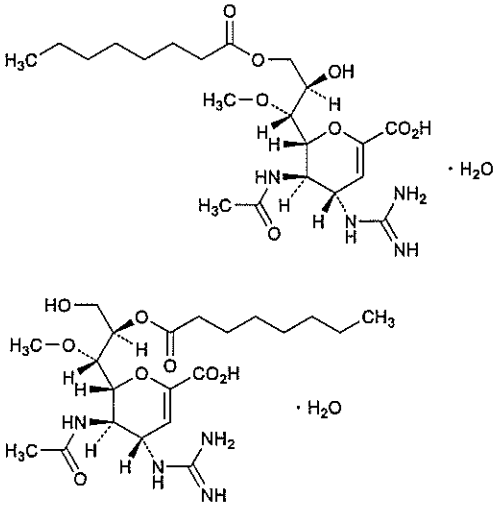
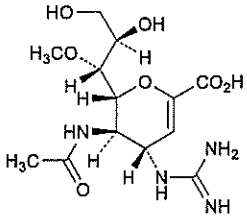
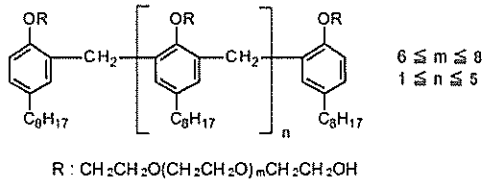
目次

1. まとめ 3
1.1 試験概要 3
1.2 反復投与毒性試験 3
1.3 その他の毒性試験 3
2. 単回投与毒性試験 4
3. 反復投与毒性試験 4
3.1 幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験 4
4. 遺伝毒性試験 5
5. がん原性試験 5
6. 生殖発生毒性試験 5
7. 局所刺激性試験 5
8. その他の毒性試験 5
8.1 新添加剤チロキサポールの毒性評価 5
8.1.1 チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験 6
8.1.2 チロキサポールの In Silico 変異原性評価 8
8.1.3 チロキサポールの生殖発生毒性評価 8
9. 考察及び結論 8
10. 図表 9
11. 参考文献一覧 9

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
AUClast	area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time	定量可能な最終時点までの血漿中濃度−時間曲線下面積
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
GLP	good laboratory practice	医薬品等の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

化合物一覧

名称	化学名	構造式
CS-8958（ラニナミビルオクタン酸エステル水和物、未変化体）	(2*R*,3*R*,4*S*)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1*R*,2*R*)-2-hydroxy-1-methoxy-3-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2*H*-pyran-6-carboxylic acid monohydrate (2*R*,3*R*,4*S*)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1*S*,2*R*)-3-hydroxy-1-methoxy-2-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2*H*-pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
R-125489（ラニナミビル、活性代謝物）	(2*R*,3*R*,4*S*)-3-Acetamido-2-[(1*R*,2*R*)-2,3-dihydroxy-1-methoxypropyl]-4-guanidino-3,4-dihydro-2*H*-pyran-6-carboxylic acid	
チロキサポール（新添加剤）	Oxyethylated tertiary octylphenol formaldehyde polymer	

1. まとめ

1.1 試験概要

毒性試験プログラムの概略を表 2.6.6.1-1 に示す。

CS-8958 の毒性試験として、幼若ラット（7 日齢）を用いた 4 週間反復吸入投与毒性試験を実施した。また、CS-8958 ネブライザ用吸入剤の添加剤として含まれるチロキサポールが新添加剤に該当するため、チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験並びに DEREK Nexus 及び CASE Ultra による in silico 変異原性評価を実施した。

ラットの毒性試験はいずれも GLP 適合試験として実施した。また、CS-8958 の投与量は無水物換算で表記した。

なお、チロキサポールの生殖発生毒性は、チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験及び文献情報により評価した。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

