから、中間剖検時の前立腺重量の軽微な変化は投薬に関連しないと判断した。ラット及びイヌ長期反復投与毒性試験における NOEL/NOAEL でのベルパタスビルの曝露量は、本剤投与後臨床曝露量よりそれぞれ少なくとも 5 倍及び 10 倍高かった。

9.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルは、ラット及びイヌに反復投与したとき、異なる標的臓器毒性パターンを示した。ソホスブビル投与後に臨床的に問題となる標的臓器毒性は認められなかった。イヌで認められた消化管に対する影響（嘔吐、軟便）及び赤血球パラメーターの低下は軽微であった。ラット及びイヌ長期反復投与毒性試験における NOEL/NOAEL での GS-331007 曝露量は臨床曝露量のそれぞれ約 5 倍及び 6 倍高かった。ベルパタスビル投与に関連した標的臓器毒性

は認められなかった。ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験における NOEL/NOAEL でのベルパタスビルの曝露量は、臨床曝露量よりそれぞれ約 5 倍及び 10 倍高かった。

ソホスブビル及びベルパタスビルの間に臨床的に問題となる薬物動態学的相互作用がないこと及び標的臓器が異なることを考慮すると、レジパスビル／ソホスブビル併用投与によって個々の薬剤の既知の毒性が悪化するとは考えられない。

9.2 遺伝毒性

ソホスブビル及びベルパタスビルの遺伝毒性試験の結果は陰性であった。両薬剤の併用によって個々の薬剤の遺伝毒性プロファイルが変化するとは考えられない。

9.3 がん原性

ソホスブビルは治療用量でのヒト曝露量を上回る曝露量での従来の 2 年間がん原性試験でがん原性を示さなかった。ベルパタスビルはトランスジェニックマウス（6 ヵ月間）及びラット（2 年間）がん原性試験において、それぞれ臨床曝露量の 91 倍及び 7 倍の曝露量までがん原性を示さなかった。したがって、併用投与によって個々の薬剤のがん原性が変化する可能性は低く、毒性の悪化はないと推定される。

9.4 生殖発生毒性

9.4.1 ベルパタスビル

ベルパタスビル投与よる有害な生殖毒性は認められなかった。ラット受胎能試験における NOEL は最高投与量の 200 mg/kg/日であり、雌雄ラットでのベルパタスビル曝露量は本剤のベルパタスビル臨床曝露量より約 6 倍高かった。マウス及びラット胚・胎児毒性試験において、母動物及び胚･胎児の毒性に対する作用は認められず、NOEL はそれぞれ 1000 及び 200 mg/kg/日であった。ウサギでは、300 mg/kg/日群において投薬に関連した死亡が 1 匹で認められ、母動物毒性の NOEL は 100 mg/kg/日であり、胚･胎児発生に対する NOEL は 300 mg/kg/日であった。マウス、ラット及びウサギにおける胚・胎児毒性に対する NOEL でのベルパタスビルの曝露量は、本剤の臨床曝露量のそれぞれ約 31 倍、6 倍及び 0.7 倍であった。ラット出生前及び出生後の試験で、ベルパタスビルは 200 mg/kg/日の用量まで母動物に対する作用も、出生児の行動、生殖能又は発生に対する作用も認めなかった。出生前及び出生後の発生毒性試験における母動物及び F1 出生児に対する NOEL でのベルパタスビルの曝露量は、本剤投与後の臨床曝露量より約 5 倍高かった。

9.4.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルはそれぞれ単剤で、受胎能、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に対する有害な作用を認めなかった。個々の薬剤の生殖発生毒性プロファイルが両薬剤の併用によって変化するとは考えられない。

9.5 局所刺激性

9.5.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルの反復投与経口毒性試験で消化管に対する局所忍容性を評価した。ラット及びイヌに顕著な所見はなかった。ベルパタスビルに皮膚及び眼に対する刺激性はなく、感作性もなかった。眼に対する IVIS スコアに基づくと、ベルパタスビルは強度の刺激物質ではないと判断された。

9.5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

本剤は経口投与することが想定されている。ソホスブビルとベルパタスビルの併用による局所刺激性試験は実施していない。

9.6 代謝物及び不純物

9.6.1 ベルパタスビル

主要な血漿中ヒト代謝物はない。したがって、ベルパタスビル代謝物による独立した毒性試験は実施していない。臨床及び予定される市販製剤に存在する不純物は毒性試験により適切に安全性が確認された。

9.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

本剤に想定される不純物及び分解生成物は個々の薬剤の開発プログラムの一環として安全性が確認されている。更なる安全性確認が必要な新たな不純物も分解生成物もない。

9.7 光毒性試験

9.7.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルは Balb/c 3T3 細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験で陽性であったが、200 mg/kg/日［臨床曝露量（C_{max}）の約 5 倍の曝露量］までの用量を投与した有色ラットを用いた光毒性試験では陰性であったため、ベルパタスビルに光毒性はないと判断した。

9.8 曝露量比

動物種間の曝露量比較、相対的な曝露量比及びヒトの健康へのこれらの作用の関連性に関するの考察は 2.4.4.10 項及び 2.4.4.11 項に記載した。

9.9 結論

ソホスブビル及びベルパタスビルの包括的な非臨床毒性試験プログラムが実施され、これにはマウス（ソホスブビルでは 13 週間まで、ベルパタスビルでは 4 週間まで）、ラット（26 週間まで）及びイヌ（39 週間まで）における反復投与経口毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験並びに一連の生殖発生毒性試験が含まれる。さらに、ソホスブビルのマウス及びラット 2 年間経口投与がん原性試験並びにベルパタスビルの RasH2 トランスジェニックマウス（6 ヵ月間）及びラット（2 年間）の経口投与がん原性試験が終了している。以下に考察するとおり、本剤の安全性はこれらの試験により適切に裏付けられていると判断した。

両薬剤の毒性学的プロファイルは大きく異なり、臨床的意義を有する重複する毒性はない。ソホスブビルの潜在的な標的臓器毒性はイヌで認められた軽微な消化管に対する作用（嘔吐、軟便）及び赤血球パラメーターの軽度低下のみであった。ベルパタスビルの反復投与毒性試験では標的臓器毒性は認められず、危惧される所見もなかった。

ソホスブビル及びベルパタスビルに遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。個々の薬剤の遺伝毒性及びがん原性プロファイルが両薬剤の併用によって変化するとは考えられない。

ソホスブビル及びベルパタスビルはそれぞれ単剤で、受胎能、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に対し有害な作用を示さなかった。個々の薬剤の生殖発生毒性が両薬剤の併用により変化するとは考えられない。

ソホスブビル及びベルパタスビルの標的臓器のプロファイルが異なることを考慮すると、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与によって個々の薬剤の既知の毒性が悪化するとは考えられない。「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」（平成 22 年 2 月 19 日 薬食審査発 0219 第 4 号）及び FDA ガイダンス草稿、「慢性 C 型肝炎ウイルス感染症：直接作用型治療用抗ウイルス薬の開発」（2013 年 10 月）に準じると、ソホスブビルとベルパタスビルの併用による非臨床安全性試験は必要ないと考え実施しなかった。これまでに得られたデータは、本剤の申請効能である HCV 感染症の治療薬として好ましいベネフィット・リスクプロファイルを裏付けるものである。

10　表

表は本文中の適切な場所に記載した。

11 参考文献

1 Pietschmann T, Lohmann V, Rutter G, Kurpanek K, Bartenschlager R. Characterization of cell lines carrying self-replicating hepatitis C virus RNAs. J Virol 2001;75 (3):1252-64.

2 Tellinghuisen TL, Foss KL, Treadaway J. Regulation of hepatitis C virion production via phosphorylation of the NS5A protein. PLoS Pathog 2008;4 (3):e1000032.

3 Hughes M, Griffin S, Harris M. Domain III of NS5A contributes to both RNA replication and assembly of hepatitis C virus particles. J Gen Virol 2009;90 (Pt 6):1329-34.

4 Macdonald A, Harris M. Hepatitis C virus NS5A: tales of a promiscuous protein. J Gen Virol 2004;85 (Pt 9):2485-502.

5 Freundt EC, Lenardo MJ. Interfering with interferons: Hepatitis C virus counters innate immunity. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102 (49):17539-40.

6 Oishi Y, Yoshizawa K, Suzuki J, Makino N, Hase K, Yamauchi K, et al. Spontaneously occurring mammary adenocarcinoma in a 10-wk-old female rat. Toxicol Pathol 1995;23 (6):696-700.

7 Brix AE, Nyska A, Haseman JK, Sells DM, Jokinen MP, Walker NJ. Incidences of selected lesions in control female Harlan Sprague-Dawley rats from two-year studies performed by the National Toxicology Program. Toxicol Pathol 2005;33 (4):477-83.

ソホスブビル／ベルパタスビル

第 2 部 CTD の概要

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

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁

1 毒性試験：一覧表 3
2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 7
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 8
4 毒性試験：使用ロット 10
5 単回投与毒性試験 14
6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 15
7 反復投与毒性試験：重要な試験 16
7.1 マウス 4 週間毒性試験（TX-281-2028） 16
7.2 ラット 2 週間毒性試験（TX-281-2003） 18
7.3 ラット 26 週間毒性試験（TX-281-2007） 21
7.4 イヌ 2 週間毒性試験（TX-281-2004） 23
7.5 イヌ 39 週間毒性試験（TX-281-2008） 26
8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 30
8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 30
8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験 35
9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 38
9.1 *In Vivo* ラット小核試験 38
10 がん原性試験 40
10.1 マウスがん原性試験 40
10.2 ラットがん原性試験 45
11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 68
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 69
12.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 69
13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 72
13.1 マウス胚・胎児発生に関する試験 72
13.2 ラット胚・胎児発生に関する試験 75
13.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 77
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 80
14.1 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 80
15 新生児を用いた試験 86
16 局所刺激性試験 87
17 その他の毒性試験 88
17.1 *In Vitro* 88
17.2 *In Vivo* 92

1 毒性試験：一覧表

Test Article: VEL

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO Study No.)	Location
Repeat-Dose Toxicity of Velpatasvir							
Tg Mouse/Model 001178-W (Wild-Type), CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Oral gavage	4 weeks	100, 300, 1500	Yes	[redacted]	TX-281-2028 (8303286)	4.2.3.2.5
Rat/Hsd:Sprague Dawley®SD	Oral gavage	2 weeks	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2003 (8259488)	4.2.3.2.1
Rat/Hsd:Sprague Dawley®SD	Oral gavage	26 weeks	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2007 (8265705)	4.2.3.2.3
Dog/Beagle	Oral gavage	2 weeks	5, 20, 100[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2004 (8259489)	4.2.3.2.2
Dog/Beagle	Oral gavage	39 weeks	5, 20, 100	Yes	[redacted]	TX-281-2008 (8265712)	4.2.3.2.4
Genotoxicity of Velpatasvir							
Bacterial Mutation Study/*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	52 ± 4 hours	16–5000 µg/plate	Yes	[redacted]	TX-281-2005 ([redacted]8259484)	4.2.3.3.1.1
Chromosome Aberration/Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes	*In vitro*	3 hours (± S9) or 24 hours (-S9 only)	172, 245, 500 µg/mL without and with S9	Yes	[redacted]	TX-281-2006 ([redacted]8259485)	4.2.3.3.1.2

