テリルジー100エリプタ14吸入用
テリルジー100エリプタ30吸入用

製造販売承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）CTDの概要（サマリー）

2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6.　毒性試験の概要文
2.6.7.　毒性試験概要表

グラクソ・スミスクライン株式会社

May 10 2018 14:58:00

非臨床概要 毒性試験の目次

	項目 - 頁
2.6.6. 毒性試験の概要文	2.6.6 - p.1
2.6.6.1. まとめ	2.6.6 - p.1
2.6.6.2. 急性毒性試験	2.6.6 - p.2
2.6.6.3. 反復投与毒性試験	2.6.6 - p.2
2.6.6.4. 遺伝毒性試験	2.6.6 - p.6
2.6.6.5. がん原性試験	2.6.6 - p.6
2.6.6.6. 生殖発生毒性試験	2.6.6 - p.6
2.6.6.7. 局所刺激性試験	2.6.6 - p.6
2.6.6.8. その他の毒性試験	2.6.6 - p.7
2.6.6.9. 考察及び結論	2.6.6 - p.7
2.6.6.10. 図表	2.6.6 - p.13
2.6.6.11. 参考文献	2.6.6 - p.13
2.6.7. 毒性試験概要表	2.6.7 - p.1
2.6.7.1. 毒性試験：一覧表	2.6.7 - p.1
2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧	2.6.7 - p.2
2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧	2.6.7 - p.3
2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧	2.6.7 - p.5
2.6.7.5. 単回投与毒性試験	2.6.7 - p.6
2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験	2.6.7 - p.6
2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験	2.6.7 - p.7
2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.10. がん原性試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.15. 新生児を用いた試験	2.6.7 - p.26
2.6.7.16. 局所刺激性試験	2.6.7 - p.27

2.6.7.17. その他の試験 ..... 2.6.7 - p.27

2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧

略語（略称）	内容
ALP	アルカリホスファターゼ
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
Cmax	最高血漿中濃度
COPD	慢性閉塞性肺疾患
FF	フルチカゾンフランカルボン酸エステル
GLP	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
ICH	医薬品規制調和国際会議
ICS	吸入コルチコステロイド
LABA	長時間作用性 β_2 刺激薬
LAMA	長時間作用性ムスカリン受容体拮抗薬
MgSt	ステアリン酸マグネシウム
TK	トキシコキネティクス
UMEC	ウメクリジニウム臭化物
VI	ビランテロールトリフェニル酢酸塩

2.6.6. 毒性試験の概要文

2.6.6.1. まとめ

フルチカゾンフランカルボン酸エステル／ウメクリジニウム臭化物／ビランテロールトリフェニル酢酸塩（FF/UMEC/VI）吸入粉末剤は、1 日 1 回経口吸入する固定用量配合剤であり、成人における慢性閉塞性肺疾患（COPD）の治療を目的に開発された。

FF は吸入コルチコステロイド（ICS）、UMEC は長時間作用性ムスカリン受容体拮抗薬（LAMA）、VI は長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）である。

COPD 又は喘息の治療を目的に、FF、UMEC 及び VI の単独投与、あるいは FF/VI 及び UMEC/VI の併用投与による一連の毒性試験を実施しているが、これらの資料については、アラミスト®点鼻液、レルベア®エリプタ®及びアノーロ®エリプタ等の承認申請時に提出済であるため、本資料概要には考察の一部についてのみ記載した。

本承認申請（FF/UMEC/VI の 3 薬物併用投与）に際しては、FF/UMEC 及び FF/UMEC/VI 併用投与によるイヌ 13 週間反復投与毒性試験、並びに非臨床及び臨床試験成績に基づく免疫毒性評価を実施した。イヌ 13 週間反復投与試験は GLP に準拠して実施した。投与経路は臨床投与経路である吸入投与とし、動物種としては、これまで実施した非臨床試験成績並びにヒトとの薬物動態及び代謝の類似性からイヌを選択した。また、試験にはいずれも既に市販されている FF、UMEC 及び VI を用いた。UMEC 及び VI の用量及び濃度はいずれも遊離塩基換算量として記載した（血漿中の検体濃度を含む）。なお、毒性試験に用いた各薬物の不純物プロファイルは、臨床試験に用いた各製剤及び FF/UMEC/VI の市販用製剤のものと同等であった。

実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示し、以下に主要所見を示す。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧

試験項目及び期間	投与経路	動物種	被験物質
反復投与毒性試験			
13 週間	吸入	イヌ (ビーグル犬)	FF/UMEC
13 週間	吸入	イヌ (ビーグル犬)	FF/UMEC/VI

反復投与毒性

FF/UMEC 又は FF/UMEC/VI を併用投与したときに観察された所見は、グルココルチコイド、LAMA 又は LABA の投与により予想されるクラスエフェクトと一致するものであり、FF、UMEC 及び VI を併用投与しても、新たな毒性の発現や併用投与による明らかな毒性の増強は認められなかった。

その他の毒性

免疫毒性

FF/UMEC/VI 併用投与による毒性試験並びにこれまでに得られている各薬物の非臨床及び臨床試験成績に基づいて評価した結果、FF/UMEC/VI の併用投与により免疫毒性を示唆する新たな所見は認められなかった。

2.6.6.2. 急性毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.3. 反復投与毒性試験

FF、UMEC 及び VI を単独投与、並びに 2 薬物を併用投与（FF/VI 及び UMEC/VI）したときの薬理及び毒性プロファイルを比較した結果、FF/UMEC/VI の 3 薬物を併用投与しても大きな毒性学的懸念はないと考えられた。しかしながら、FF/UMEC 及び FF/UMEC/VI を併用投与したときの影響については動物を用いた検討を実施していないことから、ICH M3(R2) ガイドラインに従って、FF/UMEC 及び FF/UMEC/VI 併用投与によるイヌ 13 週間吸入投与毒性試験を実施した（表 2.6.6-2）。

FF/UMEC/VI のイヌ吸入投与試験における FF/UMEC/VI の用量比は開発当初の臨床試験成績を基に 4：5：1 としたが、その後、最終製剤における用量比は 4：2.5：1 に変更されたため、UMEC の用量比が臨床最終製剤と異なる。しかしながら、この試験で観察された所見は概ね FF に関連したものであり、また、UMEC の用量比が高い 3 薬物併用投与群（59/73/15 µg/kg/日）において明らかな毒性の増強はみられなかったことからも、安全性評価の観点から本試験成績は最終製剤における用量比（4：2.5：1）での FF/UMEC/VI の使用を支持するものと考えられた。

表 2.6.6-2 反復投与毒性試験一覧

動物種	動物数/性/群	投与経路	推定用量 (µg/kg/日)	投与期間	GLP	実施施設	報告書番号 (試験番号)
イヌ (ビーグル犬)	4	吸入	0:0 7.2:19.2 19.1:52.7 55.8:156 58.9:8.97 60.8:0 0:155 (FF:UMEC)	13 週間	適	[redacted]	2013N164836_00 (D30068)
イヌ (ビーグル犬)	4	吸入	0:0:0 26:32:6 59:73:15 64:0:0 0:73:0 0:0:14 (FF:UMEC:VI)	13 週間	適	[redacted]	2013N169979_00 (D30338G)

[redacted] = [redacted] ([redacted])

2.6.6.3.1. FF/UMEC のイヌ 13 週間投与毒性試験

各群雌雄各 4 匹のイヌに FF/UMEC の 7.2/19.2、19.1/52.7、55.8/156 及び 58.9/8.97 µg/kg/日、並びに FF の 60.8 µg/kg/日及び UMEC の 155 µg/kg/日を経口咽頭チューブにより 1 日 10 分間、13 週間吸入投与した。FF/UMEC の用量及び用量比は、開発時の FF/UMEC の想定臨床用量比（1：2.5～6.6：1）及び FF のイヌにおける最大耐量（60 µg/kg/日）を基に設定した。対照群には媒体（1% w/w MgSt 含有乳糖）を同様に吸入投与した。

試験成績の概略を 2.6.7.7.1.に示した。FF 及び UMEC のいずれも AUC は用量増加に伴って増加した。UMEC の Cmax は概ね用量増加に伴って増加したが、FF は用量増加を下回って増加した。両薬物ともに概ね曝露量（AUC 及び Cmax）に性差はみられなかった。また、FF の曝露量に UMEC 併用投与による明らかな影響はみられなかったが、UMEC の曝露量は FF との併用により低値傾向を示した。

FF 単独投与群（60.8 μg/kg/日群）の雌雄及び併用投与群（全用量群）で副腎（束状帯）の軽微～重度の萎縮（FF の用量に依存した発現頻度／程度の増大）がみられ、これに関連して副腎重量の低値及びコートロシン®負荷に対する血漿コルチゾール分泌量の低値（FF の用量に依存）が認められた。また、これらの群において軽微～重度の肝細胞淡明化（肝細胞内のグリコーゲン沈着）及び肝重量の高値が認められた。更に、胆嚢では軽微～重度の腔内ムチンの増加がみられ、これに関連して剖検時に粘膜の黒色変色又は緑色物質が認められた。FF の単独及び併用投与群（7.2/19.2、19.1/52.7、55.8/156 又は 58.9/8.97 μg/kg/日）の大部分の動物において、種々のリンパ組織（胸腺（萎縮／退縮）、パイエル板／扁桃／腸間膜／下顎／咽頭後／気管気管支リンパ節）で軽度～重度のリンパ球減少がみられ、これに関連して胸腺重量の低値及び小型化が認められた。また、FF の単独及び併用投与群（全用量）では胸骨骨髄で軽度～重度の造血細胞の細胞密度の低下がみられた。FF の単独及び併用投与群（19.1/52.7、55.8/156 及び 58.9/8.97 μg/kg/日）でリンパ球及び好酸球数の軽微低値がみられ、FF の単独投与群及び 55.8/156 μg/kg/日群で一過性かつ軽微な赤血球系パラメータの低値及び血小板数の高値がみられた。また、FF の単独及び併用投与群（全用量）で皮膚付属器の萎縮（休止期毛嚢を特徴とする）が認められたが、これに関連した剖検所見又は一般状態への影響はみられなかった。FF の単独投与群並びに 55.8/156 及び 58.9/8.97 μg/kg/日群の各群雄 1 例で軽微～軽度の骨格筋線維の萎縮がみられた。その他に、FF の単独及び併用投与群（全用量）で臨床検査パラメータの軽微な変動（血清アルブミン／リンの高値、血清クレアチニンの低値、血清コレステロール／血清トリグリセリド／尿量の高値）が認められたが、用量との関連性はみられなかった（7.2/19.2 μg/kg/日群は雌でのクレアチニンの変化のみ）。これらの併用投与群で観察された変化はいずれも FF 単独投与群でみられたが、UMEC 単独投与群では認められず、その大半はグルココルチコイド投与により発現することが知られており、いずれも FF に起因する変化と考えられた。血清アルブミン及びリンについては、FF 単独投与群に比べて併用投与群で増強がみられたが、程度も軽度であり、関連する組織学的変化も認められなかったことから、悪影響ではないと判断された。

UMEC 単独投与により投与 12 週に心拍数の増加（雄では吸入投与前後、雌では吸入投与後）がみられ、これに関連して UMEC 単独投与群の雌雄では投与 4 及び 13 週に大腿部の脈拍数増加（一過性）が認められた。UMEC 単独及び併用投与群（55.8/156 μg/kg/日群）では涙液量の低下及び眼粘膜の乾燥が投与 5 日からみられ、投与 23 日では発現頻度／程度はさらに増大した。また、UMEC 単独及び併用投与群（19.1/52.7、55.8/156 及び 58.9/8.97 μg/kg/日群）で血中尿素窒素の高値がみられた。併用投与群において観察されたこれらの所見は FF 単独投与群では認められず、また、LAMA 投与により発現することが知られており、UMEC に起因する変化と考えられた。血中尿素窒素の高値について、併用投与群で増強が認