試験の種類	期間	投与経路	動物種	被験物質
反復投与毒性（GLP）	4 週間	吸入	ラット（幼若）	CS-8958[a]
その他の毒性試験				
新添加剤の毒性評価				
反復投与毒性（GLP）	3 ヵ月	吸入	ラット	チロキサポール
変異原性（非 GLP）		in silico	ネズミチフス菌及び大腸菌	チロキサポール

a: CS-8958 と [redacted]mg/mL のチロキサポールを含有する生理食塩液。[redacted]。

1.2 反復投与毒性試験

生理食塩液で懸濁した CS-8958（[redacted]mg/mL のチロキサポールを含有）を用いた幼若ラットの 4 週間反復吸入投与毒性試験では、一般状態の変化、投与に起因した死亡例は認められなかった。また、体重、摂餌量（離乳後）、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、病理解剖学的検査、及び病理組織学的検査でも投与に起因した毒性学的変化は認められず、無毒性量は投与可能最大量である 18.2 mg/kg／日と結論した。

1.3 その他の毒性試験

製剤の添加剤であるチロキサポールの毒性を評価した。

チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験では、一般状態の変化、投与に起因した死亡例は認められなかった。また、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液化学的検査、及び尿検査でも投与に起因した毒性学的変化は認められなかった。2.08 mg/kg／日以上の群の肺で肺胞内炎症細胞浸潤及び肺胞上皮の肥大、並びに鼻腔で嗅上皮の変性が認められた。以上より、無毒性量は 0.688 mg/kg／日と結論した。

DEREK Nexus 及び CASE Ultra による in silico 解析では、チロキサポールは非変異原性物質と判定された。

生殖発生毒性については、妊娠ラットの高曝露条件下で胎児致死が報告されており、チロ

キサポールのライソゾームへの作用が妊娠維持に影響したと考えられている。しかし、ラット 3 ヵ月間反復吸入毒性試験では、いずれの組織にもライソゾームへのチロキサポールの取り込みを示唆する所見が認められなかったことから、胎児への影響はないと考えられた。

2. 単回投与毒性試験

追加の試験は実施していない。

3. 反復投与毒性試験

3.1 幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-1

方法: 幼若ラット（RccHan:WIST、投与開始時 7 日齢、1 群雌雄各 10 例）に生理食塩液で懸濁した CS-8958（[redacted]mg/mL のチロキサポールを含有、[redacted]）を 1 日 1 回（1 時間）、投与可能な最大量を最高用量とする 39.1 μg/L、97.1 μg/L、及び 322 μg/L のエアロゾル濃度（CS-8958 として 2.21 mg/kg、5.55 mg/kg、及び 18.2 mg/kg）で 28 日間反復吸入投与した。対照群には、[redacted]mg/mL のチロキサポールを含有する生理食塩液のエアロゾルを吸入させた。投与期間中に一般状態の観察、体重測定、及び摂餌量測定（離乳後）を行い、投与期間終了時に血液学的検査、血液化学的検査、器官重量測定、病理解剖学的検査、及び病理組織学的検査を実施した。また、28 日間反復吸入後に 28 日間の回復期間を設定した休薬群（1 群雌雄各 5 例）を対照群と 18.2 mg/kg 群に設け、変化の回復性を検討した。さらに、血漿中薬物濃度測定群（1 群雌雄各 3 例／時点）を設け、CS-8958 を 28 日間反復吸入投与し、血漿中 CS-8958 及び R-125489 濃度を測定した。

結果: 表 2.6.6.3-1 に結果を示す。本試験及び回復性試験において、投与に起因した死亡例はなく、一般状態、摂餌量、血液学的検査、器官重量、病理解剖学的検査、及び病理組織学的検査に投与起因性の影響は認められなかった。CS-8958 投与群で投与期間中に有意な体重増加抑制が認められたが、軽微な変化であり、用量依存性もないことから、毒性学的意義はないと判断した。また、血液化学的検査において、CS-8958 投与群で無機リンの有意な増加を認めたが、その程度は小さく、病理学的な変化も認められなかったことから、毒性学的意義はないと判断した。また、CS-8958 及び活性代謝物 R-125489 の Cmax 及び AUClast は投与量に伴い増加し、性差は認められなかった。CS-8958 の Cmax 及び AUClast は投与 1 日目の方が投与 28 日目と比べて高かった。R-125489 の投与 1 日目と投与 28 日目の AUClast に差は認められなかった。