1　毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: VEL

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO Study No.)	Location
In Vivo Micronucleus/Rat/ Hsd:Sprague Dawley SD	Oral gavage	2 weeks	0, 20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2003 ([redacted]8259488)	4.2.3.2.1
Carcinogenicity of Velpatasvir							
Tg Mouse/Model 001178-W (Wild-Type), CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Oral gavage	26 weeks	30, 100, 1000[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2043 (8320063)	4.2.3.4.1.1
Rat/ Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	104 weeks	20, 60, 200	Yes	[redacted]	TX-281-2030 (8305547)	4.2.3.4.1.2
Reproductive and Developmental Toxicity of Velpatasvir							
Fertility/Rat/ Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	M: 28 days prior to mating, throughout mating to the day prior to termination after at least 10 weeks of dosing F: 14 days prior to mating through GD 7	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2012 (8287559)	4.2.3.5.1.1
Embryo-fetal development/Mouse/ Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD 6–15	10, 30, 100, 1000[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2032 ([redacted]-604127)	4.2.3.5.2.5

1　　毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: VEL

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO Study No.)	Location
Embryo-fetal development dose range finding /Rat/ Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2009 (8272785)	4.2.3.5.2.1
Embryo-fetal development/Rat/ Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2013 (8287560)	4.2.3.5.2.3
Embryo-fetal development dose range finding /Rabbit/ New Zealand White Hra:(NZW)SPF	Oral gavage	GD 7-20	100, 300, 600[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2010 (8272786)	4.2.3.5.2.2
Embryo-fetal development/ Rabbit/ New Zealand White Hra:(NZW)SPF	Oral gavage	GD 7-20	30, 100, 300[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2014 (8287561)	4.2.3.5.2.4
Prenatal and postnatal developmental toxicity/Rat/ Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	F0 females: GD 6 to LD 20	20, 60, 200[c]	Yes	[redacted]	TX-281-2027 ([redacted]-604093)	4.2.3.5.3.1
Local Tolerance of Velpatasvir							
In vitro/Bovine corneal opacity and permeability (BCOP)	*In vitro*	Opacity = 4 hours; Permeability = 90 min	20% w/w	Yes	[redacted] UK	TX-281-2039 (EUN0034)	4.2.3.6.1
Dermal irritation/Rabbits/ New Zealand White	Dermal	4 hours	0.5 g	Yes	[redacted] UK	TX-281-2040 (EUN0033)	4.2.3.6.2

1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: VEL

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO Study No.)	Location
Other Toxicity Studies of Velpatasvir							
Rat/Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	5 days	50, 150, <u>450</u>	No	[redacted]	TX-281-2001 (8254010)	4.2.3.7.7.4
Antigenicity/Local lymph node assay (LLNA)/Mouse/CBA/Ca	Topical	3 days	10%, 20%, 50% (w/w)	Yes	[redacted] UK	TX-281-2041 (EUN0032)	4.2.3.7.7.1
Impurities Bacterial Mutation Study/Salmonella typhimurium and Escherichia coli	*In vitro*	52 ± 4 hours	0.016–5000 µg/plate	Yes	[redacted]	TX-281-2033 (8316206)	4.2.3.7.6.1
Impurities/Rat/Crl:CD Sprague-Dawley	Oral gavage	2 weeks	60, 200	Yes	[redacted]	TX-281-2042 (8316383)	4.2.3.7.6.2
Phototoxicity/ Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	*In vitro*	90 minutes	0.013–40.3 mg/L	Yes	[redacted]	TX-281-2015 (20043662)	4.2.3.7.7.2
Phototoxicity/ Rat/Crl:LE Long Evans	Oral gavage	3 days	20, 60, 200	Yes	[redacted]	TX-281-2016 (20046981)	4.2.3.7.7.3

F = female; GD = gestation day; LD = lactation day; M = male
a Unless otherwise specified for repeat-dose toxicity, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is underlined.
b 'Yes', indicates study includes a Good Laboratory Practice (GLP) compliance statement.
c no observable effect level (NOEL)

2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: VEL

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP[a]	Gilead Study No. (CRO Study No.)
4-Week Repeat Dose	Mouse	Oral gavage	0, 100, 300, 1500	Yes	TX-281-2028 (8303286)
5-Days Repeat Dose	Rat	Oral gavage	0, 50, 150, 450	No	TX-281-2001 (8254010)
2-Week Repeat Dose	Rat	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	TX-281-2003 (8259488)
26-Week Repeat Dose	Rat	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	TX-281-2007 (8265705)
2-Week Repeat Dose	Dog	Oral gavage	0, 5, 20, 100	Yes	TX-281-2004 (8259489)
39-Week Repeat Dose	Dog	Oral gavage	0, 5, 20, 100	Yes	TX-281-2008 (8265712)
Embryo-Fetal Development	Mouse	Oral gavage	0, 10, 30, 100, 1000	Yes	TX-281-2032 ([redacted]-604127)
Embryo-Fetal Development	Rat	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	TX-281-2009 (8272785)
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral gavage	0, 100, 300, 600	Yes	TX-281-2010 (8272786)
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral gavage	0, 30, 100, 300	Yes	TX-281-2014 (8287561)
Prenatal and Postnatal Development	Rat	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	TX-281-2027 ([redacted]-604093)
2-Week Repeat Dose Impurity Qualification	Rat	Oral gavage	0, 60, 200	Yes	TX-281-2042 (8316383)
2-Year Carcinogenicity	Rat	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	TX-281-2030 (8305547)

a　‘Yes’, indicates study includes a Good Laboratory Practice (GLP) compliance statement.

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

Test Article: VEL

	Steady State VEL $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)						
Species	**Mouse**		**Rat**		**Dog**		**Rabbit**
Method of Administration	**Oral Gavage**		**Oral Gavage**		**Oral Gavage**		**Oral Gavage**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Female**
Dose (mg/kg/day)							
5					1528[e*], 1500[f*]	2230[e*], 1950[f*]	
10		6820[j]					
20			5569[c*], 3130[d*]	3193[c*], 3870[d*], 3830[g*], 2790/2540[k*]	10,761[e*], 6380[f*]	9648[e*], 7030[f*]	
30		22,100[j*]					
50			5500[b]				
60			14,529[c*], 6690[d*]	8364[c*], 6720[d*], 9300[g*], 6500/7940[k*]			
100	83,300[a]	64,900[a], 43,700[j*]			26,167[e*], 25,500[f*]	18,853[e*], 29,800[f*]	5966[h*], 1940[i*]
150			12,800[b]				

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（続き）

Test Article: VEL

	Steady State VEL $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)						
Species	**Mouse**		**Rat**		**Dog**		**Rabbit**
Method of Administration	**Oral Gavage**		**Oral Gavage**		**Oral Gavage**		**Oral Gavage**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Female**
Dose (mg/kg/day)							
200			21,396[c*], 11,000[d*], 7620[l]	12,865[c*], 13,400[d*], 17,100[g*], 10,200/13,900[k*]			
300	86,700[a]	82,300[a]					11,800[h*], 2060[i*]
450			16,100[b]				
600							9010[h*]
1000		93,000[j*]					
1500	170,000[a]	269,000[a]					

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration -time curve from time 0 to time 24 hours postdose; F = female; M = male; GD = gestation day; LD = lactation day;
* = $AUC_{0\text{-}t}$ (area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration); VEL = velpatasvir (GS-5816)

a Study TX-281-2028 (Week 4)
b Study TX-281-2001 (Day 5)
c Study TX-281-2003 (Day 14)
d Study TX-281-2007 (Week 26)
e Study TX-281-2004 (Day 14)
f Study TX-281-2008 (Week 39)
g Study TX-281-2009 (GD17)
h Study TX-281-2010 (GD20)
i Study TX-281-2014 (GD20)
j Study TX-281-2032 (GD15)
k Study TX-281-2027 (GD6/LD10)
l Study TX-281-2042 (Day 14)

4　毒性試験：使用ロット

Test Article: VEL

Batch No.	Purity (%)[a]	Observed Impurities (%)															Type of Toxicity Study
[redacted]	[redacted]	[redacted]															
Proposed Specification:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	NA
[redacted]	91.6	n.d.	n.d.	0.06[l]	n.d.	0.71	0.13	0.10[m]	0.25	0.66	0.33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose, Safety Pharmacology[b]
[redacted]	97.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.15	n.d.	n.d.	0.08	0.54	0.38[n]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Genetic[c]
[redacted]	95.9	0.10	n.d.	n.d.	0.05	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	0.27	n.d.	0.56	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose, Repro Tox[d]
[redacted]	99.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	n.d.	0.05	0.19	n.d.	0.24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose, Repro Tox[e]
[redacted]	98.2	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	0.05	0.39	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose[f]
[redacted]	98.6	0.15	n.d.	n.d.	0.41	0.07	0.18	n.d.	0.06	0.09	0.20	0.12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repro Tox, impurity Qual[g]
[redacted]	101.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	n.d.	n.d.	0.35	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Worker Safety[h]
[redacted]	95.0	0.12	0.19	0.15	0.49	0.08	0.18	0.17	0.06	0.10	0.22	0.13	0.13	0.10	0.14	0.08	Impurity Qual[i]
[redacted]	99.6	n.d.	n.d.	n.d.	0.38		n.d.	0.08		0.17	0.22	0.09	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Carcinogenicity[o]

4　　毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: VEL

Batch No.	Purity (%)[a]	Observed Impurities (%)											不純物27*				Type of Toxicity Study
Proposed Specification:																	
[redacted]	91.6	0.42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.76	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Repeat Dose, Safety Pharmacology[b]
[redacted]	97.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Genetic[c]
[redacted]	95.9	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Repeat Dose, Repro Tox[d]
[redacted]	99.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Repeat Dose, Repro Tox[e]
[redacted]	98.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Repeat Dose[f]
[redacted]	98.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Repro Tox, impurity Qual[g]
[redacted]	101.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NT	NT	NT	NT	NT	NT	Worker Safety[h]
[redacted]	95.0	0.27	0.07	0.09	0.10	0.14	n.d.	0.12	0.12	0.13	0.09	0.11	0.22	0.10	0.11	0.11	Impurity Qual[i]

* 新薬承認情報提供時に置き換え

4　　毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: VEL

Batch No.	Purity (%)[a]	Observed Impurities (%)								Type of Toxicity Study
Proposed Specification:	[redacted]	[redacted]								
[redacted]	91.6	n.d.	0.16	0.06	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	n.d.	Repeat Dose, Safety Pharmacology[b]
[redacted]	97.7	n.d.	0.12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.05	Genetic[c]
[redacted]	95.9	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose, Repro Tox[d]
[redacted]	99.0	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repeat Dose, Repro Tox[e]
[redacted]	98.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	n.d.	n.d.	Repeat Dose[f]
[redacted]	98.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Repro Tox, impurity Qual[g]
[redacted]	101.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Worker Safety[h]
[redacted]	95.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	n.d.	n.d.	n.d.	Impurity Qual[i]

4 毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: VEL

Batch No.	Purity (%)[a]	Observed Impurities (%)		Type of Toxicity Study
		[redacted]	[redacted]	
Proposed Specification:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	NA
[redacted] (不純物39*)	99.8	n.d.*	0.18	Impurity Qual[j]

n.d. = not detected or less than 0.05% for individual impurity; * = not detected or less than 0.10% for individual impurity; NMT = not more than; NT: not tested; 不純物39* = an impurity of VEL; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a Purity is determined by external standard on a dried basis.
b Used for study numbers TX-281-2003, TX-281-2004, PC-281-2003, PC-281-2004, PC-281-2005, PC-281-2006
c Used for study numbers TX-281-2005, TX-281-2006
d Used for study numbers TX-281-2007, TX-281-2008, TX-281-2009, TX-281-2010
e Used for study number TX-281-2008, TX-281-2012, TX-281-2013, TX-281-2014, TX-281-2027, TX-281-2015, TX-281-2016
f Used for study number TX-281-2028
g Used for study number TX-281-2032, TX-281-2042
h Used for study number TX-281-2039, TX-281-2040, TX-281-2041
i Used for study number TX-281-2042
j Used for study number TX-281-2033
k Lot [redacted] was prepared by directly spiking authentic samples of 21 potential impurities into VEL drug substance Batch [redacted].
l Combination of [redacted] and unknowns
m Reported as [redacted]; individual content not determined
n Reported as [redacted]; individual content not determined
o Used for study numbers TX-281-2043, TX-281-2030