められたが、関連する組織学的変化も認められなかったことから、悪影響ではないと判断された。

FF 及び UMEC の単独並びに併用投与群（全用量）において、投与 13 週に網状赤血球数の軽微低値（FF 又は UMEC の用量との関連性なし）及び尿蛋白総排泄量の高値がみられた。これらの変化は両薬物の単独投与群でも観察されていることから、両薬物又はそのいずれか一方の薬物による変化と考えられた。また、FF 又は UMEC 単独投与群に比べ、併用投与群でこれらの所見の増強がみられたが（用量に依存せず）、その他に関連する変化（組織学的変化を含む）が認められなかったことから、いずれも悪影響ではないと判断された。

併用投与群にのみ観察された所見として、55.8/156 µg/kg/日群の 3/4 例で前立腺に軽微～中等度の腺房萎縮（小型化及び重量低値を伴う）がみられたが、本所見に関連した雄生殖器への影響はみられていないことから、悪影響ではないと判断された。また、55.8/156 µg/kg/日群で血清ナトリウムの高値、19.1/52.7、55.8/156 又は 58.9/8.97 µg/kg/日群でカリウムの高値（一過性）がみられたが、いずれも軽微であり、悪影響ではないと判断された。全併用投与群において、プロトロンビン時間の軽微短縮（雄では投与 4 週の 55.8/156 及び 58.9/8.97 µg/kg/日群、投与 13 週の 19.1/52.7、55.8/156 及び 58.9/8.97 µg/kg/日群；雌では投与 4 及び 13 週の 58.9/8.97 µg/kg/日群）にみられたが、その程度は軽微であり、また、活性化部分トロンボプラスチン時間への影響はみられていないことから、悪影響ではないと判断された。なお、プロトロンビン時間の短縮については、FF/UMEC/VI のイヌ 13 週間投与毒性試験（2.6.6.3.2.）において、FF の単独投与群でみられており、FF 投与に起因した変化と考えられた。

以上のように、本試験における投与に関連した変化はグルココルチコイド又は LAMA の投与により予想されるクラスエフェクトと一致するものであった。各薬物の単独投与時と比較して併用投与による明らかな毒性の増強はみられなかった。また、いくつか併用投与時にのみ観察された所見が認められたが、いずれも悪影響ではないと判断された。

2.6.6.3.2. FF/UMEC/VI のイヌ 13 週間投与毒性試験

各群雌雄各 4 匹のイヌに FF/UMEC/VI の 26/32/6 及び 59/73/15 µg/kg/日、並びに FF の 64 µg/kg/日、UMEC の 73 µg/kg/日及び VI の 14 µg/kg/日を経口咽頭チューブにより 1 日 10 分間、13 週間吸入投与した。開発時の FF/UMEC/VI の用量は想定臨床用量比（4：5：1）及び FF のイヌにおける最大耐量（60 µg/kg/日）を基に設定した。対照群には媒体（1% w/w MgSt 含有乳糖）を同様に吸入投与した。

試験成績の概略を 2.6.7.7.2.に示した。FF、UMEC 又は VI の曝露量（AUC 及び Cmax）は単独及び併用時ともに大きなばらつきが認められたが、いずれも概ね用量増加に伴って増加した。各薬物の単独投与時と併用投与時で明らかな相違は認められなかった。UMEC の平均曝露量は雌に比べて雄で高値傾向を示した（UMEC の単独及び併用投与時）。

FF の単独及び併用投与群（低用量及び高用量ともに）の多くの動物において、種々のリンパ組織（胸腺／パイエル板／扁桃／下顎／腸間膜／気管気管支／膝窩リンパ節）に軽微～重度なリンパ球減少がみられ、胸腺では萎縮／退縮、他の組織では傍皮質領域のリンパ球数減少及び胚中心の減少／小型化を特徴としていた。また、剖検では胸腺の重量低値／小型化

及び膝窩リンパ節の小型化が観察された。胸骨骨髄では、併用投与群（低用量及び高用量ともに）並びに FF 単独投与群の雌雄で軽微～中等度の造血細胞の細胞密度低下がみられた。また、これらの群の多くの動物で肝細胞淡明化（軽微～重度）がみられ、これに関連した肝臓の重量高値及び大型化が認められた。更に、これらの群の数例では軽度～重度の胆嚢腔内ムチンの増加及び軽度の上皮空胞化がみられ、剖検時には変色（緑色）及び異常内容物が観察された。副腎皮質では、併用投与群（低用量及び高用量ともに）並びに FF 単独投与群で軽度～重度の束状帯の萎縮及び副腎の重量低値／小型化が認められた。皮膚では併用投与群（低用量及び高用量ともに）並びに FF 単独投与群の雄全例及び雌多数例で中等度の皮膚付属器の萎縮（休止期毛嚢を特徴とする）がみられた。なお、皮膚所見に関連した一般状態への影響及び肉眼的変化は認められなかった。また、高用量併用投与群及び FF 単独投与群の各雄 1 例では骨格筋に軽度の限局性の筋線維萎縮がみられた。併用投与群（低用量及び高用量ともに）並びに FF 単独投与群で軽微～中等度のリンパ球及び好酸球数の低値がみられた。また、高用量併用投与群及び FF 単独投与群ではプロトロンビン時間の軽微短縮がみられた。その他に、血清トリグリセリド、コレステロール、総蛋白及びアルブミンの高値並びにクレアチニンの低値（軽微～軽度）が認められた。これらの併用投与群で観察された変化は、いずれも FF 単独投与群でみられたが UMEC 及び VI 単独投与群では認められず、その大半はグルココルチコイド投与により発現することが知られており、FF に起因する変化と考えられる。以上の所見のうち、気管気管支リンパ節及び扁桃でのリンパ球減少については、FF 単独投与群と比較して併用投与群では発現頻度又は程度に増強がみられたが、その程度はわずかであった。

VI の単独又は FF/UMEC との併用投与群の雄で脈拍数の増加（投与 1 日の投与直後のみ）がみられた。本所見は FF 又は UMEC の単独投与群では認められなかったことから、VI に起因した変化と考えられた。VI 単独投与群と比べて併用投与で本所見の程度に増強は認められなかった。

UMEC 単独投与群では涙液量減少及び眼粘膜の乾燥がみられ、投与 5 日でもっとも顕著であった。その他に、UMEC 単独投与群の雌で投与 12 週に赤血球系パラメータ（ヘモグロビン、ヘマトクリット及び赤血球数）の軽微低値が認められた。

高用量併用投与群の雄では VI 及び FF の投与に関連した ALP 高値に程度の増強が認められた。高用量併用投与群では種々の電解質への影響（カリウム、カルシウム及びリンの高値等）がみられた。これらの変化は低用量併用投与群又はいずれかの薬物の単独投与群でもみられたが、その程度は併用投与群でやや強く認められた。また、全投薬群の雌で投与 4 又は 12 週に血中尿素窒素の高値がみられたが、いずれの群においても軽微で同程度であった。これらの併用投与群で観察された変化は、いずれも軽度であり、関連する組織学的変化も認められないことから、悪影響ではないと判断された。

併用投与群でのみ観察された所見として、高用量併用投与群で好中球及び血小板数の高値並びに血清クロールの低値がみられたが、いずれも軽度であり、悪影響ではないと判断された。好中球及び血小板数の増加は、これまでに実施した FF の単独投与試験又は VI との併用投与試験において観察されており、いずれもグルココルチコイドによるクラスエフェクトと考えられている（1.13.1.3.1.及び 1.13.1.3.6.）。また、高用量併用投与群の雌 1 例で食道に

軽微な急性／亜急性炎症を伴う軽度の粘膜びらんが認められた。本所見がみられたのは 1 例のみであったが、これまでに実施した、FF/VI のイヌ 13 週間併用投与試験において FF の単独投与群でも同様の用量で観察されており、グルココルチコイドによるクラスエフェクトと考えられている（1.13.1.3.1.）。

以上のように、本試験における投与に関連した変化はグルココルチコイド、LAMA 又は LABA のクラスエフェクトに一致したものであった。各薬物の単独投与時と比較して FF/UMEC/VI 併用投与による明らかな毒性の増強はみられず、併用投与による新たな毒性の発現も認められなかった。

2.6.6.4. 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1. In vitro 試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.4.2. In vivo 試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.4.3. 遺伝毒性不純物の評価

既承認薬であるアラミスト点鼻液（FF）、レルベアエリプタ（FF/VI）及びアノーロエリプタ（UMEC/VI）の開発過程において、FF、UMEC 及び VI の合成経路を基に原薬中に変異原性不純物が含まれる可能性について検討している。その結果、最終原薬中に変異原性を示すことが知られている、又はその可能性があり、毒性学的懸念の閾値を超えて存在する不純物は認められなかった。

予定している市販用製剤は 2 つのブリスターストリップで構成されている（3.2.P.1.）。FF のブリスターストリップ（1 ブリスターあたり約 100 μg の FF を含有）は既承認薬のレルベアと同一のものであるが、UMEC/VI ブリスターストリップ（約 62.5 μg の UMEC 及び約 25 μg の VI を含有）は新規製剤であるため、この部分の合成経路を基に製剤中に変異原性不純物が含まれる可能性について評価した。その結果、最終製剤中に変異原性を示すことが知られている、又はその可能性があり、毒性学的懸念の閾値を超えて存在する不純物は認められなかった（3.2.P.5.5.）。

2.6.6.5. がん原性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.6. 生殖発生毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.7. 局所刺激性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8. その他の毒性試験

2.6.6.8.1. 免疫毒性

FF/UMEC/VI を併用投与したときの免疫毒性の可能性について、既存の非臨床及び臨床試験成績並びに各薬物の薬理作用を基に検討した[GSK 社内資料, 2013N175854_00]。

FF の毒性試験ではグルココルチコイドに特徴的な免疫系への影響がみられており、また、ICS を投与した際には免疫抑制作用により、既存感染症の増悪が起こる可能性があることが知られている。UMEC 及び VI については、非臨床及び臨床試験で臨床曝露量の範囲においても投与に関連した免疫機能障害や明らかな免疫抑制を示す所見は認められていない。また、FF/UMEC/VI 併用投与によるイヌ 13 週間投与試験において免疫毒性を示唆する新たな所見はみられなかった。

以上より、ICS が免疫毒性を示す可能性があることは既に明らかにされており、FF/UMEC/VI を併用投与しても免疫毒性に対する新たなリスクは認められなかった。そのため、FF/UMEC/VI 併用投与による免疫毒性の可能性について評価するための新たな非臨床試験は実施していない。

2.6.6.9. 考察及び結論

COPD 又は喘息の治療を目的に、これまでに FF（ICS）、UMEC（LAMA）及び VI（LABA）の単独又は 2 薬物併用投与による一連の毒性試験を実施している（1.13.1.3.1.、1.13.1.3.2.及び 1.13.1.3.6.）。本申請（FF/UMEC/VI の 3 薬物併用）に際しては、FF/UMEC 及び FF/UMEC/VI のイヌ 13 週間投与毒性試験を実施した。また、既存の非臨床及び臨床試験で得られた知見並びに各薬物の薬理作用を基に本剤の免疫毒性評価を実施した。