以上の結果から、本試験における CS-8958 の無毒性量は 18.2 mg/kg／日と結論した。この投与量における反復投与 28 日目の CS-8958 の Cmax 及び AUClast は、雄でそれぞれ 344 ng/mL 及び 861 ng· h/mL、雌でそれぞれ 301 ng/mL 及び 939 ng· h/mL であった。また、R-125489 については、雄で 130 ng/mL 及び 1430 ng· h/mL、雌で 166 ng/mL 及び 2030 ng· h/mL であった。

表 2.6.6.3-1　幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験成績

動物種 系統 日齢	投与量[a] (mg/kg)	投与期間 経路	性 例数	結　果
ラット RccHan:WIST 雌雄 7 日齢	・対照 ・2.21 ・5.55 ・18.2	28 日間吸入	雌雄 各 10	・投与後 死亡例: なし 無毒性量: 18.2 mg/kg／日（雌雄） 一般状態・摂餌量（離乳後）: 異常なし 体重: 毒性学的に有意な変化なし 血液学的検査: 異常なし 血液化学的検査: 毒性学的に有意な変化なし 病理解剖学的検査・器官重量: 異常なし 病理組織学的検査: 異常なし ・休薬後 一般状態・体重・摂餌量: 異常なし 血液化学的検査: 異常なし 病理解剖学的検査・器官重量: 異常なし
	・対照 ・18.2	28 日間吸入 ＋ 28 日間休薬	雌雄 各 5	
	・対照 ・2.21 ・5.55 ・18.2	28 日間吸入	(TK 群) 雌雄 各 3	TK パラメータ （18.2 mg/kg 群、数値は投与 1 日/28 日）: ・ Cmax (ng/mL); 雄 690/344、雌 447/301（CS-8958） 雄 140/130、雌 66.1/166（R-125489） ・ AUClast (ng·h/mL); 雄 5030/861、雌 4010/939（CS-8958） 雄 2290/1430、雌 1240/2030（R-125489）

a: エアロゾル中の濃度、曝露時間、分時換気量、及び体重から計算した毒性評価群の推定投与量。最高用量は投与可能な最大量。対照群には CS-8958 を含まない [redacted]mg/mL のチロキサポールを含有する生理食塩液を吸入させた。TK 群の推定投与量は投与 1 日が 2.21 mg/kg、5.68 mg/kg、19.8 mg/kg、投与 28 日が 2.61 mg/kg、5.63 mg/kg、19.3 mg/kg。

4.　遺伝毒性試験

追加の試験は実施していない。

5.　がん原性試験

該当する試験は実施していない。

6.　生殖発生毒性試験

追加の試験は実施していない。

7.　局所刺激性試験

追加の試験は実施していない。

8.　その他の毒性試験

8.1　新添加剤チロキサポールの毒性評価

チロキサポールは、CS-8958 ネブライザ用吸入剤に [redacted]%含まれる添加剤であり、呼吸器

官用吸入剤の溶解剤として臨床で使用されているアレベール®吸入用溶解液 0.125%の濃度を上回ることから、新添加剤に該当する。CS-8958 の幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験で、[redacted]%チロキサポール生理食塩液を 1 日 1 時間吸入投与した対照群の毒性を評価した結果、チロキサポールに起因する毒性は認められなかった（3.1 参照）。より高濃度で長期間投与した際の安全性を確認するため、チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験を実施した。遺伝毒性に関しては、in silico 解析による変異原性評価を行った。生殖発生毒性は、チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験及び文献情報により評価した。