5　　単回投与毒性試験

該当する試験なし

6　　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験なし

7 反復投与毒性試験：重要な試験

7.1 マウス 4 週間毒性試験（TX-281-2028）

Test Article: VEL

Report Title: 4-Week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Model 001178-W (Wild-Type), CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice		**Gilead Study No.** TX-281-2028 [redacted] **Study No.** 8303286
Species / Strain: CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Model 1178-wild type mice	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2.5
Initial Age: 8 weeks	**Duration of Postdose:** NA	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]
Vehicle: 0.2% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC, Methocel™ K100 Premium LV), 0.2% (v/v) Tween® 20, and 99.6% (v/v) deionized water		
Special Features: none		
No Observed Adverse Effect Level: 1500 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1500**	
Sex: Number of Animals (TK)	**M: 6**	**F: 6**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**	**M: 36**	**F: 36**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	ND	ND	8240	10800	12300	11800	13400	18300
Week 4	ND	ND	8560	8020	7720	11700	14200	18300
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)								
Day 1	ND	ND	69200	79500	122000	105000	146000	261000
Week 4	ND	ND	83300	64900	86700	82300	170000	269000

7.1 マウス 4 週間毒性試験（TX-281-2028）（続き）

Test Article: VEL

Report Title: 4-Week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Model 001178-W (Wild-Type), CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice							**Gilead Study No.** TX-281-2028 [redacted] **Study No.** 8303286	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1500**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	No treatment-related findings							
Food Consumption	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Hematology								
White blood cell count ($E^3/\mu L$)[a]	4.12	-	-	-	-	-	↓42%	-
Absolute neutrophil count ($E^3/\mu L$)[a]	0.42	-	-	-	-	-	↓29%	-
Absolute lymphocyte count ($E^3/\mu L$)[a]	3.33	-	-	-	-	-	↓41%	-
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Organ Weights	No treatment-related findings							
Gross Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							

− = comparable to control animals or no treatment-related findings; ↓ = decreased; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to time 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; NA = not applicable; ND = not detected; TK = toxicokinetics; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a For controls, group means are shown. For treated groups, non-significant percent differences from controls are shown

7.2 ラット 2 週間毒性試験（TX-281-2003）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 1-Week Recovery and a Micronucleus Assessment**	**Gilead Study No.** TX-281-2003 [redacted] **Study No.** 8259488
Species / Strain: Rat/Hsd:Sprague Dawley®SD®	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2.1
Initial Age: 6 to 7 weeks	**Duration of Postdose:** 1 week	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]
Vehicle: 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Solutol® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1		
Special Features: Hepatic microsomal fraction analysis; bone marrow micronucleus assay		
No Observed Effect Level: 200 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex: Number of Animals (TK)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	597	608	914	967	1167	1154
Day 14	NA[a]	NA[a]	800	578	1323	1018	1607	1041
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	5263	4522	10371	9770	17285	15852
Day 14	NA[a]	NA[a]	5569	3193	14529	8364	21396	12865

7.2　ラット 2 週間毒性試験（TX-281-2003）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 1-Week Recovery and a Micronucleus Assessment**						**Gilead Study No.** TX-281-2003 [redacted] **Study No.** 8259488	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 15**	**F: 15**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	No treatment-related findings							
Food Consumption (%)	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Hematology	No treatment-related findings							
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Number Evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10
Organ Weights (Terminal Sacrifice)	No treatment-related findings							
Gross Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							
Additional Examinations								
Hepatic Microsomal Enzyme Analysis	No noteworthy findings.							
Micronucleus Assay Evaluation	No noteworthy findings.							

7.2 ラット 2 週間毒性試験（TX-281-2003）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 1-Week Recovery and a Micronucleus Assessment**						**Gilead Study No.** TX-281-2003 [redacted] **Study No.** 8259488	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 15**	**F: 15**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 15**	**F: 15**
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number Evaluated	5	5	0	0	0	0	5	5
Organ Weights (Recovery Sacrifice)	No noteworthy findings.							
Gross Pathology	No noteworthy findings.							
Histopathology	No noteworthy findings.							

AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; NA = not applicable; RO = reverse osmosis; TK = toxicokinetics; VEL = velpatasvir (GS-5816)
a Values below the lower limit of quantitation (< 2.00 ng/mL).

7.3 ラット 26 週間毒性試験（TX-281-2007）

Test Article: VEL

Report Title:	**26-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery Phase**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2007 [redacted] **Study No.** 8265705
Species / Strain: Rat/Hsd:Sprague Dawley®SD®	**Duration of Dosing:** 13 or 26 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2.3
Initial Age: 6 to 7 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]
Vehicle: 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1		
Special Features: 13-Week Interim Necropsy		
No Observed Effect Level: 200 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex: Number of Animals (TK)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	480	630	917	1340	1320	1730
Week 13	NA[a]	NA[a]	504	707	856	1040	1080	1450
Week 26	NA[a]	NA[a]	499	800	852	1160	1110	1230
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	2960	2950	6980	9170	11100	14900
Week 13	NA[a]	NA[a]	3120	3320	7780	7080	15500	15500
Week 26	NA[a]	NA[a]	3130	3870	6690	6720	11000	13400

7.3 ラット 26 週間毒性試験（TX-281-2007）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**26-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery Phase**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2007 [redacted] **Study No.** 8265705

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 25**	**F: 25**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 25**	**F: 25**
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	1[b]	0	1[b]	0	0	2[b]	0	2[b]
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Body Weight	No treatment-related findings							
Food Consumption	No treatment-related findings							
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Hematology	No treatment-related findings							
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Organ Weights	No treatment-related findings							
Macroscopic Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							

$AUC_{0\text{-}t}$ = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; NA = not applicable; RO = reverse osmosis; TK = toxicokinetics; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a Values below the lower limit of quantitation (<2.00 ng/mL)

b Four animals were sacrificed in moribund condition before the scheduled interim sacrifice, 1 animal was sacrificed humanely following accidental injury, and 1 animal was found dead as a result of a malignant nephroblastoma. The cause of moribundity for 3 of the animals (one male administered 20 mg/kg/day [Day 51], 1 female administered 60 mg/kg/day [Day 26], and 1 female administered 200 mg/kg/day [Day 39]) was determined to be gavage-related based on anatomic pathology findings. The cause of moribundity for 1 female administered 200 mg/kg/day [Day 76] was determined to be mammary gland carcinoma. Additionally, 1 female administered 60 mg/kg/day [Day 85] was sacrificed humanely due to limited use of a hind foot following a presumptive accidental injury. A malignant nephroblastoma was the cause of death in 1 control group male found dead on Day 146 of the dosing phase.

7.4 イヌ 2 週間毒性試験（TX-281-2004）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 1-Week Recovery**	**Gilead Study No.** TX-281-2004 [redacted] **Study No.** 8259489
Species / Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2.2
Initial Age: 6 to 7 months	**Duration of Postdose:** 1 week	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]
Vehicle: 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Solutol® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1		
Special Features: Hepatic microsomal fractions analysis; Electrocardiographic examinations and blood pressure measurements.		
No Observed Effect Level: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	169	344	930	848	1532	1065
Day 14	NA[a]	NA[a]	228	401	950	996	2006	1426
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)								
Day 1	NA[a]	NA[a]	1069	2094	9615	6137	18920	8725
Day 14	NA[a]	NA[a]	1528	2230	10761	9648	26167	18853

7.4 イヌ 2 週間毒性試験（TX-281-2004）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 1-Week Recovery**				**Gilead Study No.** TX-281-2004 [redacted] **Study No.** 8259489			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings - Dosing Phase								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	No treatment-related findings							
Food Consumption (%)	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Electrocardiograms	No treatment-related findings							
Blood Pressure Measurements	No treatment-related findings							
Hematology	No treatment-related findings							
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weights	No treatment-related findings							
Gross Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							
Additional Examinations								
Hepatic Microsomal Enzyme Analysis	No treatment-related findings							

7.4 イヌ 2 週間毒性試験（TX-281-2004）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 1-Week Recovery**						**Gilead Study No.** TX-281-2004 [redacted] **Study No.** 8259489	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals (Main)	**M: 5**	**F: 5**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy Findings -Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Organ Weights	No treatment-related findings							
Gross Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							

AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; NA = not applicable; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)
a Values below the lower limit of quantitation (< 2.00 ng/mL).

7.5 イヌ 39 週間毒性試験（TX-281-2008）

Test Article: VEL

Report Title:	**39-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2008 [redacted] **Study No.** 8265712
Species / Strain: Dog/Purebred Beagle	**Duration of Dosing:** 13 or 39 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2.4
Initial Age: 6 to 7 months	**Duration of Postdose Recovery:** 4 weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20 [redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]; [redacted]
Vehicle: 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1		
Special Features: 13-Week Interim Necropsy, Electrocardiographic examinations		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	ND	ND	335	231	946	1170	2370	2040
Week 13 (Day 85)	ND	ND	303	326	929	1050	2090	2060
Week 39 (Day 272)	ND	ND	273	356	859	1050	1940	2170
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)								
Day 1	ND	ND	1880	1250	8610	10900	32800	25300
Week 13 (Day 85)	ND	ND	1500	1720	8700	10500	28600	31100
Week 39 (Day 272)	ND	ND	1500	1950	6380	7030	25500	29800

7.5 イヌ 39 週間毒性試験（TX-281-2008）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**39-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2008 [redacted] **Study No.** 8265712

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy Findings - Dosing Phase								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	1[a]	0
Clinical Observations								
Vomitus	10	2	6	3	9	12	31	13
Body Weight	No treatment-related findings							
Food Consumption (g)								
Dosing Phase (Day 1-274)	-	1425	-	1545	-	1452	-	1183
Recovery Phase (Day 1-29)	-	1189	-	-	-	-	-	980
Ophthalmoscopy	No treatment-related findings							
Electrocardiographic Examination	No treatment-related findings							
Hematology	No treatment-related findings							
Serum Chemistry[b] - Week 39								
Fibrinogen concentration (mg/dL)	-	201	-	+1	-	-10	-	-24*
Globulin concentration (g/dL)	-	2.3	-	-9	-	-4	-	-30*
Albumin:globulin ratio	-	1.5	-	+20*	-	+7	-	+40*

7.5　イヌ 39 週間毒性試験（TX-281-2008）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**39-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2008 [redacted] **Study No.** 8265712

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 9**	**F: 9**
Urinalysis	No treatment-related findings							
Organ Weights	No treatment-related findings							
Macroscopic Pathology	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							
Noteworthy Findings - Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Body Weight	No treatment-related findings							
Food Consumption	No treatment-related findings							
Clinical Observations	No treatment-related findings							

7.5 イヌ 39 週間毒性試験（TX-281-2008）（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**39-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Dogs with a 13-Week Interim Necropsy and a 4-Week Recovery**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2008 [redacted] **Study No.** 8265712

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 9**	**F: 9**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 7**	**F: 7**	**M: 9**	**F: 9**
Serum Chemistry[b]								
Fibrinogen concentration (mg/dL)	-	179	NA	NA	NA	NA	-	-17
Globulin concentration (g/dL)	-	2.0	NA	NA	NA	NA	-	-20
Albumin:globulin ratio	-	1.8	NA	NA	NA	NA	-	+22
Organ Weights	No treatment-related findings							
Histopathology	No treatment-related findings							

− = comparable to control animals or no treatment-related findings; +/- = increase/decrease; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; NA = not applicable; ND = not detected (< 2.00 mg/mL); RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)

* = $p \leq 0.05$ [one-way analysis of variance (ANOVA) and Dunnett's t-test where applicable]

a One male administered 100 mg/kg/day was sacrificed on Day 232 of the dosing phase following a history of body weight loss, abdominal pain, and dehydration. The reason was determined to be vascular inflammation of the heart, spleen, thymus, and skin/subcutis. Inflammatory changes in these tissues correlated with clinical pathology findings for this animal, including increased white blood cell, absolute neutrophil, and absolute monocyte counts; increased fibrinogen concentration; decreased albumin and albumin:globulin ratio; and increased globulin concentration. The clinical history and clinical and anatomic pathology findings in this animal were most suggestive of idiopathic polyarteritis, which has been described in Beagle dogs as a spontaneous/incidental finding of undetermined etiology. The vascular inflammation lesions were acute in nature and compatible with a recent onset event and, in the absence of similar in-life, clinical pathology, or marked microscopic findings in other animals administered VEL, findings for this animal were considered unrelated to VEL.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent.