FF/UMEC/VI のイヌ 13 週間投与試験において併用投与により程度の増大がみられた、又は FF/UMEC/VI 投与群にのみ観察された所見、並びにそのときの曝露量及び予定臨床用量（FF/UMEC/VI＝100/62.5/25 μg）を投与したときとの曝露量比（臨床曝露量比）を表 2.6.6-3 に示し、FF、UMEC 及び VI を単独投与したときの主要所見、並びにそれらの所見の最小影響量／無影響量及び動物／ヒト曝露量比をそれぞれ表 2.6.6-4、表 2.6.6-5 及び表 2.6.6-6 に示した。

FF/UMEC 併用投与によるイヌ 13 週間投与試験において投与に関連した変化はいずれも各薬物の薬理作用に関連したものであった。各薬物の単独投与時にはみられず、併用投与時にのみ認められた所見として、前立腺の腺房萎縮（前立腺小型化・重量低値を伴う）、プロトロンビン時間短縮及び血清ナトリウム・カリウム高値がみられたが、いずれも軽度であること又は関連所見は認められていないことから、悪影響ではないと判断され、併用投与による新たな毒性はみられなかった。また、FF/UMEC 併用投与により、いくつかの所見（網状赤血球数の低値、血清アルブミン・リン／血中尿素窒素／尿蛋白総排泄量の高値）において単独投与に比べて併用投与による発現頻度／程度の増大がみられたが、明らかな毒性の増強を示すものではなかった。

FF/UMEC/VI 併用投与によるイヌ 13 週間投与試験において投与に関連した変化はいずれも各薬物の薬理作用に関連したものであった。各薬物の単独投与時にはみられず、併用投与

時にのみ認められた所見として、好中球・血小板数の高値及び血清クロールの低値がみられたが、いずれも軽度であり悪影響ではないと判断され、併用投与による新たな毒性はみられなかった。また、FF/UMEC/VI 併用投与により、いくつかの所見（ALP（雄のみ）・カリウム・リン・カルシウムの高値及び気管気管支リンパ節及び扁桃におけるリンパ球減少）の発現頻度／程度の増大がみられたが、いずれも明らかな毒性の増強を示すものではなかった。

FF/UMEC/VI の 3 薬物投与による免疫毒性の可能性について検討した結果、3 薬物を併用投与しても免疫毒性を示唆する新たなリスクは示されなかった。

以上のように、FF/UMEC 又は FF/UMEC/VI 併用投与による毒性試験結果を評価したところ、これまでの FF、UMEC 又は VI のベネフィット・リスク評価に影響を及ぼす新たな毒性の発現はみられなかった。また、いずれの薬物においても 3 薬物の併用投与により、各薬物の単独投与時と比較して明らかに強い毒性を示唆する所見はみられず、臨床における FF/UMEC/VI の併用投与による使用において安全性上重大な懸念を示す兆候は認められなかった。なお、COPD 患者を対象に FF/UMEC/VI を投与した臨床試験（1 日 1 回、投与期間 52 週間）においても新たな安全性上の懸念は認められていない（2.5.5.）。

表 2.6.6-3　イヌ 13 週間吸入投与毒性試験において FF/UMEC/VI 併用投与により増強した、又は併用投与時にのみ観察された所見、並びにそのときの全身曝露量及び動物／ヒト曝露量比

投与群		低用量併用投与群 [a]	高用量併用投与群 [a]	FF 単独 [b]	UMEC 単独 [c]	VI 単独 [d]
推定用量 (μg/kg/日)		26 / 32 / 6	59 / 73 / 15	64	73	14
曝露量 [e]	AUC0-t (ng.h/mL)	1.36 / 0.32 / 4.23	2.90 / 2.19 / 10.6	2.22	1.73	13.4
	Cmax (ng/mL)	0.28 / 0.66 / 3.79	0.53 / 1.90 / 9.18	0.38	2.19	8.28
動物/ヒト曝露量比 [b, c, d, e]						
	AUC	4.4 / 0.6 / 11	9.3 / 4.1 / 27	7.1	3.3	34
	Cmax	11 / 7.7 / 49	21 / 22 / 118	15	26	106
	肺到達量 [f]	6 / 12/ 5	13 / 27 / 14	15	27	13
併用投与により増強が認められた所見						
ALP 電解質への影響		高用量併用投与群において、低用量併用群又は各薬物単独投与群（FF、UMEC 又は VI）と比較してわずかに増強（ALP（雄のみ）、カリウム、リン及びカルシウムの軽微高値）が認められた。				
気管気管支リンパ節及び扁桃のリンパ球減少		高用量併用投与群において、低用量併用群又は FF 単独投与群と比較して、気管気管支リンパ節及び扁桃におけるリンパ球減少の発現頻度／程度の軽微高値が認められた。				
併用投与にのみ観察された所見						
好中球数 血小板数 血清クロール		高用量併用投与群において、好中球及び血小板数の軽微高値並びに血清クロールの軽微低値が認められた。				

a = FF/UMEC/VI

b = FF の曝露量比は、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 μg/日を投与したときの FF の AUC0-τ 及び Cmax (それぞれ 0.311 ng.h/mL 及び 0.0253 ng/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

c = UMEC の曝露量比は、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 μg/日を投与したときの UMEC の AUC0-τ 及び Cmax (それぞれ 0.529 ng.h/mL 及び 0.0856 ng/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

d = VI の曝露量比は、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 μg/日を投与したときの VI の AUC0-τ 及び Cmax (それぞれ 0.389 ng.h/mL 及び 0.0778 ng/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

e = イヌ 13 週間併用投与毒性試験における FF/UMEC/VI 併用投与時の曝露量及び曝露量比は全測定時点の雌雄合算値を基に算出。

f = イヌ及びヒトにおける推定肺沈着率をそれぞれ 25 及び 100%、肺重量をそれぞれ 110 及び 1000 g、イヌの体重を 10 kg と仮定して算出。

- = 該当せず

表 2.6.6-4　FF のラット、イヌ及びマウスを用いた反復投与毒性試験における主要所見及び動物／ヒト曝露量比

主要所見	ラット			イヌ			マウス[b]		
	最小影響量 (μg/kg/日)	無影響量 (μg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比[h]	最小影響量 (μg/kg/日)	無影響量 (μg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比[h]	最小影響量 (μg/kg/日)	無影響量 (μg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比[h]
ラット 26 週間、イヌ 39 週間、マウス 13 週間投与毒性試験									
体重増加抑制 体重増加亢進	3.2 NO	< 3.2 NO^R	< 2.0 -	13.3 30.1	< 13.3 13.3	< 5.5 5.5	7.3 NO	< 7.3 NO^M	< 3.6 -
リンパ球減少	3.2	< 3.2	< 2.0	13.3	< 13.3	< 5.5	7.3	< 7.3	< 3.6
副腎重量減少／皮質萎縮	6.5[a]	< 6.5	NC	13.3	< 13.3	< 5.5	NO	NO^M	-
血漿コルチゾール減少	NM	NM	-	13.3	< 13.3	< 5.5	NM	NM	-
リンパ組織の細胞密度低下	3.2	< 3.2	< 2.0	13.3	< 13.3	< 5.5	7.3	< 7.3	< 3.6
骨髄細胞密度低下／脂肪増加	8.3	3.2	2.0	13.3	< 13.3	< 5.5	NO	NO^M	-
肝重量増加	6.5[a]	NO^R	-	11.3[b]	< 11.3	< 3.3	7.3	< 7.3	< 3.6
肝グリコーゲン沈着	NO	NO^R	-	6.92[e]	< 6.92	< 0.7	NO	NO^M	-
乳腺の分泌亢進(雌)	7.85[c]	< 7.85	< 2.9	NO	NO^D	-	NO	NO^M	-
胃の炎症性変化	NO	NO^R	-	20.6[e]	6.92 or 13.3	0.7 or 5.5	NO	NO^M	-
骨格筋萎縮	NO	NO^R	-	56.1[e]	20.6	3.2	NO	NO^M	-
歯の肉眼的/組織学的変化	7.85[d]	< 7.85	< 2.9	57.5[g]	18.6	6.4	NO^f	NO^M	-

用量は各試験の全投与期間を通しての推定用量(肺沈着率を 100%として算出)

a = 4 週間投与毒性試験 3 試験のうち 1 試験でみられたが、26 週間投与毒性試験では高用量(20.3 μg/kg/日)でも認められず。

b = 13 週間投与毒性試験結果より(39 週間投与毒性試験では 13.3 μg/kg/日でも認められず)。

c = ラット 4 及び 13 週間併用投与毒性試験で FF 投与により認められたが(VI 単独投与ではみられず)、26 週間投与毒性試験では FF の高用量(20.3 μg/kg/日)でも認められず。

d = ラット 13 週間併用投与毒性試験で FF の単独及び VI との併用投与により認められたが、がん原性試験で肉眼的変化はみられず、ラット 26 週間投与毒性試験では 20.3 μg/kg/日でも組織学的変化は認められず(レトロスペクティブな検討)。

e = イヌ 13 週間併用投与毒性試験で FF の単独及び VI との併用投与により認められたが、39 週間投与毒性試験では高用量の 59.6 μg/kg/日でも認められず。

f = マウス 13 週間投与毒性試験では高用量の 76.9 μg/kg/日でもみられず(レトロスペクティブな検討)。

g = 幼若イヌ 13 週間併用投与毒性試験で FF の単独及び VI との併用投与により(成熟イヌでは検討せず)。

h = 毒性試験における無影響量又は最小影響量投与時の曝露量及び、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 μg/日を投与したときの FF の AUC0-τ(0.311 ng.h/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

- = 該当せず　NM = 測定せず　NO = 観察されず　NC = 算出せず(データ不十分のため)

NO^R = ラット 13 又は 26 週間投与試験の高用量(それぞれ 24.3 及び 20.3 μg/kg/日)でもみられず、そのときの曝露量は予定臨床用量(100 μg/日)投与時のそれぞれ 0.9 及び 2.0 倍に相当。

NO^D = イヌ 39 週間投与毒性試験の高用量(59.6 μg/kg/日)でも認められず、そのときの曝露量は臨床用量投与時の 19 倍に相当。

NO^M = マウス 13 週間投与毒性試験の高用量(76.9 μg/kg/日)でも認められず、そのときの曝露量は臨床用量投与時の 15 倍に相当。

表 2.6.6-5　UMEC のラット、イヌ及びマウスを用いた反復投与毒性試験における主要所見及び動物／ヒト曝露量比

主要所見	ラット			イヌ			マウス		
	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [a]	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [a]	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [a]
2 又は 4 週間投与毒性試験									
胆嚢筋線維の変性／再生	-	-	-	1018[b]	1002[c]	144	NO	NO	-
上気道の刺激性変化	243	26.1	NA	16.2	NO	NA	299	NO	NA
心拍数／脈拍数増加	NR	NR	-	208	16.2	NR[tk]	NR	NR	-
13 週間投与毒性試験									
上気道の刺激性変化	38	NO	NA	NO	1070[d]	NA	92	NO	NA
心拍数／脈拍数増加	NR	NR	-	1070[d]	187[d]	31[d]	NR	NR	-
ラット 26 週間及びイヌ 39 週間投与毒性試験									
気道の刺激性変化	87.1	NO	NA	421	109	NA	-	-	-
血管所見(心臓及び肺)	NO	NO	-	421	109	21	-	-	-
心拍数／脈拍数増加	NR	NR	-	109	NO	NA	-	-	-