8.1.1　チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.7.7-1

方法: ラット（RccHan：WIST、投与開始時 8～9 週齢、1 群雌雄各 10 例）に 1 日 1 回（1 時間）、2.5、7.5、及び 25 mg/mL（[redacted]の[redacted]、[redacted]、及び[redacted]の濃度）のチロキサポール含有生理食塩液を用い、15.6 μg/L、46.9 μg/L、及び 148 μg/L のエアロゾル濃度（チロキサポールとして 0.688 mg/kg、2.08 mg/kg、及び 6.56 mg/kg）で 3 ヵ月間反復吸入投与した。対照群には、生理食塩液のエアロゾルを吸入させた。投与期間中に一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、並びに眼科学的検査を行い、投与期間終了時に血液学的検査、血液化学的検査、尿検査、器官重量測定、病理解剖学的検査、及び病理組織学的検査を実施した。また、3 ヵ月間反復吸入後に 28 日間の回復期間を設定した休薬群（1 群雌雄各 5 例）を対照群、2.08 mg/kg 群、及び 6.56 mg/kg 群に設け、変化の回復性を検討した。

結果: 表 2.6.6.8-1 に結果を示す。本試験及び回復性試験では、投与に起因した死亡例はなく、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液化学的検査、及び尿検査に投与起因性の影響は認められなかった。投与期間終了時の血液学的検査で、好中球数の増加が 2.08 mg/kg 以上の群、単球数の増加が 6.56 mg/kg 群で認められた。器官重量測定で、肺（気管支を含む）の相対重量増加が 2.08 mg/kg 以上の群で認められた。病理解剖学的検査で、肺の退色部位の頻度増加及び気管気管支リンパ節／縦隔リンパ節の腫大が 2.08 mg/kg 以上の群で認められた。病理組織学的検査で、肺の肺胞内びまん性炎症細胞浸潤及び肺胞上皮の肥大が 2.08 mg/kg 以上の群で、肺胞内好酸性物質が 6.56 mg/kg 群で認められた。鼻腔では嗅上皮変性が 2.08 mg/kg 以上の群で認められた。なお、肺の泡沫化肺胞マクロファージの増加、鼻腔の呼吸及び嗅上皮における好酸性小滴、並びに鼻咽頭の粘液細胞の増加が 2.08 mg/kg 以上の群、肺の血管周囲性炎症細胞浸潤の頻度／程度の増加、並びに気管気管支リンパ節／縦隔リンパ節の旁皮質における細胞密度増加が 6.56 mg/kg 群で認められたが、粒子状物質の吸入投与に伴う非特異的な適応性変化又は肺の炎症性変化等に付随した二次的変化と考えられた。

回復期間終了後、血液学的検査で好中球数の増加が 2.08 mg/kg 以上の群で認められた。肺（気管支を含む）の相対重量増加が 6.56 mg/kg 群で認められた。病理解剖学的検査で、肺の退色部位の頻度増加が 2.08 mg/kg 以上の群、気管気管支リンパ節／縦隔リンパ節の腫大が 6.56 mg/kg 群で認められた。病理組織学的検査で、肺では投与期間終了後に認められた上記

変化のいずれもが、2.08 mg/kg 以上の群で認められた。鼻腔の呼吸／嗅上皮における好酸性小滴が 2.08 mg/kg 以上の群で、並びに鼻咽頭の粘液細胞の増加及び気管気管支リンパ節／縦隔リンパ節の腫大が 6.56 mg/kg 群で認められた。

以上の結果から、本試験におけるチロキサポールの無毒性量は 0.688 mg/kg／日と結論した。28 日間の回復期間終了後、肺における炎症性変化を主体とした毒性所見は回復性を示さなかったが、鼻腔の嗅上皮変性は回復性を示した。