8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: VEL

Report Title:	**Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GS-5816**	**Gilead Study No.** TX-281-2005 [redacted]**Study No**. 8259484
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1.1
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor™-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:** ~10^8	**Lot Number:** [redacted]
Vehicles: Test Article = Dimethyl sulfoxide (DMSO); Positive Controls = Deionized Water (sodium azide only), DMSO (all other positive controls)		
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours	**Cytotoxic Effects:** None	**Date of Treatment:** [redacted]20[redacted]
Genotoxic Effects: Negative when tested up to dose precipitating concentrations and the 5000 µg/plate level.		

8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GS-5816**		**Gilead Study No.** TX-281-2005 [redacted] **Study No**. 8259484				
Metabolic Activation	**Treatment**	**Dose Level (µg/plate)**	**Plate Incorporation – Initial Assay Revertants/Plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	DMSO		13 ± 6 [MN]	86 ± 8 [N]	14 ± 3 [N]	8 ± 3 [N]	15 ± 4 [MN]
	VEL	16.0	13 ± 4 [MN]	87 ± 15 [N]	10 ± 2 [N]	8 ± 3 [N]	15 ± 1 [N]
		50.0	13 ± 4 [MN]	101 ± 9 [MN]	15 ± 1 [N]	8 ± 5 [N]	12 ± 3 [NM]
		160	14 ± 6 [MN]	95 ± 7 [N]	15 ± 4 [MN]	9 ± 1 [N]	17 ± 7 [N]
		500	13 ± 2 [PN]	94 ± 7 [PN]	11 ± 1 [PNM]	3 ± 2 [PN]	13 ± 2 [PN]
		1600	10 ± 2 [PMN]	98 ± 6 [PNM]	15 ± 6 [PNM]	4 ± 2 [PMN]	14 ± 3 [PNM]
		3330	8 ± 1 [PMO]	87 ± 3 [PMO]	12 ± 3 [PMO]	5 ± 4 [PMO]	13 ± 1 [PMO]
		5000	7 ± 3 [PMO]	102 ± 8 [PMO]	9 ± 5 [PMO]	3 ± 2 [PMO]	8 ± 4 [PMO]
	2-Nitrofluorene	1.0	204 ± 84 [N]	-	-	-	-
	Sodium azide	2.0	-	940 ± 81 [N]	852 ± 22 [N]	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	193 ± 14 [N]	-
	4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	153 ± 27 [N]

8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GS-5816**		**Gilead Study No.** TX-281-2005 [redacted] **Study No**. 8259484				
Metabolic Activation	**Treatment**	**Dose Level (µg/plate)**	**Plate Incorporation – Initial Assay Revertants/Plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
With Activation	DMSO		22 ± 4 [MN]	120 ± 4 [N]	11 ± 3 [N]	8 ± 2 [N]	18 ± 2 [N]
	VEL	16.0	17 ± 2 [N]	130 ± 32 [N]	12 ± 3 [MN]	9 ± 2 [MN]	17 ± 1 [N]
		50.0	16 ± 2 [NM]	135 ± 27 [N]	16 ± 3 [NM]	5 ± 3 [NM]	18 ± 7 [N]
		160	21 ± 3 [N]	120 ± 14 [N]	13 ± 2 [NM]	7 ± 2 [MN]	18 ± 2 [N]
		500	17 ± 1 [PN]	128 ± 12 [PN]	12 ± 3 [PMN]	7 ± 0 [PMN]	13 ± 2 [PNM]
		1600	21 ± 2 [PNM]	98 ± 17 [PN]	13 ± 2 [PMN]	9 ± 2 [PNM]	17 ± 3 [PMN]
		3330	12 ± 2 [PO]	96 ± 5 [PMO]	12 ± 4 [PMO]	7 ± 2 [PMO]	18 ± 4 [PMO]
		5000	17 ± 5 [PMO]	101 ± 14 [PMO]	11 ± 3 [PMO]	10 ± 3 [PO]	13 ± 2 [PMO]
	Benzo[a]pyrene	2.5	71 ± 115 [RA]	-	-	-	-
	2-Aminoanthracene	2.5	-	401 ± 66 [N]	266 ± 53 [N]	226 ± 17 [N]	-
		25.0	-	-	-	-	366 ± 60 [N]

8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GS-5816**						**Gilead Study No.** TX-281-2005 [redacted] **Study No**. 8259484
Metabolic Activation	**Treatment**	**Dose Level (µg/plate)**	**Plate Incorporation – Confirmatory Assay Revertants/Plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	DMSO		14 ± 2 [N]	102 ± 3 [N]	14 ± 1 [NM]	7 ± 2 [NM]	16 ± 5 [MN]
	VEL	16.0	14 ± 5 [N]	104 ± 7 [N]	12 ± 2 [N]	5 ± 2 [NM]	13 ± 3 [N]
		50.0	11 ± 1 [N]	98 ± 7 [N]	18 ± 1 [NM]	5 ± 1 [N]	18 ± 1 [MN]
		160	10 ± 3 [N]	94 ± 20 [N]	9 ± 1 [NM]	6 ± 1 [MN]	16 ± 2 [N]
		500	11 ± 2 [PMN]	90 ± 15 [PN]	12 ± 2 [PNM]	5 ± 3 [PMN]	17 ± 1 [PMN]
		1600	14 ± 3 [PMN]	99 ± 5 [PMN]	13 ± 2 [PMN]	6 ± 1 [PMN]	7 ± 2 [PMN]
		5000	11 ± 2 [PMNO]	81 ± 7 [PMNO]	16 ± 3 [PMNO]	4 ± 2 [PMNO]	8 ± 3 [PMNO]
	2-Nitrofluorene	1.0	229 ± 26 [N]	-	-	-	-
	Sodium azide	2.0	-	1124 ± 28 [N]	870 ± 7 [N]	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	472 ± 37 [N]	-
	4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	415 ± 48 [N]

8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GS-5816**						**Gilead Study No.** TX-281-2005 [redacted] **Study No**. 8259484
Metabolic Activation	**Treatment**	**Dose Level (µg/plate)**	**Plate Incorporation – Confirmatory Assay Revertants/Plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
With Activation	DMSO		23 ± 1 [N]	133 ± 14 [N]	12 ± 2 [MN]	5 ± 3 [MN]	19 ± 2 [NM]
	VEL	16.0	21 ± 6 [N]	114 ± 10 [N]	14 ± 4 [MN]	6 ± 2 [MN]	18 ± 1 [N]
		50.0	16 ± 4 [N]	117 ± 10 [N]	11 ± 4 [N]	7 ± 1 [MN]	18 ± 5 [N]
		160	22 ± 6 [MN]	115 ± 24 [N]	12 ± 1 [NM]	7 ± 2 [NM]	16 ± 5 [NM]
		500	20 ± 4 [PNM]	122 ± 3 [PN]	13 ± 3 [PN]	6 ± 2 [PNM]	18 ± 4 [PN]
		1600	15 ± 4 [PMN]	108 ± 5 [PN]	13 ± 5 [PMN]	6 ± 2 [PMN]	19 ± 4 [PMN]
		5000	16 ± 3 [PMNO]	116 ± 7 [PMNO]	15 ± 2 [PMNO]	3 ± 2 [PMNO]	8 ± 4 [PMNO]
	Benzo[a]pyrene	2.5	685 ± 39 [N]	-	-	-	-
	2-Aminoanthracene	2.5	-	3085 ± 896 [N]	233 ± 6 [N]	255 ± 24 [N]	-
		25.0	-	-	-	-	709 ± 75 [N]

- = not evaluated; DMSO = dimethyl sulfoxide; A = absence of background bacterial lawn; GLP = Good Laboratory Practices; M= plate counted manually; N = normal background bacterial lawn; O = obscured colony count; P = precipitation of test article observed; R = reduced background bacterial lawn; VEL = velpatasvir (GS-5816)

8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

Test Article: VEL

Report Title	**Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes with GS-5816**	**Gilead Study No.** TX-281-2006 [redacted]**Study No.** 8259485
Test for Induction of: Chromosome aberrations	**Number of Independent Assays:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1.2
Strains: Primary human lymphocytes	**Number of Replicate Cultures:** 2	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor™-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:** 100	**Lot Number:** [redacted]
Vehicle for Positive Controls: Sterile deionized water	**Vehicle for Test Article:** Dimethyl sulfoxide (DMSO)	**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] (Initial) [redacted] 20[redacted] (Confirmatory)
Treatment: Initial: 3 hours without and with S9; Confirmatory: 24 hours without S9 and 3 hours with S9		
Cytotoxic Effects: None.		
Genotoxic Effects: VEL is considered negative for inducing chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes without and with metabolic activation when tested up to dose precipitating concentrations and the 500 µg/mL limit dose defined by ICH S2(R1).		

8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title	**Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes with GS-5816**					**Gilead Study No.** TX-281-2006 [redacted] **Study No.** 8259485	
Initial Assay							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/ml)**	**Cytotoxicity (% of Control)[d]**	**% Aberrant Cells (Mean -g)**	**% Aberrant Cells (Mean +g)**	**% Polyploid Cells**	**% Endoreduplicate Cells**
Without Activation	DMSO	10 µL/mL	100	0.0	0.0	0.0	0.0
	VEL	172 [a]	70	0.5	0.5	0.0	0.0
		350 [b]	81	0.5	1.5	0.0	0.0
		500 [b]	98	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mitomycin C	1.00	49	48.0*	49.0	0.0	0.0
With Activation	DMSO	10 µL/mL	100	0.0	0.0	0.0	0.0
	VEL	84.0	100	0.0	0.0	0.0	0.0
		245 [c]	100	1.0	1.0	0.0	0.0
		500 [b]	100	0.0	1.0	0.0	0.0
	Cyclophosphamide	20.0	44	44.0*	46.0	0.0	0.0

8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title	**Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes with GS-5816**	**Gilead Study No.** TX-281-2006 [redacted] **Study No.** 8259485

Confirmatory Assay

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/ml)**	**Cytotoxicity (% of Control)[d]**	**% Aberrant Cells (Mean -g)**	**% Aberrant Cells (Mean +g)**	**% Polyploid Cells**	**% Endoreduplicate Cells**
Without Activation	DMSO	10 µL/mL	100	0.0	0.0	1.0	0.0
	VEL	172 [a]	100	0.0	0.0	0.0	0.0
		245 [e]	94	0.0	0.0	0.0	0.0
		500 [e]	92	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mitomycin C	0.200	47	47.0*	48.0	0.0	0.0
With Activation	DMSO	10 µL/mL	100	0.0	0.5	0.0	0.0
	VEL	172 [a]	100	0.0	0.5	0.0	0.0
		245 [c]	100	1.0	1.5	0.0	0.0
		500 [c]	100	0.0	0.0	0.0	0.0
	Cyclophosphamide	20.0	56	42.0*	44.0	0.0	0.0

-g = % of cells with chromosome aberrations; +g = % of cells with chromosome aberrations + % of cells with gaps; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practices; VEL = velpatasvir (GS-5816)

*= significantly greater in -g than the vehicle control, $p \leq 0.01$

a Precipitate observed at dose.
b Precipitate observed at dose, wash and harvest.
c Precipitate observed at dose and wash.
d Based on mitotic index.
e Precipitate observed at dose and harvest.