用量は各試験の全投与期間を通しての推定用量(肺沈着率を 100%として算出)

a = 毒性試験における無影響量投与時の曝露量及び、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 µg/日を投与したときの UMEC の AUC0-τ 及び Cmax(それぞれ 0.529 ng.h/mL 及び 0.0856 ng/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

b = イヌ 14 日間ブリッジング試験より(その後実施したより長期間の投与試験では同程度の曝露量においても観察されず)

c = 39 週間投与毒性試験における高用量(無毒性量)

d = 本試験における曝露量は予想曝露量を下回っていたため、曝露量比は Cmax を基に算出。

- = 該当せず　NA = 不適切(全身曝露量又は肺到達量との関連性が低いため)　NO = 観察されず

NR[tk] = TK データなし　NR = データなし

表 2.6.6-6　VI のラット、イヌ及びマウスを用いた反復投与毒性試験における主要所見及び動物／ヒト曝露量比

主要所見	ラット			イヌ			マウス		
	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [b]	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [b]	最小影響量 (µg/kg/日)	無影響量 (µg/kg/日)	動物/ヒト曝露量比 [b]
ラット 26 週間、イヌ 39 週間、マウス 13 週間投与毒性試験									
一般状態悪化	NO	NO^R	-	NO	NO^D	-	63600[a]	38200	1512
心臓／心血管系への影響 頻脈 乳頭筋線維化	NO	NO^R	-	 62.5 510	 9.55 62.5	 28^+ 85	NO	NO^M	-
上気道／鼻腔の刺激性変化 嗅上皮へのリンパ球浸潤	10253 NO	2674 NO^R	NA NA	9.55 62.5	<9.55 9.55	NA NA	1020 NO	58.6 NO^M	NA NA
体重増加亢進	57.7	<57.7	<13	62.5	9.55	<14	58.6	<58.6	<22
肝細胞淡明化	NO	NO^R	-	9.55	<9.55	<14	6490	1020[c]	214
摂餌量高値	57.7	<57.7	<13	NO	NO^D	-	NO	NO^M	-
胸腺の退縮／萎縮	NO	NO^R	-	510	62.5	85	NO	NO^M	-
卵巣嚢胞及び黄体数減少	537	57.7	13	NO	NO^D	-	NO	NO^M	-
乳腺腺房発達、線腫及び細胞異型	537	57.7	13	NO	NO^D	-	NO	NO^M	-
子宮筋肥大	NO	NO^R	-	NO	NO^D	-	1020	58.6	22
主要な長期反復投与試験で観察されなかった、又は短期反復投与試験でより低用量において観察された所見									
骨格筋筋線維の変性／炎症	6.29	<6.29	NC	NO	NO	-	NO	NO	-
胸腺退縮／萎縮	NO	NO	-	9.31	<9.31	<18	NO	NO	-
限局性肺出血	503	NI	-	NO	NO	-	NO	NO	-

用量は各試験の全投与期間を通しての推定用量(肺沈着率を 100%として算出)

a = 投与開始時の高用量は、投与 8 日に 38200 µg/kg/日に減量した。

b = 毒性試験における無影響量又は最小影響量投与時の曝露量及び、母集団薬物動態解析による日本人 COPD 患者に FF/UMEC/VI の 100/62.5/25 µg/日を投与したときの VI の AUC0-τ(0.389 ng.h/mL)を基に算出。ただし、＋は Cmax(0.0778 ng/mL)を基に算出(2.7.2.3.2.2.3.)。

c = 58.6 µg/kg/日群の 1 例のみ。

- = 該当せず　NA = 不適切(全身曝露量又は肺到達量との関連性が低いため)　NC = 算出せず(データ不十分のため)　NI = 特定できず(1 用量による試験のため)

NO^R = ラット 26 週間投与毒性試験の高用量(10253 µg/kg/日)でも認められず、そのときの曝露量は臨床用量投与の 1794 倍に相当。

NO^D = イヌ 39 週間投与毒性試験の高用量(510 µg/kg/日)でも認められず、そのときの曝露量は臨床用量投与時の 805 倍に相当。

NO^M = マウス 13 週間投与毒性試験の高用量(38200 µg/kg/日)でも認められず、そのときの曝露量は臨床用量投与時の 1512 倍に相当。

2.6.6.10. 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11. 参考文献

GlaxoSmithKline Document Number 2013N175854_00 Study ID 18345. Assessment of immunotoxicity potential for GSK573719 + GW685698 + GW642444 (long-acting muscarinic antagonist + glucocorticoid receptor agonist + long-acting beta-agonist; COPD). Report Date 11-Sep-2013.

2.6.7. 毒性試験概要表

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表

Type of Study	Species (Strain)	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dose[a] (μg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Test Article: FF, UMEC and VI Report No. (Study No.)	Location in CTD
Combination Toxicity Study	Dog (Beagle)	4	Inhalation	0 7.2:19.2 19.1:52.7 55.8:156 58.9:8.97 60.8:0 0:155 (UMEC:FF)	13 weeks	Yes	[redacted]	2013N164836_00 (D30068)	4.2.3.2
Combination Toxicity Study	Dog (Beagle)	4	Inhalation	0 26:32:6 59:73:15 64:0:0 0:0:14 0:73:0 (FF:UMEC:VI)	13 weeks	Yes	[redacted]	2013N169979_00 (D30338G)	4.2.3.2

Key:
a = Estimated inhaled dose (males + females combined)
FF = Fluticasone furoate.
UMEC = Umeclidinium bromide.
VI = Vilanterol trifenatate.

Testing Labo ory
[redacted] =
([redacted])

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧

Type of Study	Species (Strain)	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dose[a] (µg/kg/day)	Duration of Dosing (Sampling Occasions)	GLP	Testing Facility	Test Article: FF, UMEC and VI Report No. (Study No.)	Location in CTD
Toxicokinetics	Dog (Beagle)	4	Inhalation	7.2:19.2 19.1:52.7 55.8:156 58.9:8.97 60.8:0 0:155 (UMEC:FF)	13 weeks (Day 1, Week 4, 8 and 13)	Yes	[redacted]	2013N164836_00 (D30068)	4.2.3.2
Toxicokinetics	Dog (Beagle)	4	Inhalation	0 26:32:6 59:73:15 64:0:0 0:0:14 0:73:0 (FF:UMEC:VI)	13 weeks (Day 1, Week 4, 8 and 13)	Yes	[redacted]	2013N169979_00 (D30338G)	4.2.3.2

Key:
a = Estimated inhaled dose (males + females combined), expressed in terms of parent compound.

Testing Facilitie
[redacted] = [redacted] ([redacted]).

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験

Test Article: FF and UMEC
Location in CTD: 4.2.3.2
Report No.: 2013N164836_00 Study No.: D30068

Species (Strain):	Dog											
Gender (M/F)/Number of Animals:	4M/4F											
Feeding Condition:	Fed											
Vehicle/Formulation:	Oropharyngeal tube inhalation with lactose containing magnesium stearate (1% w/w)											
Method of Administration (Duration):	Inhaled (13 weeks)											
Toxicokinetic Sampling Days:	Day 1, Week 4, Week 8, Week13											
Assay:	HPLC-MS/MS											
Sample:	Plasma											
Analyte:	FF	UMEC	FF	UMEC	FF	UMEC	FF	UMEC	FF	UMEC	FF	UMEC
Estimated Achieved Dose (µg/kg/day)[a]	7.2	19.2	19.1	52.7	55.8	156	58.9	8.97	0	155	60.8	0
Cmax (pg/mL)	121	490	410	1551	749	3743	369	113	NC	7520	468	NC
AUC0-t (pg.h/mL)	353	778	1365	2919	2721	6420	2538	29.9	NC	10938	2499	NC

Notes:
Systemic exposure is arithmetic mean of all measurements taken over the duration of study (males and females), with unquantifiable values set to “zero”.
Calculated exposure values have been normalised from estimated achieved dose on the sampling occasion to the overall estimated achieved dose for whole study.
Key:
a = Doses are estimated achieved doses calculated for the whole duration of each study.
FF = Fluticasone furoate.
UMEC = Umeclidinium.
HPLC-MS/MS = High performance liquid chromatography with tandem mass spectroscopy.
NC = Not calculable due to insufficient data or unmeasurable analyte.

2.6.7.3.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験

Test Article: FF, UMEC and VI
Location in CTD: 4.2.3.2
Report No.: 2013N169979_00 Study No.: D30338G

Species (Strain):	Dog								
Gender (M/F)/Number of Animals:	4M/4F								
Feeding Condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Oropharyngeal tube inhalation with lactose containing magnesium stearate (1% w/w)								
Method of Administration (Duration):	Inhaled (13 weeks)								
Toxicokinetic Sampling Days:	Day 1, Week 4, Week 8, Week 13								
Assay:	HPLC-MS/MS								
Sample:	Plasma								
Analyte:	FF	UMEC	VI	FF	UMEC	VI	FF	UMEC	VI
Estimated Achieved Dose (µg/kg/day)[a]	26	32	6	59	73	15	64	73	14
Cmax (ng/mL)	0.28	0.66	3.79	0.53	1.90	9.18	0.38	2.19	8.28
AUC0-t (ng.h/mL)	1.36	0.32	4.23	2.90	2.19	10.6	2.22	1.73	13.4

Notes:
Systemic exposure is arithmetic mean of all measurements taken over the duration of study (males and females), with unquantifiable values set to “zero”.
Calculated exposure values have been normalised from estimated achieved dose on the sampling occasion to the overall estimated achieved dose for whole study.
Pharmacokinetic parameters are only tabulated for corresponding dosed test article. Drug concentrations were measured for all analytes (FF, UMEC and VI) in all samples regardless of dosed test article. Where different, pharmacokinetic parameters could not be calculated due to plasma concentrations, in all cases, being lower than the limit of quantification.
Key:
a = Doses are estimated achieved doses calculated for the whole duration of each study.
FF = Fluticasone furoate.
UMEC = Umeclidinium.
VI = Vilanterol.
HPLC-MS/MS = High performance liquid chromatography with tandem mass spectroscopy.

2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

反復投与毒性試験に用いた FF、UMEC 及び VI 原薬のロットについては 2.6.7.7.1 及び 2.6.7.7.2 に示す。

May 10 2018 14:03:07

2.6.7.5. 単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験

Test Article: FF and UMEC

Study Type: Repeat Dose Toxicity	Report Title: GSK573719A and GW685698X: Combination Toxicity Study by Inhalation Administration (Oropharyngeal Tube) of a Powder Aerosol Formulation to Dogs for 13 Weeks	Test Articles: GSK573719A (bromide salt) and GW685698X (parent compound) Input Batch/lot Nos.: GSK573719: R504835 and GW685698: R492501
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 13 weeks	GSK Reference No.: D30068
Initial Age: 13 to 14 months	Route/Frequency: Oropharyngeal tube inhalation, once daily (10 min/day)	GSK Document Number: 2013N164836_00
Date of First Dose: 21 August 2012 (males) 22 August 2012 (females)	Vehicle: Lactose monohydrate (Batch/Lot Nos. 600918/121355298) with1% w/w magnesium stearate (Batch/Lot Nos. C102592/111285236) Formulation: 2% and 0.8% w/w GSK573719 and GW685698 blended in vehicle (Groups 2, 3 and 4); 1.5% and 10% w/w GSK573719 and GW685698 blended in vehicle (Group 5); 5% w/w GSK573719 in vehicle (Group 6); 2% w/w GW685698 in vehicle Group 7)	Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Tube aerosol concentration, particle size distribution, clinical observations, body weights, food consumption measurements, ophthalmoscopic observations, qualitative and quantitative electrocardiography, femoral pulse rates, Schirmer tear test measurements, plasma cortisol concentrations (cortrosyn challenge test), hematology, coagulation, clinical chemistry and urinalysis results, organ weights and macroscopic and microscopic observations. Toxicokinetic evaluation was performed on samples collected on Day 1 and in Weeks 4, 8 and 13. Blood was collected for possible evaluation of serum cardiac troponin I (analysis not required).