表 2.6.6.8-1　チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験成績

動物種 系統 週齢	投与量[a] (mg/kg)	投与期間 経路	性 例数	結　果
ラット RccHan:WIST 雌雄 8～9 週齢	・対照 ・0.688 ・2.08 ・6.56	3 ヵ月間 吸入	雌雄 各 10	**・投与後** 死亡例: なし 無毒性量: 0.688 mg/kg／日 一般状態・体重・摂餌量: 異常なし 眼科学的検査: 異常なし 血液学的検査 好中球数増加: ≥ 2.08 mg/kg 単球数増加: 6.56 mg/kg 血液化学的検査: 異常なし 尿検査: 異常なし 器官重量 肺（気管支含む）相対重量増加: ≥ 2.08 mg/kg 病理解剖学的検査 肺の退色: ≥ 2.08 mg/kg 気管気管支リンパ節／縦隔リンパ節の腫大: ≥ 2.08 mg/kg 病理組織学的検査 肺の肺胞内びまん性炎症細胞浸潤、肺胞上皮の肥大、鼻腔の嗅上皮変性: ≥ 2.08 mg/kg 肺の肺胞内好酸性物質: 6.56 mg/kg **・休薬後** 肺の上記所見に回復性なし 鼻腔の嗅上皮変性は完全に回復
	・対照 ・2.08 ・6.56	3 ヵ月間 吸入 ＋ 28 日間 休薬	雌雄 各 5	

a: エアロゾル中の濃度、曝露時間、分時換気量、及び体重から計算した毒性評価群の推定投与量。対照群には生理食塩液を吸入させた。

8.1.2　チロキサポールの In Silico 変異原性評価

添付資料番号：4.2.3.7.7-2

方法: DEREK Nexus 及び CASE Ultra を用い、チロキサポールのネズミチフス菌及び大腸菌における変異原性を in silico 解析で評価した。

結果: DEREK Nexus では変異原性アラートは示されなかった。CASE Ultra では、不確かな変異原性アラートが示されたが、アラート構造のレビューによりアラートは棄却された。以上の結果から、チロキサポールは非変異原性物質と判定された。

8.1.3　チロキサポールの生殖発生毒性評価

妊娠ラットに 200 mg/mL/rat のチロキサポールを静脈内投与した結果、胎児致死が報告されており、卵黄嚢、胎盤、及び吸収胎児全身組織におけるライソゾームへのチロキサポールの取り込みが妊娠維持に影響したと考えられている[1]。また、ラットに 170 mg/mL/rat のチロキサポールを静脈内投与した結果、肝細胞及び Kupffer 細胞のライソゾームへの取り込みも報告されている[2]。しかし、チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験では、呼吸器における病理組織学的変化が主であり、最高用量の 2.5%（6.56 mg/kg = 1.64 mg/rat: ラットの体重を 250 g として算出）までライソゾームへのチロキサポールの取り込みを示唆する細胞質内の空胞はいずれの組織にも認められなかった。ラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験の最高用量と比較すると、CS-8958 [redacted]チロキサポールの用量は[redacted]であることから、臨床で使用されているアレベール吸入用溶解液の濃度の 0.125%から [redacted]に上げることの影響は小さく、胎児への影響はないと考えられた。

9.　考察及び結論

CS-8958 の毒性評価として、反復投与毒性試験（幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験）を実施した。反復投与毒性試験において、CS-8958 に起因する毒性学的変化は認められなかった。

CS-8958 ネブライザ用吸入剤中の新添加剤であるチロキサポールの毒性評価として、ラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験並びに DEREK Nexus 及び CASE Ultra による in silico 変異原性評価を実施した。生殖発生毒性は上記のラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験及び文献情報により評価した。ラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験では、毒性所見として 2.08 mg/kg 以上の群の肺で肺胞内びまん性炎症細胞浸潤を主体とした変化及び鼻腔の嗅上皮変性が認められた。しかし、これらはチロキサポールの投与経路である呼吸器に限定した変化であり、最高用量である 6.56 mg/kg まで全身性の変化は認められなかった。また、[redacted]チロキサポール 2.5 mg/mL 含有生理食塩液を用いた 0.688 mg/kg 群では毒性変化は認められなかった。変異原性評価では、チロキサポールは非変異原性物質と判定した。生殖発生毒性評価では、高曝露条件下で胎児致死が報告されており、チロキサポールのライソゾームへの作用が妊娠維持に影響したと考えられているが、ライソゾームへの取り込みを示唆する所見がラット 3 ヵ月間反復吸入毒性試験で認められなかった