9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

9.1 *In Vivo* ラット小核試験

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 1-Week Recovery and a Micronucleus Assessment**	**Gilead Study No.** TX-281-2003 [redacted] **Study No.** 8259488
Test for Induction of: Micronuclei in bone-marrow erythrocytes	**Treatment Schedule:** Repeat dose x 14 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2.1
Species / Strain: Rat/Hsd:Sprague-Dawley SD	**Harvest Time:** 24 hours after the last dose administration	**GLP Compliance:** Yes
Age: 6-7 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage	**Date of First Dose:** [redacted]20[redacted]
Number of Cells Evaluated / Animal: At least 2000	**Evidence of Exposure:** Exposure confirmed and reported in Section 2.6.7.7.2.	
Test Article Vehicle:15% Solutol® HS-15, 45% propylene glycol, 40% RO water, pH 2 ± 0.1		**Positive Control Vehicle:** RO water
Toxic / Cytotoxic Effects: None.		
Genotoxic Effects: VEL was evaluated as negative in the rat bone marrow micronucleus assay when tested up to 200 mg/kg/day.		

9.1 *In Vivo* ラット小核試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**2-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Rats with a 1-Week Recovery and a Micronucleus Assessment**	**Gilead Study No.** TX-281-2003 [redacted] **Study No.** 8259488

Test Article	**Dose (mg/kg/day)**	**Number of Male Animals**	**Harvest Time (Hours)**	**Mean Ratio PCE:NCE (± SD) Males**	**Mean % MN PCEs (± SD) Males**
Vehicle	0	5	24	0.73 ± 0.13	0.06 ± 0.04
VEL	20	5	24	0.76 ± 0.10	0.06 ± 0.04
	60	5	24	0.89 ± 0.06	0.03 ± 0.04
	200	5	24	0.82 ± 0.12	0.09 ± 0.04
Positive Control[a]	60[a]	5	24	0.59 ± 0.06	1.10 ± 0.30*

GLP = Good Laboratory Practices; MN = micronucleated; PCE = polychromatic erythrocyte; NCE = normochromatic erythrocyte; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)
* = Significantly greater than the corresponding vehicle control, $p \leq 0.01$.
a Positive Control = Cyclophosphamide. Animals received a single dose (60 mg/kg) on Day 14 of the positive control article.

10 がん原性試験

10.1 マウスがん原性試験

Test Article: VEL

Report Title: **26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with GS-5816 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice**		**Gilead Study No.** TX-281-2043 [redacted] **Study No.** 8320063
Species / Strain: RasH2 (001178-T [hemizygous], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic) mice	**Duration of Dosing:** 182 days	**Location in CTD:** 4.2.3.4.1.1
Initial Age: 7-8 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted](females)	**Vehicle Control Article:** 0.2% (w/v) HPMC (Methocel™ K100 Premium LV), 0.2% (v/v) Tween® 20, and 99.6% (v/v) deionized water	**Lot Number:** [redacted]
Basis for High Dose Selection: The high dose selected for this study was 1000 mg/kg/day based on saturation of absorption in a previous study that resulted in no sex differences in pharmacokinetics, and no accumulation following repeat dosing, were observed. Comparison of exposure at 1500 mg/kg/day with single-dose exposure at 1000 mg/kg indicated saturation of absorption.		
Special Features: Positive control group		

10.1　マウスがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title: **26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with GS-5816 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice**					**Gilead Study No.** TX-281-2043 [redacted] **Study No.** 8320063			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**1000**	
Sex: Number of Animals	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
At Study Start	25	25	25	25	25	25	25	25
Died/Sacrificed Moribund[a]	2	1	0	1	1	0	0	2
Terminal Sacrifice	23	24	25	24	24	25	25	23
Survival (%)[b]	92	96	100	100	96	100	100	92
Body Weight (%)	No test article-related findings							
Food Consumption (%)	No test article-related findings							
Clinical Observations	No test article-related findings							
Gross Pathology	No test article-related findings							
Histopathology								
Number of Animals Examined	25	25	25	25	25	25	25	25

10.1　マウスがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title: **26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with GS-5816 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice**					**Gilead Study No.** TX-281-2043 [redacted] **Study No.** 8320063			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**1000**	
Sex: Number of Animals	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
All neoplastic lesions (including naturally occurring and those not attributed to the test article)								
Adipose, Other								
Number Examined:	0	0	0	1	0	0	0	1
N-Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	0	1
Harderian Gland								
Number Examined:	25	25	25	25	25	25	25	25
B-Adenoma	0	0	0	2	0	0	1	3
Kidney								
Number Examined:	25	25	25	25	25	25	25	25
N-Carcinoma, transitional cell	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver								
Number Examined:	24	25	25	25	25	25	25	25
B-Adenoma, hepatocellular	0	0	0	1	0	0	0	0
Lung								
Number Examined:	24	25	25	25	25	25	25	25
B-Adenoma, bronchiolo-alveolar	0	0	2	2	1	1	0	3
PM-Carcinoma, bronchiolo-alveolar	3	1	0	0	0	0	0	1

10.1 マウスがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title: **26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with GS-5816 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice**					**Gilead Study No.** TX-281-2043 [redacted] **Study No.** 8320063			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**1000**	
Sex: Number of Animals	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
Lymph Node, Other								
Number Examined:	0	0	0	0	0	0	0	1
N‑Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	0	1
Ovary								
Number Examined:	0	25	0	25	0	25	0	25
PM‑Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Skin/Subcutis								
Number Examined:	24	25	25	24	25	25	25	25
PM‑Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	1
Spleen								
Number Examined:	25	25	24	25	25	25	25	25
B‑Hemangioma	0	0	1	1	0	0	0	0
PM‑Hemangiosarcoma	1	3	0	1	0	1	0	0
N‑Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach, Glandular								
Number Examined:	24	25	25	25	25	25	25	25
I‑Carcinoma, locally invasive	0	0	0	0	0	0	0	1

10.1 マウスがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with GS-5816 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice**				**Gilead Study No.** TX-281-2043 [redacted] **Study No.** 8320063			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**1000**	
Sex: Number of Animals	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
Stomach, Nonglandular								
Number Examined:	24	25	25	25	25	25	25	25
PM‑Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis								
Number Examined:	25	0	25	0	25	0	25	0
PM‑Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus								
Number Examined:	25	24	25	25	24	24	25	25
B‑Thymoma	1	1	0	0	2	2	1	1
Uterus								
Number Examined:	0	25	0	25	0	25	0	25
PM‑Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Vagina								
Number Examined:	0	25	0	25	0	25	0	25
B‑Papilloma, squamous cell	0	0	0	1	0	0	0	0

B = Primary, benign neoplasm; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose; I = Locally invasive neoplasm; M = male; N = Metastatic neoplasm; NA = not applicable; PM = Primary, malignant neoplasm; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a A total of 7 animals were examined at unscheduled necropsies, including 2 vehicle control males, 1 vehicle control female, 1 female administered 30 mg/kg/day, 1 male administered 100 mg/kg/day, and 2 females administered 1000 mg/kg/day. None of these animals had a cause of death or moribund condition that was attributed to the administration of VEL.

b Number of animals in group adjusted for accidental death, scheduled sacrifices, removed from study, marked complete, and phase assignments.

10.2 ラットがん原性試験

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547
Species / Strain: Rats / Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** at least 91/98 weeks[a]	**Location in CTD:** 4.2.3.4.1.2
Initial Age: 7 to 8 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males), [redacted] 20[redacted] (females)	**Vehicle Control Article:** 45% (v/v) propylene glycol, 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1	**Lot Number:** [redacted]
Treatment of Controls: One control group was administered RO water and a second control group was administered the vehicle control article.	**Basis for High Dose Selection:** In pharmacokinetic studies, no notable increases in exposure were obtained at dose levels above 150 mg/kg/day. In the 5-day study, steady state exposures were similar at 150 and 450 mg/kg/day. In the 26-week toxicity study, the no-observable-effect level (NOEL) for VEL was 200 mg/kg/day, the highest dose administered. It was anticipated the high-dose level would show test article-specific effects over the duration of 26 weeks.	

Special Features: An additional group of sentinel animals (10 animals/sex) were on study but not dosed and underwent a viral screen.

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Sex: Number of Animals (TK)	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)										
Day 1	NC	NC	NC	NC	3670	2960	7310	8780	10300	13200
Week 27	NC	NC	NC	NC	3260	4880	10700	11800	15000	20200
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)										
Day 1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	519	479	798	1180	1100	1350
Week 27	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	409	652	846	1110	1130	2090

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
At Study Start	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Died/Sacrificed Moribund	41	37	35	40	36	34	38	34[b]	42	31
Terminal Sacrifice	19	23	25	20	24	26	22	26	18	29
Survival (%)[c]	32	40	42	33	40	45	37	44[b]	30	53
Noteworthy Findings										
Body Weight	No treatment-related findings									
Food Consumption	No treatment-related findings									
Mass Observations	No treatment-related findings									
Clinical Observations	No treatment-related findings									
Ophthalmic Observations	No treatment-related findings									
Clinical Pathology[d]	No treatment-related findings									
Gross Pathology	No treatment-related findings									
Histopathology	No treatment-related findings									