Conclusion: Test article-related findings consistent with the expected class effects of administration of either a corticosteroid or long acting muscarinic receptor antagonist (LAMA) were noted. No major exacerbation of findings was evident for either GSK573719 or GW685698 when administered in combination at the range of anticipated clinical ratios of 2.5:1 or 1:6.6. Combination administration of GSK573719/GW685698 was associated with minimal exacerbation of a few non-adverse clinical pathology changes seen with either compound alone, including decreases in reticulocyte counts and increases in serum albumin, phosphorus, blood urea nitrogen (BUN) concentrations and urinary total protein excretion. Minor non-adverse changes seen with GSK573719/GW685698 in combination but not with either compound alone included minimal to moderate prostate acinar atrophy associated with decreased prostate size and weight, minimally shortened prothrombin times and minimally increased serum sodium and potassium (transient) concentrations. Generally, co-administration of GSK573719 had no notable effect on the systemic exposure of GW685698 at either dose ratio when compared to administration of GW685698 alone; however, a consistent lower exposure to GSK573719 was apparent when administered with GW685698 at both dose ratios when compared to administration of GSK573719 alone. There were no major deviations in dose proportionality for mean AUC of both GSK573719 and GW685698 with increasing dose.

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a]		Male							Female						
(µg/kg/day)	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Achieved Aerosol Concentration[b]															
(µg/L)	GSK573719	0	4.30	11.8	35.1	2.01	34.6	0	0	4.30	11.8	35.1	2.01	34.8	0
	GW685698	0	1.61	4.28	12.6	13.2	0	13.6	0	1.61	4.27	12.6	13.2	0	13.7
Mass Median Aerodynamic Diameter (µm),± GSD															
	GSK573719	-	1.9± 1.99	2.3± 2.16	2.4± 2.28	2.7± 1.67	2.6± 2.07	-	-	1.9± 1.99	2.3± 2.16	2.4± 2.28	2.7± 1.67	2.6± 2.07	-
	GW685698	-	1.5± 2.00	2.0± 2.42	2.2± 2.57	2.3± 2.07	-	2.7± 2.25	-	1.5± 2.00	2.0± 2.42	2.2± 2.57	2.3± 2.07	-	2.7± 2.25
Numbers of Animals:	Main	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
AUC(0-t) (pg.h/mL)[e]	Day 1	NC	54.3	467	1830	43.3	3180	NC	NC	272	858	3480	NC	4540	NC
GSK573719	Week 4	NC	799	3530	6700	37.1	6180	NC	NC	1090	2960	5810	28.1	14600	NC
	Week 8	NC	875	3680	8440	48.2	15100	NC	NC	1490	2910	9180	16.3	20100	NC
	Week 13	NC	744	5240	8910	44.4	12700	NC	NC	900	3710	7010	21.7	11100	NC
Cmax (pg/mL)[e]	Day 1	NC	134	922	2780	190	4770	NC	NC	739	1280	4470	118	6420	NC
GSK573719	Week 4	NC	402	1690	2800	102	3570	NC	NC	397	909	2120	57.5	7620	NC
	Week 8	NC	738	1880	4960	127	13200	NC	NC	703	1380	5230	117	10500	NC
	Week 13	NC	323	2520	4000	113	9230	NC	NC	484	1830	3580	76.9	4850	NC
AUC(0-t) (pg.h/mL)[e]	Day 1	NC	100	472	1440	2980	NC	3860	NC	265	1050	2770	2120	NC	2710
GW685698 Week 4		NC	475	1590	2650	1900	NC	2830	NC	426	1410	2610	2000	NC	2410
	Week 8	NC	416	1260	2460	3010	NC	2200	NC	291	1070	3530	2130	NC	1980
	Week 13	NC	395	2220	3480	3590	NC	2330	NC	456	1850	2830	2570	NC	1670
Cmax (pg/mL)[e]	Day 1	NC	44.7	149	296	437	NC	723	NC	124	287	729	300	NC	435
GW685698	Week 4	NC	175	423	768	238	NC	483	NC	175	460	804	352	NC	483
	Week 8	NC	97.3	321	627	358	NC	406	NC	133	323	918	316	NC	406
	Week 13	NC	133	646	1000	559	NC	425	NC	86.4	673	852	393	NC	383

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Noteworthy Findings															
ECG Heart rate[c] (bpm)															
	Pretest	109	87	88	90	104	84	96	117	87	98	99	112	111	94
	Week 12 pre	88	94	86	93	82	135	74	90	86	96	92	96	118	89
	Week 12 post	87	92	85	104	77	126	82	85	81	94	96	96	130	87
Femoral Pulse Rate[c] (bpm)															
Week 4	Predose	87	73	95	87	84	99	68	90	87	90	80	91	101	83
	IAD	83	81	91	91	79	102	81	95	83	83	99	82	117	74
	0.5 hour	87	76	75	90	79	121	68	83	72	85	87	81	117	71
	1.0 hour	90	81	75	96	79	104	69	95	78	86	90	77	117	69
	2.0 hour	86	85	86	94	85	111	66	88	76	83	89	77	112	77
	4.0 hour	93	88	86	104	89	127	81	83	87	96	105	95	104	92
	8.0 hour	93	91	102	95	93	124	84	93	82	88	88	78	107	80
	23 hour 50 min	90	95	85	104	77	107	85	100	90	90	97	85	107	69
Week 13	Predose	87	75	82	85	97	86	80	80	94	97	78	80	93	81
	IAD	98	83	84	87	93	97	77	102	82	90	116	83	107	69
	0.5 hour	79	91	83	97	77	100	68	97	85	81	98	82	106	70
	1.0 hour	80	81	79	87	74	97	80	90	76	90	91	86	100	80
	2.0 hour	82	87	104	94	78	96	88	103	78	99	87	93	90	82
	4.0 hour	103	97	98	92	82	97	93	99	86	96	102	97	94	104
	8.0 hour	82	88	87	95	91	116	79	112	102	106	108	94	108	97
	23 hour 50 min	81	84	105	116	98	92	77	101	87	90	97	73	103	90
Schirmer tear test (mm/minute)															
Pretest (mean score both eyes)		19	17	14	19	19	18	18	16	13	16	17	19	16	16
Day 5 (mean score both eyes)		18	17	15	12	19	11	20	15	15	16	13	16	6	14
Day 23 (mean score both eyes)		13	15	13	12	15	7	17	14	8	12	13	19	2	15
Day 86 (mean score both eyes)		20	18	18	17	18	10	18	18	10	14	14	18	6	17

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Cortrosyn Challenge–Cortisol[c] (µg/dL)															
	Week 4 predose	2.5	1.2	1.0	1.0	1.0	1.8	1.0	1.5	1.4	1.0	1.0	1.0	1.7	1.0
	Week 4 post dose	16.7	8.8	1.1	1.0	1.2	15.3	1.0	15.7	10.5	1.9	1.1	1.0	13.6	1.2
	Week 8 predose	1.8	1.3	1.0	1.0	1.0	1.5	1.0	2.2	1.8	1.0	1.0	1.0	3.2	1.0
	Week 8 post dose	15.3	7.8	1.0	1.0	1.0	13.9	1.0	14.5	7.3	2.1	1.0	1.0	14.8	1.0
	Week 13 predose	3.2	1.1	1.0	1.0	1.0	1.4	1.0	2.0	1.2	1.0	1.0	1.0	1.9	1.0
	Week 13 post dose	18.0	7.0	1.0	1.1	1.0	17.2	1.0	16.7	8.2	1.1	1.0	1.0	14.0	1.0
Hematology[c]															
Hemoglobin (g/L)	Pretest	157.5	152.5	156.0	154.3	156.5	152.3	146.5	147.0	147.5	147.0	143.3	155.8	154.5	153.5
	Week 4	147.3	144.5	152.8	142.8	138.8	146.3	144.0	146.8	135.3	138.8	127.0	137.8	146.0	127.5
	Week 13	147.8	147.3	163.3	151.5	157.5	155.0	148.0	147.0	146.3	148.5	153.8	145.3	145.3	156.3
Hematocrit (%)	Pretest	47.7	46.7	47.6	46.9	47.6	46.6	44.4	44.7	45.3	45.2	44.1	48.1	47.3	46.9
	Week 4	44.8	44.0	47.2	43.8	42.2	44.5	44.1	44.6	41.1	42.5	39.1	42.8	45.4	39.5
	Week 13	42.4	42.8	47.2	43.8	45.3	45.0	42.4	42.4	43.0	43.3	44.4	42.7	42.4	45.7
Red blood cells ($x10^{12}$/L)	Pretest	6.91	6.73	6.86	6.83	6.73	6.72	6.37	6.41	6.36	6.46	6.51	6.99	6.86	6.83
	Week 4	6.50	6.30	6.70	6.31	5.92	6.38	6.28	6.47	5.79	6.04	5.70	6.09	6.49	5.68
	Week 13	6.37	6.41	6.95	6.48	6.45	6.68	6.24	6.39	6.27	6.44	6.80	6.26	6.37	6.75
Platelet ($x10^9$/L)	Pretest	273	253	299	276	279	292	264	248	293	308	337	292	262	335
	Week 4	274	277	350	327	347	279	317	280	300	326	472	346	290	387
	Week 13	249	230	268	294	327	232	297	286	291	289	381	346	282	359
Lymphocyte ($x10^9$/L)	Pretest	3.26	2.60	2.69	2.63	2.74	2.44	2.59	3.00	2.28	3.02	3.21	2.68	2.59	2.32
	Week 4	3.14	2.39	1.62	1.72	2.12	2.32	1.42	3.01	2.13	2.00	2.31	1.87	2.53	1.72
	Week 13	2.97	2.36	1.90	1.73	1.81	2.40	1.57	2.98	1.82	1.93	1.74	1.52	2.65	1.46
Eosinophil ($x10^9$/L)	Pretest	0.50	0.28	0.98	0.79	0.67	0.88	0.52	0.41	0.47	0.74	0.88	0.43	0.51	0.64
	Week 4	0.33	0.25	0.18	0.06	0.10	0.71	0.04	0.44	0.44	0.16	0.08	0.10	0.46	0.09
	Week 13	0.36	0.21	0.11	0.05	0.05	0.70	0.05	0.36	0.23	0.10	0.05	0.03	0.51	0.14
Reticulocytes ($x10^9$/L)	Pretest	30.2	36.5	33.1	30.0	26.2	24.3	21.7	39.3	41.0	41.3	34.2	37.0	31.6	27.2
	Week 4	36.6	37.8	29.8	35.7	39.1	30.1	31.5	54.0	28.6	24.7	39.2	43.2	28.6	29.3
	Week 13	53.3	19.7	16.0	17.1	19.0	27.9	21.4	36.0	26.7	17.7	26.7	31.7	19.2	26.7
Coagulation[c]															
Prothrombin Time (seconds)	Pretest	6.7	6.8	6.8	6.7	7.1	6.9	6.8	6.7	6.7	7.2	6.8	6.9	6.8	7.0
	Week 4	6.9	7.0	6.6	6.5	6.5	6.6	6.6	6.8	6.8	6.6	6.5	6.3	6.8	6.5
	Week 13	6.9	6.7	6.2	6.2	6.3	6.6	6.5	6.6	6.8	6.6	6.4	6.2	6.7	6.6