ことから、胎児への影響はないと考えられた。

以上のことから、CS-8958 の単回吸入投与により、小児に重篤な副作用が生じる可能性は低いと推測された。また、本剤に含まれるチロキサポールによる安全性への影響も小さいと考えられた。

10. 図表

本文中の該当箇所に挿入した。

11. 参考文献一覧

1. Schultz RL, Schultz PW. Morphological and histochemical changes in the rat conceptus following administration of a non-ionic detergent. Proc Soc Exp Biol Med. 1966;122(3):874-7.
2. Wattiaux R, Wibo M, Baudhuin P. Influence of the injection of Triton WR-1339 on the properties of rat-liver lysosomes. In: Ciba Foundation Symposium on Lysosomes. A V S de Reuck and M P Cameron, editors. J. & A. Churchill, Ltd. London. 1963. p. 176-96.

目次

1. 毒性試験: 一覧表 2
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 3
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 4
4. 毒性試験: 被験物質（バッチ毎）一覧 6
5. 単回投与毒性試験 7
6. 反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験 8
7. 反復投与毒性試験: 重要な試験 9
7.1 反復投与毒性試験: 幼若ラット 4 週間（1/4） 9
8. In Vitro 遺伝毒性試験 13
9. In Vivo 遺伝毒性試験 14
10. がん原性試験 15
11. 生殖発生毒性試験: 重要な試験以外の試験 16
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 17
13. 生殖発生毒性試験: 胚・胎児発生に関する試験 18
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 19
15. 新生児を用いた試験 20
16. 局所刺激性試験 21
17. その他の毒性試験 22
17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（1/5） 22
17.2 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールの in silico 変異原性評価 27

1. 毒性試験: 一覧表

試験の種類	動物種／系統（品種）	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）[a]	GLP 適合	実施施設	資料番号	記載箇所
反復投与毒性試験	ラット／RccHan:WIST	吸入	4 週間	0, 2.21, 5.55, 18.2	適	[redacted]	4.2.3.2-1	4.2.3.2
その他の毒性試験（添加物の毒性評価）								
チロキサポールの反復投与毒性試験	ラット／RccHan:WIST	吸入	3 ヵ月間	チロキサポール 0, 0.688, 2.08, 6.56	適	[redacted]	4.2.3.7.7-1	4.2.3.7.7
チロキサポールの変異原性評価	ネズミチフス菌及び大腸菌	in silico	−	−	不適	第一三共（株）	4.2.3.7.7-2	4.2.3.7.7

a: 特に記載のない場合は CS-8958 としての投与量（エアロゾル中の濃度、曝露時間、分時換気量、及び体重から計算した推定投与量）を示す。下線を施した投与量は無毒性量を示す。

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

試験の種類	動物種／系統（品種）	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）[a]	GLP 適合	実施施設	資料番号	記載箇所
反復投与毒性試験	ラット／RccHan:WIST	吸入	4 週間	0, 2.21, 5.55, 18.2[b]	適	[redacted]	4.2.3.2-1	4.2.3.2

a: CS-8958 としての推定投与量を示す。
b: 別途 TK 評価群を設定した。TK 群の推定投与量（mg/kg）は、各群 0, 2.21, 5.68, 19.8（投与 1 日）、0, 2.61, 5.63, 19.3（投与 28 日）

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

トキシコキネティクス: CS-8958

AUClast（ng･h/mL）　　測定対象: CS-8958

1 日投与量 (mg/kg／日)	ラット		イヌ		ウサギ		ヒト	資料番号	記載箇所
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	男性		
2.67[a]、投与 1 日							475	5.3.3.1-1[b]	5.3.3.1
18.2、投与 1 日	5030	4010						4.2.3.2-1	4.2.3.2
18.2、投与 28 日	861	939							

空欄: 該当データなし
a: CS-8958 160 mg 投与を体重 60 kg として換算
b: 健康成人男性（日本人）を対象とした臨床試験（治験実施計画書番号: CS8958-B-J109）