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
All neoplastic lesions (including naturally occurring and those not attributed to the test article)										
Adipose, Other										
Number Examined:	0	1	1	2	2	2	1	1	1	1
B-Lipoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
PM-Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
PM-Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
PM-Sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Adrenal, Cortex										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Adenoma	0	2	1	1	0	1	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
PM-Carcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
N-Pheochromocytoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Adrenal, Medulla										
Number Examined:	60	59	60	60	60	60	60	59	60	60
B-Complex benign pheochromocytoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B-Pheochromocytoma	7	3	2	1	3	0	7	1	8	0
PM-Complex malignant pheochromocytoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Malignant pheochromocytoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Aorta										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
I-Schwannoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Granular cell tumor	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Brain (continued)										
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
PM-Glioma	1	1	4	0	3	0	1	0	0	0
PM-Malignant mixed glioma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Cervix										
Number Examined:	0	60	0	60	0	60	0	60	0	60
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Clitoral Gland										
Number Examined:	0	58	0	55	0	60	0	57	0	59
B-Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Coagulating Gland										
Number Examined:	60	0	60	0	60	0	60	0	59	0
PM-Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ear										
Number Examined:	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Epididymis										
Number Examined:	60	0	60	0	60	0	60	0	60	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Esophagus										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Eye										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Femur										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Femur (continued)										
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Foot/Footpad										
Number Examined:	6	5	4	3	4	1	3	4	5	2
B-Osteoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B-Papilloma, squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Harderian Gland										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	59	60	60
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
PM-Endocardial schwannoma	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hemolymphoreticular System										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
PM-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
PM-Large granular cell leukemia	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
PM-Malignant lymphoma	1	1	0	0	2	0	1	0	1	3
Kidney										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Lipoma	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Carcinoma, tubule cell	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Nephroblastoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lacrimal Gland										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Larynx										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	59	60	60
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
Liver										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Adenoma, hepatocellular	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
LF-Large granular cell leukemia	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	1	2
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Lung										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lung (continued)										
N-Carcinoma, metastatic	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
X-Sarcoma, metastatic, primary unknown	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Lymph Node, Mandibular										
Number Examined:	60	59	59	59	60	60	60	60	59	60
LF-Large granular cell leukemia	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node, Mesenteric										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	59	60	60	60
B-Hemangioma	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
PM-Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
PM-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lymph Node, Other										
Number Examined:	0	0	2	0	1	1	2	1	2	1
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Mammary Gland										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Adenoma	1	3	0	3	0	4	0	5	0	1
B-Fibroadenoma	1	23	1	28	0	20	0	24	0	25
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
PM-Carcinoma	2	11	0	13	0	5	1	14	0	8
Mandibular Salivary Gland										
Number Examined:	60	60	58	60	60	60	60	60	60	60
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
PM-Sarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mandibular Salivary Gland (continued)										
N-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Marrow, Femur										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Large granular cell leukemia	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
Marrow, Sternum										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Large granular cell leukemia	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
Mesentery										
Number Examined:	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
PM-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Muscle, Biceps Femoris										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Muscle, Biceps Femoris (continued)										
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Sarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Muscle, Ocular, Left										
Number Examined:	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
PM-Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Muscle, Skeletal, Other										
Number Examined:	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Rhabdomyosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nerve, Optic										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
N-Sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nerve, Sciatic										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Nerve, Sciatic (continued)										
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Oral Cavity										
Number Examined:	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Odontoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Squamous cell carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Oral Mucosa										
Number Examined:	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Ovary										
Number Examined:	0	60	0	60	0	60	0	60	0	60
B-Granulosa/theca cell tumor	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
PM-Malignant granulosa/theca cell tumor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Oviduct										
Number Examined:	0	60	0	60	0	60	0	60	0	59
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Pancreas										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Adenoma, acinar Cell	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
B-Adenoma, islet cell	1	1	4	0	4	0	4	1	4	1
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
LF-Large granular cell leukemia	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
PM-Carcinoma, islet cell	3	1	0	1	1	0	0	0	0	1
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Parathyroid										
Number Examined:	57	55	57	58	58	60	54	58	54	57
B-Adenoma	0	0	0	2	1	0	2	1	0	1
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Carcinoma	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Pituitary										
Number Examined:	60	60	60	60	60	59	60	60	60	60
B-Adenoma	33	39	26	47	31	39	20	45	30	37
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Preputial Gland										
Number Examined:	58	0	55	0	59	0	59	0	59	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Prostate										
Number Examined:	60	0	60	0	60	0	60	0	60	0
B-Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Seminal Vesicle										
Number Examined:	60	0	60	0	60	0	60	0	60	0
I-Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Skin/Subcutis										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Basal cell tumor	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B-Fibroma	1	0	5	1	1	2	5	1	2	0
B-Keratoacanthoma	3	1	3	1	2	1	0	1	3	0
B-Lipoma	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Skin/Subcutis (continued)										
B-Papilloma, squamous cell	3	0	2	0	3	1	0	0	1	0
B-Pilomatricoma	0	0	1	0	2	0	3	1	1	0
B-Trichoepithelioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Histiocytic Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PM-Carcinoma, squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Fibrosarcoma	0	0	0	0	3	0	3	0	0	1
PM-Malignant schwannoma	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Melanoma, amelanotic	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Neurofibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
PM-Rhabdomyosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PM-Sarcoma	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0
N-Sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord										
Number Examined:	60	59	60	60	60	59	60	60	60	60
PM-Malignant glioma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Large granular cell leukemia	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
PM-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
PM-Sarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sternum										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Stomach, Glandular										
Number Examined:	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Testis										
Number Examined:	60	0	60	0	60	0	60	0	60	0
B-Interstitial cell tumor	3	0	4	0	2	0	1	0	5	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Thoracic Cavity										
Number Examined:	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
PM-Malignant hibernoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Thymus										
Number Examined:	59	59	60	60	57	60	57	58	58	59
B-Thymoma	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
LF-Large granular cell leukemia	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LF-Malignant lymphoma	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1
I-Hibernoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
PM-Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Thyroid										
Number Examined:	60	60	59	60	60	60	60	60	60	60
B-Adenoma, C-cell	6	10	7	6	6	3	4	3	9	6
B-Adenoma, follicular cell	0	2	2	1	2	0	1	0	1	1
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Carcinoma, C-cell	0	0	1	0	2	1	2	1	3	0
PM-Carcinoma, follicular cell	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0

10.2　ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ureter										
Number Examined:	59	58	58	60	60	58	59	58	59	59
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Urinary Bladder										
Number Examined:	59	60	60	60	60	60	60	60	60	60
B-Papilloma, transitional cell	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
LF-Malignant lymphoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Uterus										
Number Examined:	0	60	0	60	0	60	0	60	0	60
B-Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B-Polyp, endometrial stromal	0	3	0	3	0	2	0	3	0	3
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

10.2 ラットがん原性試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with GS-5816 in Sprague-Dawley Rats**	**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2030 [redacted] **Study No.** 8305547

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Water Control)**		**0 (Vehicle Control)**		**20 (Low)**		**60 (Mid)**		**200 (High)**	
Number of Animals (Main)	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Vagina										
Number Examined:	0	60	0	60	0	60	0	60	0	60
B-Polyp	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
I-Sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
PM-Malignant Schwannoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Zymbal Gland										
Number Examined:	60	59	57	60	58	60	58	60	58	59
I-Malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
PM-Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0

a Dosing was at least 91 weeks for females and 98 weeks for males. Females were sacrificed on Day 644 and males on Day 687.
b One death was considered accidental. Percent of survival was adjusted and did not take into account the accidental death.
c The percent of survival represents those animals that survived to the end of Weeks 91 (females) and 98 (males), and not those that survived to terminal sacrifice.
d The specimens from sentinel animals were negative for the presence of antibodies against Adenovirus (M.Ad-1), RCV/SDA, KRV, LCMV, MPUL, Parvovirus, PVM, GDVII, REO-3, SEN, and H-1.

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration time-curve from time 0 hours to 24 hours postdose; B = Primary, benign neoplasm; BLQ = below the lower limit of quantitation (< 2.00 ng/mL); C_{max} = maximum observed concentration; F = female; I = Locally invasive neoplasm; LF = Infiltrating neoplasm; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; N = Metastatic neoplasm; NC = not calculated; PM = Primary, malignant neoplasm; RO = reverse osmosis; TK = toxicokinetics; VEL = velpatasvir (GS-5816) ; X = Other neoplasm

11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: VEL

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. Per Group	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name and Study No.) /Location
Rats/ Crl:CD(SD)	45% (v/v) propylene glycol and 15% (v.v) Kolliphor® HS 15, in RO water, pH 2.0 ± 0.1	GD 6 to 17	0, 20, 60, 200	8 F/group (3 F/group control; 9 F/group treated TK)	No treatment-related findings Fetal NOEL= not applicable Maternal NOEL= not applicable VEL GD 17 C_{max} value of 1750 ng/mL and AUC_{0-24h} value of 17100 ng·h/mL.	TX-281-2009[a] ([redacted] 8272785) /4.2.3.5.2.1
Rabbits/ Hra: (NZW) SPF	0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose 0.1% (v/v) Tween® 20 and 0.9% (v/v) benzyl alcohol in RO water	GD 7 to 20	0, 100, 300, 600	6 F/group	No treatment-related findings Fetal NOEL= not applicable Maternal NOEL= not applicable VEL GD 20 C_{max} value of 719 ng/mL and AUC_{0-24h} value of 9010 ng·hr/mL.	TX-281-2010[a] ([redacted] 8272786) /4.2.3.5.2.2

AUC_{0-24h} = area under the concentration-time curve from time 0 hours to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GD = gestation day; NOEL = no observed effect level; NZW = New Zealand White; RO = reverse osmosis; TK = toxicokinetics; VEL = velpatasvir (GS-5816)
a Indicates Good Laboratory Practices (GLP) compliant.

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

12.1　ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Test Article: VEL

Report Title: **Oral Gavage Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with GS-5816 in Rats**		**Gilead Study No.** TX-281-2012 [redacted] **Study No.** 8287559
Species / Strain: Rat/ Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** Males: At least 28 days prior to mating through the day prior to euthanasia Females: At least 14 days prior to mating through Day 7 of gestation	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1.1
Initial Age: 10 weeks	**Day of Mating:** Day 0 of gestation	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Caesarean Section:** GD 13	**Lot Number:** [redacted]
No-Observed-Effect Level: **F_0 Males, Paternal:** 200 mg/kg/day **Reproductive:** 200 mg/kg/day **F_0 Females, Maternal:** 200 mg/kg/day **Reproductive:** 200 mg/kg/day	**Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle:** 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1	**Design Similar to ICH 4.1.1?** Yes **Special Features:** None

	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Males	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Body Weight	No treatment-related findings			
	Food Consumption Change	No treatment-related findings			

12.1　ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with GS-5816 in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2012 [redacted] **Study No.** 8287559	
	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Males (cont.)	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			
	Number of Males that Mated	19	20	20	20
	Number of Fertile Males	18	19	20	20
	Sperm Motility (% motile)	74.3 (n=11)	78.3 (n=10)	84.3* (n=10)	85.8* (n=10)
Females	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Premating Body Weight	No treatment-related findings			
	Gestation Body Weight	No treatment-related findings			
	Premating Food Consumption	No treatment-related findings			
	Gestation Food Consumption	No treatment-related findings			
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			

12.1　ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with GS-5816 in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2012 [redacted] **Study No.** 8287559	
	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Females (cont.)	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	Mean Number of Estrous Cycles/14 days	2.5	2.5	2.4	2.6
	Number of Pregnant Females	21	21	22	22
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Mean No. Corpora Lutea	17.1	16.0	15.9	17.6
	Mean No. Implantations	15.2	15.2	15.0	16.4
	Mean % Preimplantation Loss	10.0	4.7	5.4	5.3
	Mean No. Live Conceptuses	14.4	14.6	14.5	15.4
	Mean No. Early Resorptions	0.8	0.6	0.5	1.0
	Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.1
	Mean % Postimplantation Loss	6.2	3.9	3.5	6.5

GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)
* = $p \leq 0.05$ [one-way analysis of variance (ANOVA)]

13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

13.1 マウス胚・胎児発生に関する試験

Test Article: VEL

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Embryo/Fetal Development in CD-1 Mice		**Gilead Study No.** TX-281-2032 [redacted] **Study No.** [redacted]-604127
Species / Strain: Mouse /CD-1	**Duration of Dosing:** GD 6-15	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.5
Initial Age: 13 weeks	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Caesarean Section:** GD 18	**Lot Number:** [redacted]
Special Features: Toxicokinetics	**Method of Administration:** Oral gavage	**Design Similar to ICH 4.1.3?** Yes
No-Observed-Effect Level **F_0 Females:** 1000 mg/kg/day **F_1 Litters:** 1000 mg/kg/day	**Vehicle:** 0.2% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (Methocel™ K100 Premium LV) and 0.2% (v/v) Tween® 20 in deionized water	

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**	**1000**
Dams/Does	Toxicokinetics: VEL					
	C_{max} (ng/mL) – GD 6	NA	2100	4650	9240	13,500
	C_{max} (ng /mL) – GD 15	NA	1730	4070	6560	10,300
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL) – GD 6	NA	7550	22,700	56,300	156,000
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL) – GD 15	NA	6820	22,100	43,700	93,000