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Clinical Chemistry[c]															
BUN (mmol/L)	Pretest	5.18	6.07	4.73	5.45	5.71	4.82	5.18	4.73	5.71	4.64	4.73	5.12	4.38	5.71
	Week 4	4.64	6.07	6.07	6.70	7.59	5.18	5.27	5.53	5.71	5.27	5.71	6.78	5.18	4.64
	Week 13	5.18	6.07	6.43	6.96	6.43	5.36	4.73	5.53	5.98	5.89	6.25	5.00	6.70	4.82
Creatinine (µmol/L)	Pretest	46.4	50.8	48.6	50.8	46.4	42.0	44.2	50.8	48.6	46.4	42.0	44.2	44.2	48.6
	Week 4	46.4	48.6	37.6	37.6	37.6	44.2	28.7	48.6	39.8	33.2	28.7	33.2	46.4	31.0
	Week 13	46.4	48.6	42.0	33.2	31.0	46.4	31.0	46.4	39.8	31.0	26.5	26.5	50.8	28.8
Cholesterol (mmol/L)	Pretest	3.98	3.81	3.69	3.50	3.89	3.55	3.34	4.13	3.49	3.96	4.21	3.56	4.44	3.99
	Week 4	4.11	4.24	4.40	4.38	5.05	3.55	4.59	4.35	4.44	5.34	6.06	5.76	4.13	6.99
	Week 13	4.13	4.55	5.16	5.80	6.60	3.73	5.29	4.29	4.63	5.99	6.22	6.36	5.02	7.31
Triglyceride (mmol/L)	Pretest	0.51	0.52	0.48	0.48	0.52	0.58	0.52	0.56	0.57	0.63	0.55	0.57	0.56	0.69
	Week 4	0.42	0.43	0.74	0.69	1.05	0.48	0.80	0.36	0.58	0.69	0.69	0.69	0.60	0.93
	Week 13	0.50	0.48	0.64	0.94	0.81	0.47	0.80	0.41	0.39	0.68	1.01	0.92	0.55	0.87
Albumin (g/L)	Pretest	31.0	31.8	32.5	33.0	31.8	30.8	30.8	30.5	31.0	31.8	32.0	32.3	32.3	31.8
	Week 4	30.0	29.8	33.5	34.5	33.3	29.5	32.0	29.5	29.0	32.5	32.3	33.0	29.8	31.3
	Week 13	29.3	30.3	33.0	36.0	34.8	30.3	32.8	29.8	29.8	32.5	35.0	32.8	30.3	32.0
Sodium (mmol/L)	Pretest	146	147	149	147	147	147	147	147	147	147	147	148	147	147
	Week 4	147	147	147	148	148	148	147	147	146	147	147	148	146	147
	Week 13	146	147	148	150	148	148	148	147	147	148	151	149	147	149
Potassium (mmol/L)	Pretest	4.5	4.5	4.5	4.5	4.6	4.6	4.5	4.6	4.4	4.5	4.7	4.5	4.4	4.5
	Week 4	4.4	4.8	4.9	4.7	5.0	4.4	4.5	4.3	4.5	4.7	5.0	4.8	4.6	4.7
	Week 13	4.7	4.8	5.0	4.9	5.0	4.7	4.5	4.6	4.5	5.0	4.5	4.7	4.7	4.6
Phosphorus (mmol/L)	Pretest	1.51	1.46	1.42	1.49	1.65	1.68	1.54	1.54	1.44	1.38	1.33	1.40	1.28	1.45
	Week 4	1.28	1.53	1.56	1.86	1.71	1.59	1.53	1.36	1.44	1.55	1.62	1.83	1.31	1.61
	Week 13	1.30	1.49	1.71	1.88	1.82	1.60	1.54	1.37	1.50	1.48	1.60	1.76	1.42	1.62

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Urinalysis[c]															
Volume (mL)	Pretest	169	56	76	123	103	195	174	74	65	95	94	98	150	78
	Week 4	195	124	155	242	90	122	211	114	99	161	146	171	100	119
	Week 13	191	77	94	181	70	66	237	47	86	146	127	126	74	170
Creatinine concentration (µmol/L)															
	Pretest	10292	11048	12955	10861	13774	9725.9	13587	9893.9	10039	11686	12018	15393	10753	11635
	Week 4	10530	13993	10144	7060.8	5785.8	9882.7	8811.0	9266.3	9719.2	6932.7	7189.1	7529.4	10544	7127.2
	Week 13	6685.2	11437	10599	8780.1	7058.7	16367	6283.0	7339.4	12455	7032.2	6873.1	7777.0	12332	4599.0
Creatinine output (µmol)	Pretest	1589.2	623.2	922.3	1341.6	1404.7	1861.4	1877.1	624.1	655.6	947.9	950.4	858.7	1190.7	688.3
	Week 4	2016.4	1597.7	1544.8	1481.0	520.9	1295.8	1315.9	1014.3	1016.6	1010.2	995.8	1105.1	1026.1	744.5
	Week 13	1160.1	866.5	917.0	1471.3	595.2	921.9	1241.2	398.4	1027.5	948.2	860.1	791.9	803.4	636.8
Protein concentration (mg/dL)															
	Pretest	23.5	29.6	38.6	25.9	40.1	23.6	46.8	12.5	12.1	14.8	18.9	17.9	13.1	15.7
	Week 4	24.2	30.0	22.6	17.3	17.9	27.4	20.5	10.9	14.1	10.7	12.6	11.8	14.3	21.1
	Week 13	15.2	25.7	26.8	18.3	23.4	35.3	16.9	12.2	27.0	14.0	16.5	16.5	19.0	11.7
Protein output (mg)	Pretest	36.7	17.3	24.5	43.3	33.1	46.2	64.8	7.6	8.1	12.3	15.8	9.6	14.8	9.1
	Week 4	45.8	35.8	32.7	35.4	12.7	35.5	34.6	11.4	13.5	15.1	16.8	19.9	14.0	16.9
	Week 13	26.6	20.2	23.9	32.1	16.1	21.2	34.1	5.9	21.1	18.0	20.2	17.7	11.3	14.3
Organ Weights[d]															
Adrenal Gland	Absolute (g)	1.652	0.83	0.65	0.75	0.59	0.89	0.58	1.456	0.92	0.54	0.60	0.59	0.99	0.63
	% body	0.017	0.82	0.65	0.65	0.59	0.88	0.59	0.020	1.0	0.60	0.60	0.60	1.0	0.60
Thymus	Absolute (g)	10.628	0.63	0.84	0.79	0.75	0.75	0.67	7.732	0.65	0.54	0.52	0.68	0.93	0.45
	% body	0.111	0.59	0.84	0.65	0.71	0.72	0.61	0.107	0.70	0.59	0.51	0.69	0.87	0.43
Liver	Absolute (g)	304.735	1.04	1.28	1.76	1.72	0.96	1.53	239.279	1.01	1.09	1.37	1.56	0.90	1.34
	% body	3.078	1.07	1.29	1.56	1.63	1.00	1.48	3.297	1.10	1.17	1.34	1.57	0.90	1.29
Prostate	Absolute (g)	8.863	1.13	1.14	0.53	0.89	1.01	1.02	-	-	-	-	-	-	-
	% body	0.085	1.24	1.21	0.52	1.0	1.08	1.08	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Microscopic Examination															
(number of animals)		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Liver															
Hepatocyte rarefaction															
	Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
	Moderate	0	0	1	3	2	0	2	0	1	1	3	2	0	2
	Marked	0	0	0	1	2	0	1	0	0	2	0	2	0	0
Gall Bladder															
Increased Luminal Mucin															
	Minimal	0	3	2	0	1	0	2	1	1	3	2	1	1	0
	Slight	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	2	2	0	1
	Moderate	0	0	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Epithelial Vacuolation															
	Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	1	0	2	1	3	0	1	0	0	1	3	1	0	1
Adrenal Gland															
Atrophy, Zona Fasciculata															
	Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
	Moderate	0	1	3	3	2	0	2	0	1	2	2	1	0	1
	Marked	0	0	0	1	2	0	2	0	0	1	1	3	0	3
Thymus															
Involution/Atrophy															
	Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	Slight	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0
	Moderate	2	2	0	0	0	3	0	2	0	0	0	0	2	0
	Marked	0	2	4	1	1	0	2	0	4	3	1	1	0	1
	Severe	0	0	0	3	3	0	2	0	0	1	3	3	0	3

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Peyer's Patch															
Lymphoid depletion															
	Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Slight	0	1	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	Moderate	0	0	4	2	4	0	4	0	1	3	3	0	0	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	1
Tonsils															
Lymphoid depletion															
	Minimal	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Slight	0	0	3	3	1	0	4	0	1	1	4	4	0	4
	Moderate	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mesenteric Lymph Node															
Lymphoid depletion															
	Minimal	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1
	Slight	0	0	3	1	4	0	2	0	0	1	2	3	0	3
	Moderate	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Retropharyngeal Lymph Node															
Lymphoid depletion															
	Slight	0	0	2	1	4	0	3	0	1	3	3	2	0	2
	Moderate	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	1	2	0	1
Mandibular Lymph Node															
Lymphoid depletion															
	Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	3	2	0	4	0	0	0	4	1	0	2
Tracheobronchial Lymph Node															
Lymphoid depletion															
	Slight	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	1	0	2
	Moderate	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0
Skeletal Muscle															
Myofiber atrophy															
	Minimal	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.1. FF 及び UMEC のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF and UMEC

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male							Female						
	GSK573719	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0	0	19.2	52.7	156	8.97	155	0
	GW685698	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8	0	7.20	19.1	55.8	58.9	0	60.8
Group Number		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Prostate															
Acinar atrophy															
	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
	Slight	0	0	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
	Moderate	0	0	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
Sternal Bone Marrow															
Decreased hematopoietic cellularity															
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	0	2	3	0	2	0	1
	Moderate	0	0	1	1	3	0	2	0	0	1	2	2	0	0
	Marked	0	0	0	2	1	0	2	0	0	0	2	0	0	3
Skin															
Adnexal atrophy	Moderate	0	1	4	4	4	0	3	0	2	3	4	4	0	4

Key:

- : Not examined

NC = Not calculated due to plasma results being below the limit of quantification

IAD = Immediately after dosing

a = Doses expressed in terms of parent GSK573719 and GW685698 (Estimated Inhaled Dose - males and females combined)

b = Estimated values, calculated from dose-normalised data within each dose-group

c = Group means are presented.

d = For test article-treated groups, fold-change from control is shown.

e = Toxicokinetic values presented are dose normalised for the overall estimated achieved doses.

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験

Test Article: FF, UMEC and VI

Study Type: Repeat Dose Toxicity	Report Title: GW685698X, GW642444M and GSK573719A: Combination Toxicity Study by Inhalation Administration (Oropharyngeal Tube) to Dogs for 13 Weeks	Test Articles: GW685698X (parent compound), GW642444M (triphenyl acetate salt) and GSK573719A (bromide salt) Input Batch/Lot Nos.: GW685698X: R492501, GW642444M: R498255, GSK573719A: R504835
Species/Strain: Beagle dog Initial Age: 12 to 14 months	Duration of Dosing: 13 weeks Route/Frequency: Oropharyngeal tube inhalation, once daily (10 min/day)	GSK Reference No.: D30338G GSK Document Number: 2013N169979_00
Date of First Dose: 23 October 2012 (males) 24 October 2012 (females)	Vehicle: Lactose monohydrate (Batch/Lot Nos. 600918/121355298) with 1% w/w magnesium stearate (Batch/Lot Nos. C102592/111285236) Formulation: 4% (w/w) GW685698 with 0.93% (w/w) GW642444 and 5% (w/w) GSK573719 in vehicle (Groups 2 and 3); 4% (w/w) GW685698 in vehicle (Group 4); 0.93% (w/w) GW642444 in vehicle (Group 5); 5% (w/w) GSK573719 in vehicle (Group 6)	Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Tube aerosol concentration, particle size distribution; clinical observations, body weights, food consumption measurements, ophthalmoscopic observations, qualitative and quantitative electrocardiography, femoral pulse rates, Schirmer tear test measurements; hematology, coagulation, clinical chemistry, urinalysis results, serum cardiac troponin I assay; organ weights, and macroscopic and microscopic observations. Toxicokinetic evaluation was performed on samples collected on Days 1 and 6 (Group 6 females only) and in Weeks 4, 8 and 13.