Cmax（ng/mL）　　測定対象: CS-8958

1 日投与量 (mg/kg／日)	ラット		イヌ		ウサギ		ヒト	資料番号	記載箇所
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	男性		
2.67[a]、投与 1 日							77.1	5.3.3.1-1[b]	5.3.3.1
18.2、投与 1 日	690	447						4.2.3.2-1	4.2.3.2
18.2、投与 28 日	344	301							

空欄: 該当データなし
a: CS-8958 160 mg 投与を体重 60 kg として換算
b: 健康成人男性（日本人）を対象とした臨床試験（治験実施計画書番号: CS8958-B-J109）

トキシコキネティクス: R-125489

AUClast（ng･h/mL）　　測定対象: R-125489

1 日投与量（mg/kg／日）	ラット		イヌ		ウサギ		ヒト	資料番号	記載箇所
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	男性		
2.67[a]、投与 1 日							1040	5.3.3.1-1[b]	5.3.3.1
18.2、投与 1 日	2290	1240						4.2.3.2-1	4.2.3.2
18.2、投与 28 日	1430	2030							

空欄: 該当データなし
a: CS-8958 160 mg 投与を体重 60 kg として換算
b: 健康成人男性（日本人）を対象とした臨床試験（治験実施計画書番号: CS8958-B-J109）

Cmax（ng/mL）　　測定対象: R-125489

1 日投与量（mg/kg／日）	ラット		イヌ		ウサギ		ヒト	資料番号	記載箇所
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	男性		
2.67[a]、投与 1 日							27	5.3.3.1-1[b]	5.3.3.1
18.2、投与 1 日	140	66.1						4.2.3.2-1	4.2.3.2
18.2、投与 28 日	130	166							

空欄: 該当データなし
a: CS-8958 160 mg 投与を体重 60 kg として換算
b: 健康成人男性（日本人）を対象とした臨床試験（治験実施計画書番号: CS8958-B-J109）

4. 毒性試験: 被験物質（バッチ毎）一覧

CS-8958

ロット番号	含量（%）	規格設定された不純物（%）	資料番号	試験の種類
製剤申請規格	[redacted]～[redacted]	該当なし		
[redacted]	95.5		4.2.3.2-1	幼若ラット 4 週間反復吸入投与毒性試験

5. 単回投与毒性試験

追加の試験は実施していない。

6. 反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

7. 反復投与毒性試験: 重要な試験

7.1 反復投与毒性試験: 幼若ラット 4 週間 (1/4)

Report Title: Repeated Dose Toxicity Study in Juvenile Rats Treated via Inhalation with CS-8958 Nebuliser Formulation for 28 Days Followed by a 28-Day Recovery Period

Test Article: CS-8958

Species/Strain: Rats/RccHan:WIST
Initial Age: 7 days age
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]

Duration of Dosing: 28-day
Duration of Postdose: 28-day
Method of Administration: Inhalation, snout only
Vehicle/Formulation: [redacted] mg/mL tyloxapol in saline solution/Aerosol

Attachment No. 4.2.3.2-1
Location in CTD: 4.2.3.2
GLP Compliance: Yes

Special Features:

Toxicokinetics study was done on Day 1 and Day 28. Blood collection was done 5 min, 1, 6, and 23 h after completion of dosing on Day 1 and before dosing, 5 min, 1, 6, and 23 h after completion of dosing on Day 28.

Post dose recovery period (28 days) was set for control and 18.2 mg/kg treated groups (5 animals/each sex/group).

No Observed Adverse Effect Level: 18.2 mg/kg/day in males and females

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		2.21		5.55		18.2	
No. of Animals per time point	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics (mean):								
Cmax (ng/mL)								
CS-8958:								
Day 1	NE	NE	181	91.7	148	396	690	447
Day 28	NE	NE	73.0	68.8	123	135 [b]	344	301
R-125489:								
Day 1	NE	NE	19.1	13.3	26.3	39.2	140	66.1
Day 28	NE	NE	27.3	30.3	48.3 [b]	71.3	130	166

NE: Not examined
a: Control animals were treated with aerosol generated with [redacted] mg/mL tyloxapol in saline.
b: N = 2; one sample was not collected due to poor blood flow and clotting.