13.1　マウス胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Embryo/Fetal Development in CD-1 Mice**	**Gilead Study No.** TX-281-2032 [redacted] **Study No.** [redacted]-604127				
	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**	**1000**
Dams	Number of Animals Evaluated	25	25	24	25	25
	Number Pregnant	22	22	21	24	22
	Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
	Number Aborted or with Total Resorption of Litter	1	0	2	0	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings				
	Body Weight (%) - GD 16[a]	50.1 g	-0.8	4.0	2.0	0.8
	Food Consumption (g) [g/animal/day] GD 6-16	6.5	6.2	6.5	6.6	6.7
	Necropsy Observations	No treatment-related findings				
	Mean No. Corpora Lutea	14.9	15.6	15.9	16.5	14.5
	Mean No. Implantations	13.4	14.1	15.0	14.0	13.5
	Mean % Preimplantation Loss	12.6	8.7	5.4	15.1	6.0
Litters	Litters Evaluated	22	22	20	24	22
	Live Fetuses (%)	93.6	96.2	93.9	93.5	94.8
	Dead Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

13.1 マウス胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Embryo/Fetal Development in CD-1 Mice**	**Gilead Study No.** TX-281-2032 [redacted] **Study No.** [redacted]-604127				
	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**	**1000**
Litters (cont.)	Mean No. Resorptions					
	Early Resorptions	0.6	0.4	0.8	1.0	0.5
	Late Resorptions	0.2	0.1	0.2	0.0	0.1
	Mean % Postimplantation Loss	6.4	3.8	6.2	6.5	5.2
	Mean Fetal Body Weight g (%)[a]					
	Male	1.43 g	-7.0	-4.2	-2.8	-2.8
	Female	1.37 g	-5.8	-2.9	-2.2	-2.9
	Combined	1.40 g	-6.4	-3.6	-2.1	-1.4
	Fetal Sex Ratios (Live Number of M:F)	131:146	156:143	148:133	175:138	150:135
	Fetal Anomalies (% per litter)	No treatment-related findings				
	Gross External Anomalies	No treatment-related findings				
	Visceral Anomalies	No treatment-related findings				
	Skeletal Anomalies	No treatment-related findings				

% = % per litter; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; BLQ = below the limit of quantitation (< 2.00 ng/mL); C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; M:F = male to female ratio; NA = not applicable; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent.

13.2 ラット胚・胎児発生に関する試験

Test Article: VEL

Report Title: **Oral Gavage Study for Effects on Embryo-Fetal Development with GS-5816 in Rats**		**Gilead Study No.** TX-281-2013 [redacted] **Study No.** 8287560
Species / Strain: Rat/Crl: CD(SD)	**Duration of Dosing:** GD 6-17	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.3
Initial Age: 11 weeks	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Caesarean Section:** GD 21	**Lot Number:** [redacted]
No-Observed-Effect Level	**Method of Administration:** Oral gavage	**Design Similar to ICH 4.1.3?** Yes
F_0 Females: 200 mg/kg/day	**Vehicle:** 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1	**Special Features:** None
F_1 Litters: 200 mg/kg/day		

	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Dams	Number of Animals Evaluated	22	22	22	22
	Number of Pregnant at Cesarean Section	21	22	22	22
	Number of Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Food Consumption	No treatment-related findings			
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			
	Dams with nonviable fetuses	0	0	0	0
	Mean Number of Corpora Lutea	12.7	13.5	12.8	12.9
	Mean Number of Implantations	11.7	12.1	11.9	11.7
	Mean % Preimplantation Loss	7.8	9.3	6.6	9.0

13.2　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study for Effects on Embryo-Fetal Development with GS-5816 in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2013 [redacted] **Study No.** 8287560	
	Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Litters	Litters Evaluated	21	22	22	22
	Mean Live Fetuses (per litter)	11.3	11.8	11.7	11.3
	Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean Number of Resorptions	0.4	0.3	0.2	0.4
	Mean % Postimplantation Loss	3.0	2.5	1.5	4.2
	Mean Fetal Body Weight (g)	5.83	5.72	5.86	5.71
	Covariate Adjusted Mean Fetal Body Weight (g)	5.81	5.74	5.87	5.70
	Fetal Sex Ratios (Live Number of M:F)	49.3:50.7	52.8:47.2	49.4:50.6	44.0:56.0
	Fetal Anomalies				
	Gross External Anomalies	No treatment-related findings			
	Visceral Anomalies	No treatment-related findings			
	Skeletal Anomalies	No treatment-related findings			

F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; M:F = male to female ratio; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)

13.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study for Effects on Embryo-fetal Development and Toxicokinetic with GS-5816 in Rabbits**	**Gilead Study No.** TX-281-2014 [redacted] **Study No.** 8287561
Species/Strain: Rabbit/ Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing:** GD 7 through 20	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.4
Initial Age: 6 months	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Caesarean Section:** GD 29	**Lot Number:** [redacted]
No Observed Adverse Effect Level **F_0 Females:** 100 mg/kg/day **F_1 Litters:** 300 mg/kg/day	**Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle:** 0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), 0.1% (v/v) Tween® 20 and 0.9% (v/v) benzyl alcohol in RO water	**Design Similar to ICH 4.1.3?** Yes **Special Features:** None

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Maternal	**Number of Animals**	**25**	**25**	**25**	**25**
	Toxicokinetics:				
	C_{max} (µg/mL) – GD 7	BLQ	NA[a]	0.107	0.067
	C_{max} (µg /mL) – GD 20	BLQ	NA[a]	0.258	0.218
	AUC_{0-t} (µg•hr/mL) – GD 7	BLQ	NA[a]	0.739	0.442
	AUC_{0-t} (µg•hr/mL) – GD 20	BLQ	NA[a]	1.94	2.06
	Number Pregnant	23	19	22	22
	Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
	Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	1	0	0

13.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study for Effects on Embryo-fetal Development and Toxicokinetic with GS-5816 in Rabbits**	**Gilead Study No.** TX-281-2014 [redacted] **Study No.** 8287561			
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Maternal (cont.)	**Number of Animals**	**25**	**25**	**25**	**25**
	Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Food Consumption	No treatment-related findings			
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			
	Mean Number of Corpora Lutea	9.0	9.3	9.8	9.5
	Mean Number of Implantations	8.5	8.5	8.7	8.9
	Mean % Preimplantation Loss	6.7	8.1	10.1	6.2
Litters	Litters Evaluated	23	19	22	21
	Mean Live Fetuses (per litter)	8.3	8.2	8.2	8.6
	Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean Number of Resorptions	0.2	0.3	0.4	0.3
	Mean % Postimplantation Loss	2.6	5.7	4.8	2.9
	Mean Fetal Body Weight (g)	39.8	40.6	39.6	40.8
	Covariate Adjusted Mean Fetal Body Weight (g)	39.6	40.9	39.4	41.0
	Fetal Sex Ratios % (Live Number of M:F)	51.6:48.4	47.2:52.8	44.8:55.2	47.1:52.9

13.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**Oral Gavage Study for Effects on Embryo-fetal Development and Toxicokinetic with GS-5816 in Rabbits**			**Gilead Study No.** TX-281-2014 [redacted] **Study No.** 8287561	
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Litters (cont.)	Fetal Anomalies				
	Number of Litters Evaluated	23	18	22	21
	Number of Fetuses Evaluated	191	156	182	181
	Gross External Anomalies	No treatment-related findings			
	Visceral Anomalies	No treatment-related findings			
	Skeletal Anomalies	No treatment-related findings			

AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; BLQ = below the limit of quantitation (< 2.00 ng/mL); C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; M:F = male to female ratio; NA = not applicable; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816)

a Note: Mean and SD values not calculated as only one toxicokinetics animal was pregnant.

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

14.1 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

Test Article: VEL

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats		**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093
Species / Strain: Rat/Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** GD 6 through LD 20	**Location in CTD:** 4.2.3.5.3.1
Initial Age: 14 weeks	**Day of Mating:** GD 0	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**Lot Number:** [redacted]
No Observed Effect Level: **F_0:** 200 mg/kg/day **F_1:** 200 mg/kg/day **F_2:** 200 mg/kg/day	**Vehicle:** 45% (v/v) propylene glycol and 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 in deionized water, pH 2.0 ± 0.1	**Design Similar to ICH 4.1.1?** Yes **Special Features:** Toxicokinetics

	Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_0	**Toxicokinetics (GD 6)**				
	C_{max} (ng/mL)	NA	503	750	1180
	T_{max} (h)	NA	2.00	4.00	4.00
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	2790	6500	10,200
	Toxicokinetics (LD 10)				
	C_{max} (ng/mL)	NA	402	970	1670
	T_{max} (h)	NA	2.00	4.00	4.00
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	2540	7940	13,900

14.1　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（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093	
	Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_1 (combined)	**Toxicokinetics (PND 10)**				
	C_{max} (ng/mL)	NA	3.80	12.0	29.7
	T_{max} (h)	NA	12.0	12.0	0
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	34.0	190	583
F_0 Females	Number of Animals	25	25	25	25
	Number Pregnant	24	25	25	25
	Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Body Weight	No treatment-related findings			
	Food Consumption	No treatment-related findings			
	Mean Duration of Gestation (days)	21.8	21.9	21.8	21.7
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			

14.1　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（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093	
	Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_1 Litters (Preweaning)	**Number of Litters Evaluated**	**24**	**25**	**25**	**25**
	Mean Number of Implantations	15.8	15.5	15.8	15.5
	Mean Number of Pups Born/Litter	14.8	14.9	14.9	14.6
	Mean Number of Liveborn Pups/Litter	14.7	14.8	14.8	14.4
	Postnatal Survival to Day 4 (% per Litter)	96.0	95.0	95.4	96.1
	Postnatal Survival to Weaning (% per Litter)	95.8	97.5	99.5	99.5
	Pup Body Weight Change (g)	No treatment-related findings			
	Pup Sex Ratio (% Males per Litter)	49.6	53.4	49.3	45.1
	Pup Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Pup Necropsy Observations	No treatment-related findings			

14.1　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（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093	
	Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_1 Males (Postweaning)	**Number Evaluated Postweaning**	**24**	**24**	**24**	**25**
	Number Died or Euthanized *in Extremis*	1	2	0	0
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Food Consumption	No treatment-related findings			
	Mean Age at Preputial Separation (days)	45.4	45.5	45.7	45.3
	Startle Response	No treatment-related findings			
	Motor Activity	No treatment-related findings			
	Learning and Memory	No treatment-related findings			
	Mating Index (%)	91.7	100.0	91.7	92.0
	Fertility Index (%)	87.5	87.5	87.5	84.0
	Copulation Index (%)	95.5	87.5	95.5	91.3
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			

14.1　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（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093	
	Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_1 Females (Postweaning)	**Number Evaluated Postweaning**	**24**	**24**	**24**	**25**
	Number Died or Euthanized *in Extremis*	0	2	0	1
	Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Premating Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Gestation Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Lactation Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Premating Food Consumption	No treatment-related findings			
	Gestation Food Consumption	No treatment-related findings			
	Lactation Food Consumption	No treatment-related findings			
	Mean Age at Vaginal Patency (days)	32.0	32.0	32.5	32.2
	Startle Response	No treatment-related findings			
	Motor Activity	No treatment-related findings			
	Learning and Memory	No treatment-related findings			
	Mating Index (%)	100.0	100.0	95.8	96.0
	Fertility Index (%)	95.8	87.5	91.7	88.0