Conclusion: Test article-related findings consistent with expected class effects of corticosteroids, long acting beta2 adrenergic receptor agonists (LABAs) or long acting muscarinic acetylcholine receptor antagonists (LAMAs) were noted. No major exacerbations of these findings were evident for GW685698, GW642444 or GSK573719 when administered in either high or low dose combinations at a ratio of 4:1:5. Combination administration of GW685698/GW642444/GSK573719 was associated with minimal exacerbation of a few non-adverse changes compared to when the test articles were given alone. These included increases in alkaline phosphatase, potassium, phosphorus and calcium concentrations and a marginal increase in the incidence/severity of lymphoid depletion in the tracheobronchial lymph node and tonsils. Minor non-adverse changes seen with combination administration but not with the test articles alone included increased neutrophil and platelet counts and decreased chloride concentration. There was no consistent difference in systemic exposure of GW685698, GW642444 or GSK573719 when administered in combination or alone. Systemic exposure in males was consistently higher than in females for GSK573719.

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Achieved Tube Aerosol Concentration[b] (µg/L)													
GW685698		0	5.9	13.4	14.5	0	0	0	5.9	13.4	14.5	0	0
GW642444		0	1.5	3.3	0	3.3	0	0	1.5	3.3	0	3.3	0
GSK573719		0	7.4	16.7	0	0	16.6	0	7.4	16.7	0	0	16.6
Mass Median Aerodynamic Diameter (µm),± GSD													
GW685698		-	2.5± 2.02	2.7± 2.05	2.9± 2.13	-	-	-	2.5± 2.02	2.7± 2.05	2.9± 2.13	-	-
GW642444		-	2.1± 1.66	2.3± 1.71	-	2.1± 2.25	-	-	2.1± 1.66	2.3± 1.71	-	2.1± 2.25	-
GSK573719		-	2.7± 1.89	2.9± 1.92	-	-	2.7± 1.98	-	2.7± 1.89	2.9± 1.92	-	-	2.7± 1.98
Numbers of Animals:		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
AUC(0-t) (pg.h/mL)	Day 1	NC	934	2710	2170	NC	NC	NC	756	1810	3530	NC	NC
GW685698	Week 4	NC	2910	5080	2670	NC	NC	NC	1370	2750	2530	NC	NC
	Week 8	NC	1560	3690	1840	NC	NC	NC	1590	2290	2270	NC	NC
	Week 13	NC	1320	2660	1570	NC	NC	NC	421	2170	1170	NC	NC
Cmax (pg/mL)	Day 1	NC	127	394	399	NC	NC	NC	252	309	485	NC	NC
GW685698	Week 4	NC	543	820	445	NC	NC	NC	293	571	524	NC	NC
	Week 8	NC	315	603	282	NC	NC	NC	279	394	393	NC	NC
	Week 13	NC	318	594	339	NC	NC	NC	109	540	209	NC	NC

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
AUC(0-t) (pg.h/mL)	Day 1	NC	2330	8400	NC	14800	NC	NC	1220	9480	NC	10700	NC
GW642444	Week 4	NC	5480	9530	NC	16900	NC	NC	5340	15100	NC	7720	NC
	Week 8	NC	3860	10200	NC	13900	NC	NC	7700	13200	NC	9920	NC
	Week 13	NC	5290	8800	NC	24700	NC	NC	2590	9960	NC	8330	NC
Cmax (pg/mL)	Day 1	NC	3160	9780	NC	9130	NC	NC	1470	8840	NC	8980	NC
GW642444	Week 4	NC	5310	11900	NC	9480	NC	NC	4380	10500	NC	7070	NC
	Week 8	NC	3590	9760	NC	6530	NC	NC	6090	9250	NC	7440	NC
	Week 13	NC	4810	7110	NC	12500	NC	NC	1510	6280	NC	5130	NC
AUC(0-t) (pg.h/mL)	Day 1	NC	NC	1260	NC	NC	2140	NC	NC	549	NC	NC	NC[e]
GSK573719	Week 4	NC	1050	4440	NC	NC	3330	NC	211	1300	NC	NC	860
	Week 8	NC	664	4040	NC	NC	3850	NC	633	1370	NC	NC	652
	Week 13	NC	NC	3700	NC	NC	2500	NC	NC	844	NC	NC	477
Cmax (pg/mL)	Day 1	NC	977	2930	NC	NC	4520	NC	183	1800	NC	NC	744
GSK573719	Week 4	NC	1110	2620	NC	NC	3740	NC	579	1230	NC	NC	1570
	Week 8	NC	748	2890	NC	NC	2510	NC	944	1370	NC	NC	1370
	Week 13	NC	509	1360	NC	NC	1640	NC	212	1000	NC	NC	1460
Noteworthy Findings													
Schirmer tear test (mm/minute; mean score of both eyes)													
Pretest		18	19	18	19	17	18	11	18	15	15	15	17
Day 5		20	18	15	19	17	11	15	16	13	15	15	10
Day 23		18	16	14	17	19	13	15	14	19	14	15	11
Day 86		21	22	17	20	19	17	16	17	14	17	18	13
ECG Heart rate[c] (bpm)													
Pretest		99	91	83	84	99	90	91	109	68	103	106	106
Week 13 pre-dose		85	86	85	71	80	113	110	87	95	80	85	108
Week 13 1-hr post-dose		104	91	90	64	96	105	113	100	94	83	115	106

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Femoral Pulse Rate[c] (bpm)													
Day 1	Predose	78	76	80	79	82	83	93	94	96	96	101	87
	IAD	93	112	128	84	128	82	96	108	107	113	105	92
	0.5 hr	90	95	117	75	111	74	84	105	92	92	91	79
	1.0 hr	87	77	104	77	106	67	86	87	96	95	99	80
	2.0 hr	84	87	120	71	113	78	95	89	88	111	109	74
	4.0 hr	78	91	102	77	104	77	89	97	95	93	95	101
	8.0 hr	90	93	106	82	80	93	91	95	89	93	81	84
	23 hr 50 min	78	78	76	74	80	84	91	93	87	82	86	85
Week 4	Predose	71	73	76	71	78	76	92	112	104	90	95	90
	IAD	87	90	104	65	101	88	84	124	111	77	85	96
	0.5 hr	85	89	113	65	97	88	83	96	104	75	87	86
	1.0 hr	87	86	99	61	92	92	81	94	96	81	83	78
	2.0 hr	74	86	99	68	82	90	81	84	99	73	96	84
	4.0 hr	77	93	104	79	84	105	87	95	111	93	94	109
	8.0 hr	86	91	104	79	82	104	103	88	93	91	87	102
	23 hr 50 min	101	79	79	86	84	85	105	90	97	100	92	96
Week 13	Predose	69	85	89	74	75	94	109	85	84	89	89	80
	IAD	85	96	105	92	95	82	87	103	106	88	85	101
	0.5 hr	86	90	109	88	90	91	91	88	104	101	87	97
	1.0 hr	88	97	111	78	83	85	96	111	104	102	90	107
	2.0 hr	82	94	89	83	78	76	103	105	96	106	86	100
	4.0 hr	91	98	93	92	84	103	106	89	109	98	80	93
	8.0 hr	88	88	100	84	94	102	108	89	101	90	93	96
	23 hr 50 min	87	76	90	78	91	89	87	76	90	88	79	86

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Hematology[c]													
Hemoglobin (g/L)	Pretest 1	161.0	142.5	144.8	146.3	150.8	153.8	144.3	143.5	141.5	145.5	144.5	156.5
	Pretest 2	154.0	157.8	154.8	153.8	150.8	153.0	145.0	146.8	146.5	149.0	148.0	147.8
	Week 4	146.8	150.5	138.8	144.3	136.3	147.0	148.5	139.3	143.7	141.3	145.0	139.3
	Week 12	153.5	157.5	151.3	154.0	139.5	146.8	156.5	162.5	161.3	163.3	142.5	138.3
Hematocrit (%)	Pretest 1	49.5	43.2	43.5	44.0	45.7	46.3	43.9	44.1	42.9	44.2	43.9	48.8
	Pretest 2	46.3	47.6	46.8	46.2	45.6	45.7	43.9	45.2	44.6	45.1	44.8	45.0
	Week 4	42.2	42.8	40.5	41.5	39.1	42.7	42.5	40.5	42.2	40.9	42.3	40.4
	Week 12	43.2	44.3	43.1	44.1	39.5	41.8	43.7	46.0	45.0	47.1	41.1	39.7
Red blood cells ($x10^{12}$/L)	Pretest 1	6.99	6.32	6.39	6.24	6.70	6.58	6.36	6.34	6.20	6.52	6.36	7.16
	Pretest 2	6.65	6.94	6.89	6.55	6.71	6.53	6.42	6.47	6.39	6.67	6.53	6.66
	Week 4	6.28	6.51	6.16	6.04	6.00	6.34	6.40	6.05	6.14	6.20	6.38	6.26
	Week 12	6.48	6.73	6.45	6.32	6.04	6.24	6.65	7.04	6.70	7.03	6.18	6.11
Platelets ($x10^9$/L)	Pretest 1	316	260	285	303	304	316	300	336	351	303	289	381
	Pretest 2	277	250	296	270	253	268	306	314	357	293	290	364
	Week 4	275	281	331	289	243	258	306	340	387	342	249	323
	Week 12	239	281	375	320	271	260	291	269	354	336	289	320
Neutrophils ($x10^9$/L)	Pretest 1	5.69	5.17	4.62	4.83	5.24	5.96	4.77	5.55	5.46	5.07	7.08	7.44
	Pretest 2	5.09	5.13	5.34	4.81	3.90	6.16	5.18	5.96	5.44	4.45	5.13	5.85
	Week 4	6.18	6.09	9.23	6.47	5.70	5.86	6.60	6.92	8.04	5.77	5.85	5.64
	Week 12	6.12	6.16	10.57	6.41	5.44	7.07	5.76	6.28	7.96	6.64	6.98	5.94