14.1　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（続き）

Test Article: VEL

Report Title:	**An Oral (Gavage) Study of the Effects of GS-5816 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats**			**Gilead Study No.** TX-281-2027 [redacted] **Study No.** [redacted]-604093	
Dose (mg/kg/day)		**0 (Vehicle)**	**20**	**60**	**200**
F_1 Females (cont.) (Postweaning)	**Number Evaluated Postweaning**	**24**	**24**	**24**	**25**
	Conception Index (%)	95.8	87.5	95.7	91.7
	Number Pregnant	23	21	22	22
	Mean Duration of Gestation (days)	21.7	21.6	21.8	21.7
	Abnormal Parturition	-	-	-	-
	Necropsy Observations	No treatment-related findings			
F_2 Litters	Number of Litters Evaluated	23	21	22	22
	Mean Number of Implantations	15.2	15.6	15.6	15.5
	Mean Number of Pups Born/Litter	14.3	14.5	14.6	13.8
	Mean Number of Liveborn Pups/Litter	14.0	14.5	14.6	13.7
	Postnatal Survival to Day 4 (% per Litter)	94.6	98.8	94.5	94.2
	Pup Body Weight Change	No treatment-related findings			
	Pup Sex Ratio (% Males per Litter)	49.2	47.2	52.0	51.7
	Pup Clinical Observations	No treatment-related findings			
	Pup Necropsy Observations	No treatment-related findings			

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}t}$ = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; LD = lactation day; NA = not applicable; PND = postnatal day; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration; VEL = velpatasvir (GS-5816)

15　新生児を用いた試験

該当する試験なし

16 局所刺激性試験

Test Article: VEL

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name & Study No.) /Location
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP)	Bovine Cornea	*In vitro* (0.9% saline)	Opacity assessment (4 hours) followed by permeability assessment (90 minutes)	20% w/w	3 Corneas	*In Vitro* Irritancy Score = 3.4±0.6. No prediction can be made.	TX-281-2039[a] ([redacted] EUN0034) /4.2.3.6.1
Dermal Irritation	Rabbit/ NZW	Dermal (moistened in 0.5 mL purified water)	4 hours	0.5 g	3 F	The primary irritation index was calculated to be 0.0; VEL was classified as a non-irritant.	TX-281-2040[a] ([redacted] EUN0033) /4.2.3.6.2

F = female; NZW = New Zealand White; VEL = velpatasvir (GS-5816)
a Indicates Good Laboratory Practice (GLP)-compliant.

17 その他の毒性試験

17.1 *In Vitro*

Test Article: VEL

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name & Study No.) /Location
Phototoxicity	Fibroblasts / Mouse / Balb/c 3T3 cells	*In Vitro*	90 minutes	VEL: 0, 0.0130.04, 0.127, 0.4, 1.28, 4.05, 12.8, and 40.3 mg/L UVA: 5 J/cm^2 UVB: 21 mJ/cm^2	VEL demonstrated phototoxic but no cytotoxic potential. PIF; > 266 MPE; 0.625.	TX-281-2015 ([redacted] 20043662) /4.2.3.7.7.2

MPE = mean photo effect; PIF = photoirritancy factor; VEL = velpatasvir (GS-5816)

17.1 *In Vitro*（続き）

Test Article: 不純物39*

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay Plate Incorporation Method with 不純物39*		**Gilead Sciences Ref. No.** TX-281-2033 [redacted] **Study No.** 8316206
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.7.6.1
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 3	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor™-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** ~10^8	**Lot Number:** [redacted]
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted]-20[redacted]
Vehicles: **Test Article:** Dimethylsulfoxide (DMSO) **Positive Controls:** Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: Yes		
Genotoxic Effects: Yes		

Treatment	**Dose (μg/plate)**	**Initial Assay - Revertant Colony Counts (Mean ± SD)** **Strain** **TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Metabolic Activation						
Dimethyl Sulfoxide		31 ± 1 MN	76 ± 17 N	8 ± 2 N	10 ± 5 N	19 ± 4 MN
不純物39*	5.00	238 ± 28 N	214 ± 33 MN	6 ± 2 N	21 ± 7 N	12 ± 3 N
	16.0	207 ± 40 R	159 ± 49 R	11 ± 2 N	5 ± 3 R	9 ± 1 N
	50.0	126 ± 8 R	48 ± 11 R	6 ± 3 N	0 ± 0 R	10 ± 1 N
	160	37 ± 11 R	28 ± 5 R	5 ± 3 N	0 ± 0 R	12 ± 4 N
	500	21 ± 7 R	14 ± 6 MR	4 ± 2 N	0 ± 0 R	12 ± 4 N
	1600	15 ± 3 MPR	5 ± 5 MPR	4 ± 1 MPR	0 ± 0 PR	6 ± 1 MPN
	5000	8 ± 5 MPR	1 ± 2 MPR	2 ± 1 MPR	0 ± 0 PR	2 ± 2 MPIN
2-nitrofluorene	1.0	129 ± 21 N	-	-	-	-
sodium azide	2.0	-	804 ± 38 N	713 ± 46 N	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	99 ± 8 N	-
4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	152 ± 12 N

GLP = Good Laboratory Practice, I = Intensely colored agar, M = Plate counted manually, N = Normal background bacterial lawn, P = Precipitation of test article observed, R = Reduced background bacterial law, SD = Standard Deviation

* 新薬承認情報提供時に置き換え

17.1 *In Vitro*（続き）

Test Article: 不純物39*

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay Plate Incorporation Method with 不純物39* **Gilead Sciences Ref. No. TX-281-2033**
[redacted] Study No. 8316206

Treatment	Dose (μg/plate)	Initial Assay (continued) - Revertant Colony Counts (Mean ± SD) Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
With Metabolic Activation						
Dimethyl Sulfoxide		36 ± 2 N	94 ± 5 N	9 ± 1 N	11 ± 3 N	21 ± 3 MN
不純物39*	5.00	35 ± 10 N	97 ± 14 N	12 ± 3 N	9 ± 4 MN	20 ± 6 N
	16.0	56 ± 10 N	128 ± 8 N	12 ± 2 MN	12 ± 4 N	20 ± 3 N
	50.0	199 ± 7 N	237 ± 24 N	9 ± 1 N	23 ± 4 N	19 ± 4 N
	160	381 ± 12 N	293 ± 21 N	9 ± 3 N	17 ± 7 N	14 ± 3 N
	500	244 ± 20 N	189 ± 16 N	9 ± 6 PN	13 ± 5 N	12 ± 5 MPN
	1600	85 ± 19 PN	71 ± 8 PN	9 ± 2 MPN	0 ± 0 PR	7 ± 2 MPIN
	5000	35 ± 5 MPIN	14 ± 6 MPIN	4 ± 2 MPIN	0 ± 0 PIO	2 ± 2 MPIN
benzo[a]pyrene	2.5	434 ± 8 N	-	-	-	-
2-aminoanthracene	2.5	-	1052 ± 68 N	131 ± 6 N	137 ± 6 N	-
	25.0	-	-	-	-	273 ± 36 N

I = Intensely colored agar, M = Plate counted manually, N = Normal background bacterial lawn, O = Obscured background bacterial lawn, P = Precipitation of test article observed, R = Reduced background bacterial law, SD = Standard Deviation

* 新薬承認情報提供時に置き換え

17.1 *In Vitro*（続き）

Test Article: 不純物39*

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay Plate Incorporation Method with 不純物39*	**Gilead Sciences Ref. No. TX-281-2033** **[redacted] Study No. 8316206**

Treatment	**Dose (μg/plate)**	**Confirm Assay - Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Metabolic Activation						
Dimethyl Sulfoxide		42 ± 8 N	104 ± 5 MN	17 ± 6 N	13 ± 3 N	22 ± 5 N
不純物39*	0.016	36 ± 1 N	103 ± 2 N	-	17 ± 8 N	-
	0.050	37 ± 5 N	87 ± 9 N	-	18 ± 4 N	-
	0.160	45 ± 10 N	99 ± 16 N	-	17 ± 5 N	-
	0.500	45 ± 11 MN	123 ± 6 N	-	17 ± 3 N	-
	1.60	69 ± 18 N	117 ± 7 N	-	19 ± 9 N	-
	5.00	242 ± 17 N	234 ± 10 N	18 ± 5 N	31 ± 16 MN	17 ± 3 N
	16.0	66 ± 13 R	96 ± 13 R	10 ± 3 R	2 ± 3 MR	14 ± 5 N
	50.0	28 ± 5 R	78 ± 18 R	6 ± 2 R	0 ± 0 R	12 ± 3 N
	160	-	-	5 ± 1 R	-	10 ± 2 N
	500	-	-	4 ± 3 MR	-	7 ± 2 MN
	1600	-	-	4 ± 1 MPO	-	8 ± 3 MPO
	5000	-	-	4 ± 1 MPO	-	2 ± 2 MPIO
2-nitrofluorene	1.0	170 ± 15 N	-	-	-	-
sodium azide	2.0	-	1068 ± 40 N	784 ± 20 N	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	280 ± 25 N	-
4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	137 ± 8 N

I = Intensely colored agar, M = Plate counted manually, N = Normal background bacterial lawn, O = Obscured background bacterial lawn, P = Precipitation of test article observed, R = Reduced background bacterial lawn, SD = Standard Deviation

17.2 *In Vivo*

Test Article: VEL

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name & Study No.) /Location
Repeat Dose Toxicokinetic	Rat/ Crl:CD Sprague Dawley (SD)	Oral gavage (15% Solutol® HS-15, 45% propylene glycol and 40% RO water, pH 2)	5 Days	0, 50, 150, 450	5 M	No treatment-related findings were noted. NOAEL = 450 mg/kg/day Day 5 C_{max} = 1420 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$ = 16100 ng•h/mL	TX-281-2001 ([redacted] 8254010) /4.2.3.7.7.4
Antigenicity (LLNA)	Mouse/ CBA/Ca	Topical (dimethylformamide)	3 days	10, 25, 50% (w/v)	5 F	No treatment-related findings. VEL is not regarded as a potential skin sensitizer.	TX-281-2041[a] ([redacted] EUN0032) /4.2.3.7.7.1

17.2 *In Vivo*（続き）

Test Article: VEL

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name & Study No.) /Location
Impurities	Rat/ Crl:CD(SD)	Oral gavage (45% (v/v) propylene glycol, 15% (v/v) Kolliphor® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1)	14 days	0 (vehicle), 200 mg/kg/day (VEL/Lot No. [redacted]) 60 and 200 mg/kg/day (VEL-B /Lot No. [redacted])	10 M toxicology 9 M (3 M controls) TK	No treatment-related findings for clinical observations, body weight, body weight gain, or food consumption. VEL and VEL-B-related effects on clinical pathology were limited to a similar nonadverse minimal decrease in red cell mass at 200 mg/kg/day. No treatment-related findings in organ weights and macroscopic/ microscopic evaluations. NOAEL VEL/VEL-B = 200 mg/kg/day C_{max} VEL = 952 ng/mL AUC_{0-24h} VEL = 7620 ng•h/mL C_{max} VEL-B = 1300 ng/mL AUC_{0-24h} VEL-B = 9330 ng•h/mL	TX-281-2042[a] ([redacted] 8316383) /4.2.3.7.6.2

17.2 *In Vivo*（続き）

Test Article: VEL

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Gilead Study No. (CRO Name & Study No.) /Location
Phototoxicity	Rat/ Crl:LE (Long-Evans)	(45% propylene glycol, 15% Solutol® HS-15 prepared in RO water, pH 2.0 ± 0.1)	3 days	0 (vehicle), 20, 60, 200	5 F	No treatment-related findings. VEL was considered nonphototoxic up to 200 mg/kg/day.	TX-281-2016[a] ([redacted] 20046981) /4.2.3.7.7.3

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to time 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LLNA = local lymph node assay; M = male; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; TK = toxicokinetic; RO = reverse osmosis; VEL = velpatasvir (GS-5816); VEL-B = lot containing spiked impurities
a Indicates Good Laboratory Practice (GLP)-compliant.