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Lymphocytes ($x10^9$/L)	Pretest 1	2.15	2.26	2.54	2.36	2.14	2.21	2.20	2.36	2.10	2.41	2.84	2.88
	Pretest 2	2.55	2.75	2.86	2.53	2.11	2.31	2.31	2.72	2.13	2.33	2.81	2.49
	Week 4	2.55	1.65	2.13	1.83	2.98	2.54	2.45	1.98	1.69	1.90	3.26	2.90
	Week 12	2.43	1.43	1.97	1.91	2.61	2.56	2.70	1.84	1.40	1.45	3.67	3.26
Eosinophils ($x10^9$/L)	Pretest 1	0.62	0.48	0.54	0.50	0.28	0.62	0.33	0.47	0.35	0.35	0.42	0.51
	Pretest 2	0.74	0.75	0.71	0.58	0.31	0.64	0.41	0.56	0.37	0.41	0.52	0.68
	Week 4	0.88	0.19	0.05	0.07	0.73	0.84	0.54	0.26	0.04	0.08	0.69	0.86
	Week 12	0.85	0.06	0.06	0.09	0.52	0.87	0.57	0.12	0.05	0.04	0.66	1.03
Coagulation[c]													
Prothrombin times (sec.)	Pretest 1	7.2	7.1	6.8	6.7	6.7	6.6	6.8	7.0	6.7	6.8	7.0	6.7
	Pretest 2	7.3	7.3	7.1	7.1	7.0	6.9	7.0	7.0	6.8	6.8	7.0	6.8
	Week 4	7.3	6.9	6.5	6.3	6.8	6.7	7.0	6.7	6.6	6.6	7.1	6.9
	Week 13	7.1	6.9	6.4	6.5	6.7	6.7	6.9	6.8	6.6	6.6	7.1	6.8
Clinical Chemistry[c]													
Alkaline phosphatase (U/L)	Pretest 1	46	56	39	36	44	42	57	49	56	52	45	49
	Pretest 2	47	63	40	36	42	43	59	56	59	57	61	60
	Week 4	62	94	165	88	85	61	79	93	141	159	69	87
	Week 12	59	117	194	82	109	64	87	81	133	160	79	91
Cholesterol (mmol/L)	Pretest 1	3.68	3.65	3.46	3.32	3.84	3.73	3.76	3.93	3.81	3.67	4.20	3.90
	Pretest 2	3.78	3.92	3.63	3.40	3.78	3.87	3.83	3.93	4.08	4.00	4.52	4.03
	Week 4	4.32	5.13	4.94	4.86	3.89	4.32	4.15	4.83	5.66	5.56	4.67	4.96
	Week 12	4.28	5.87	6.38	5.88	4.31	4.61	4.46	5.37	6.07	6.83	5.42	5.58
Triglyceride (mmol/L)	Pretest 1	0.39	0.46	0.39	0.40	0.41	0.42	0.41	0.43	0.41	0.47	0.40	0.40
	Pretest 2	0.33	0.49	0.36	0.42	0.41	0.48	0.40	0.39	0.45	0.47	0.41	0.38
	Week 4	0.42	0.96	0.80	1.12	0.54	0.55	0.46	0.62	1.00	0.82	0.64	0.73
	Week 12	0.41	0.91	1.26	1.70	0.53	0.51	0.50	0.56	1.00	1.04	0.64	0.60
Creatinine (µmol/L)	Pretest 1	59.7	64.1	59.7	57.5	68.5	61.9	50.8	55.2	48.6	50.8	57.5	59.7
	Pretest 2	55.3	61.9	59.7	57.5	64.1	55.3	46.4	53.0	46.4	55.2	53.0	53.1
	Week 4	53.0	44.2	39.8	39.8	61.9	48.6	50.8	42.0	37.6	37.6	55.2	50.8
	Week 12	61.9	42.0	39.8	37.6	61.9	50.8	53.0	35.4	35.4	35.4	55.2	50.8

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Total protein (g/L)	Pretest 1	51.0	50.0	50.0	49.0	52.0	51.8	48.5	48.3	47.5	48.5	51.8	50.3
	Pretest 2	56.0	58.3	57.5	56.3	58.0	58.5	53.5	55.0	55.0	55.3	57.5	55.5
	Week 4	54.0	56.5	56.0	55.3	53.3	54.3	51.3	53.3	54.5	54.0	52.5	52.8
	Week 12	55.3	58.5	62.3	59.3	58.3	57.0	52.8	57.5	59.8	59.8	56.5	55.8
Albumin (g/L)	Pretest 1	31.0	31.0	30.8	30.0	30.8	31.8	30.5	31.0	29.3	30.5	30.5	31.8
	Pretest 2	30.8	31.8	32.0	31.0	31.3	32.8	30.0	31.5	30.8	31.3	31.5	31.5
	Week 4	30.8	33.8	34.0	32.8	30.3	31.5	30.8	32.0	33.0	32.5	30.5	31.0
	Week 12	31.0	33.3	36.8	34.8	31.8	32.0	30.5	33.3	36.0	34.5	31.3	30.8
BUN (mmol/L)	Pretest 1	5.09	4.82	4.37	4.64	4.28	4.64	4.64	4.47	5.80	5.54	4.82	4.82
	Pretest 2	5.48	4.55	4.55	5.00	5.00	4.55	4.28	4.73	5.62	6.61	4.73	4.38
	Week 4	5.53	5.98	6.87	5.00	5.45	6.25	4.64	6.25	7.32	5.18	5.63	6.78
	Week 12	5.71	6.52	6.52	5.45	6.52	5.98	4.91	5.27	5.45	6.43	6.88	5.72
Chloride (mmol/L)	Pretest 1	114	114	114	114	114	113	114	117	115	114	113	114
	Pretest 2	114	115	117	116	116	115	116	118	117	116	115	117
	Week 4	119	117	116	118	119	117	119	120	117	117	118	118
	Week 12	116	117	112	116	117	116	116	117	113	116	117	117
Potassium (mmol/L)	Pretest 1	4.4	4.4	4.5	4.6	4.6	4.6	4.5	4.3	4.3	4.3	4.6	4.4
	Pretest 2	4.5	4.6	4.5	4.5	4.5	4.4	4.4	4.4	4.6	4.4	4.4	4.4
	Week 4	4.4	4.9	5.0	4.7	4.6	4.6	4.2	4.8	5.0	4.7	4.6	4.6
	Week 12	4.6	4.8	5.0	5.0	4.5	4.9	4.4	4.9	5.0	4.6	4.9	4.5
Calcium (mmol/L)	Pretest 1	2.52	2.51	2.47	2.48	2.47	2.55	2.49	2.50	2.48	2.50	2.49	2.50
	Pretest 2	2.55	2.55	2.54	2.53	2.57	2.63	2.52	2.54	2.54	2.59	2.60	2.56
	Week 4	2.45	2.57	2.57	2.54	2.44	2.57	2.48	2.56	2.55	2.55	2.49	2.52
	Week 12	2.51	2.63	2.75	2.66	2.57	2.62	2.52	2.63	2.73	2.65	2.55	2.55
Phosphorus (mmol/L)	Pretest 1	1.40	1.36	1.35	1.36	1.30	1.29	1.38	1.40	1.37	1.34	1.21	1.25
	Pretest 2	1.38	1.41	1.31	1.37	1.34	1.33	1.40	1.42	1.45	1.40	1.37	1.36
	Week 4	1.48	1.72	1.83	1.66	1.51	1.75	1.40	1.59	1.70	1.50	1.42	1.62
	Week 12	1.43	1.58	1.81	1.68	1.36	1.52	1.34	1.31	1.64	1.79	1.51	1.37

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Organ Weights[d]													
Thymus	Absolute (g)	11.705	0.97	0.48	0.89	0.56	1.09	4.030	0.76	1.49	1.17	2.21	1.74
	% body	0.110	0.98	0.44	0.92	0.55	1.12	0.053	0.68	1.47	1.09	1.83	1.62
Liver	Absolute (g)	307.127	1.19	2.07	1.57	1.06	0.95	230.929	1.25	1.62	1.51	1.10	0.98
	% body	2.940	1.19	1.83	1.51	1.03	0.96	2.978	1.10	1.62	1.41	0.95	0.93
Adrenal gland	Absolute (g)	1.507	0.60	0.52	0.55	1.10	0.96	1.415	0.55	0.54	0.55	0.99	0.93
	% body	0.014	0.64	0.50	0.57	1.07	1.0	0.018	0.5	0.56	0.56	0.89	0.89
Microscopic Examination													
(number of animals)		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tonsils													
Lymphoid depletion	Minimal	0	2	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0
	Slight	0	1	1	3	0	0	0	2	2	2	0	0
	Moderate	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tracheobronchial lymph node													
Lymphoid depletion	Minimal	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Slight	0	1	3	2	0	0	0	0	4	2	0	0
	Moderate	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Peyer's patches													
Lymphoid depletion	Minimal	0	0	4	3	0	0	0	0	1	3	0	0
Mandibular lymph node													
Lymphoid depletion	Minima	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	1	1	0	1	0	2	3	1	0	0
	Moderate	0	4	3	1	0	0	0	2	1	3	0	0
Mesenteric lymph node													
Lymphoid depletion	Slight	1	0	0	2	0	0	0	2	1	0	0	1
	Moderate	0	4	4	2	0	0	0	1	3	4	0	0
Popliteal lymph node													
Lymphoid depletion	Slight	0	2	0	2	0	0	0	4	3	3	0	1
	Moderate	0	1	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Thymus													
Involution/Atrophy	Minimal	4	0	0	0	1	2	4	0	0	0	2	3
	Slight	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Marked	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Severe	0	4	4	4	0	0	0	4	4	4	0	0
Sternal bone marrow													
Decreased hematopoietic cellularity													
	Minimal	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	Slight	0	1	1	2	0	0	0	0	2	0	0	0
	Moderate	0	0	1	2	0	0	0	1	0	1	0	0
Liver													
Increased generalized hepatocyte rarefaction (glycogen)	Minimal	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
	Slight	0	2	1	1	0	1	0	3	1	1	0	0
	Moderate	0	0	3	1	0	0	0	0	3	2	0	0
	Marked	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Gall bladder													
Increased luminal mucin	Slight	0	2	1	1	1	1	0	1	2	2	0	0
	Moderate	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Marked	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Epithelium: Prominent vacuolation													
	Slight	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Adrenal glands													
Atrophy, Zona fasciculata	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Moderate	0	2	2	0	0	0	0	3	2	1	0	0
	Marked	0	2	2	4	0	0	0	1	2	2	0	0

2.6.7.7.2. FF、UMEC 及び VI のイヌ 13 週間吸入投与試験（続き）

Test Article: FF, UMEC and VI

Estimated Inhaled Dose[a] (µg/kg/day)		Male						Female					
GW685698		0	26	59	64	0	0	0	26	59	64	0	0
GW642444		0	6	15	0	14	0	0	6	15	0	14	0
GSK573719		0	32	73	0	0	73	0	32	73	0	0	73
Group Number		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Skin													
Adnexal atrophy	Moderate	0	4	4	4	0	0	0	4	2	4	0	0
Skeletal Muscle													
Atrophy, myofiber	Slight	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Esophagus													
Mucosal Erosion	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Key:
- = Not examined
IAD = Immediately after dosing
Estimated Inhaled Dose (D; µg/kg/day – males and females combined) was calculated as follows and assumes 100% deposition in the respiratory tract

D = (RMV x T x C)/(BW)
RMV Respired minute volume (L/min) 0.608 x $BW(kg)^{0.852}$
T Duration of exposure/day (minutes)
C Average achieved tube aerosol concentration (µg/L)
BW Group average bodyweight for study (kg)

a Expressed in terms of the parent compounds GW685698, GW642444, GSK573719.
b Estimated values, calculated from dose-normalized data within each dose-group
c Group means are presented.
d For test article-treated groups, fold-change from control is shown.
e Due to the low achieved inhaled dose on Day 1 for females in Group 6 given GSK573719 alone, additional toxicokinetic samples were collected on Day 6 from this group and gender; results from Day 6 samples are reported (Day 1 samples were not analyzed).

2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10. がん原性試験

該当なし

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

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

該当なし

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし

2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当なし

2.6.7.15. 新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16. 局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17. その他の試験

2.6.7.17.1. 抗原性試験

該当なし

2.6.7.17.2. 免疫毒性試験

該当なし

2.6.7.17.3. 毒性発現の機序に関する試験

該当なし

2.6.7.17.4. 依存性試験

該当なし

2.6.7.17.5. 代謝物の毒性試験

該当なし

2.6.7.17.6. 不純物の毒性試験

該当なし

2.6.7.17.7. その他の毒性試験

該当なし