7.1　反復投与毒性試験: 幼若ラット 4 週間（2/4）

Attachment No. 4.2.3.2-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		2.21		5.55		18.2	
No. of Animals per time point	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics (mean):								
Tmax (h)								
CS-8958:								
Day 1	NE	NE	0.083	0.083	0.083	0.083	1.0	1.0
Day 28	NE	NE	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
R-125489:								
Day 1	NE	NE	0.083	1.0	6.0	0.083	6.0	6.0
Day 28	NE	NE	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
AUClast (ng·h/mL)								
CS-8958:								
Day 1	NE	NE	1330	829	1360	1500	5030	4010
Day 28	NE	NE	166	148	333	343	861	939
R-125489:								
Day 1	NE	NE	278	196	495	529	2290	1240
Day 28	NE	NE	253	317	444	652	1430	2030

NE: Not examined
a: Control animals were treated with aerosol generated with [redacted] mg/mL tyloxapol in saline.

7.1　反復投与毒性試験: 幼若ラット 4 週間（3/4）

Attachment No. 4.2.3.2-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		2.21		5.55		18.2	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10 [b]	F:10	M:15	F:15
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (Δ%) Day 29 [c]	113 g	104 g	−7	−7	−8	−12	−4	−5
Food Consumption (Δ%) Day 29 [c]	13 g/day	14 g/day	−8	−21	−8	−29	−8	−14
Pre-Weaning Examinations Air righting from Day 10 of dosing (Day 16 of age). Auditory and visual function on Day 14 of dosing (Day 20 of age).	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry (No. examined)[d]	(9)	(10)	(8)	(10)	(9)	(9)	(9)	(7)
Phosphorous (mmol/L)	1.69	1.77	1.97*	2.17**	2.15**	2.41**	2.28**	2.49**
Organ Weights [d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology [d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [d]	-	-	NE	-	-	-	-	-

-: No noteworthy findings, NE: Not examined

Statistics (vs Control): *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (William's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

a: Control animals were treated with aerosol generated with [redacted] mg/mL tyloxapol in saline.

b: One male found dead on Day 2 (Day 8 of age) was replaced with a spare male, which came from the same litter. The death was considered to be a dosing trauma that can happen very occasionally as the juveniles are fairly fragile at this age. As such replaced animal had only received 27 not 28 days of exposure but within the context of this study this is considered acceptable to evaluate the effects over 28 days and to have no impact on the study integrity.

c: Δ%: For control groups, group means are shown.　For the treated groups, percent differences from controls are shown.

d: At the end of dosing period.

7.1　反復投与毒性試験: 幼若ラット 4 週間（4/4）

Attachment No. 4.2.3.2-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		2.21		5.55		18.2	
Recover Period								
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	NE	NE	NE	NE	0	0
Clinical Observations	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Body Weight (Δ%) Day 29 [b]	284.8 g	190.7 g	NE	NE	NE	NE	+3	−2
Food Consumption (Δ%) Day 29 [b]	24 g/day	17 g/day	NE	NE	NE	NE	0	0
Hematology [c]	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Blood Chemistry [c]	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Organ Weights [c]	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Gross Pathology [c]	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Histopathology [c]	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

-: No noteworthy findings, NE: Not examined
a: Control animals were treated with aerosol generated with [redacted] mg/mL tyloxapol in saline.
b: Δ%: For controls, group means are shown.　For treated groups, percent differences from the controls are shown.
c: At the end of recovery period.

8. In Vitro 遺伝毒性試験

追加の試験は実施していない。

9. In Vivo 遺伝毒性試験

追加の試験は実施していない。

10. がん原性試験

該当する試験は実施していない。

11. 生殖発生毒性試験: 重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

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

追加の試験は実施していない。

13. 生殖発生毒性試験: 胚・胎児発生に関する試験

追加の試験は実施していない。

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

追加の試験は実施していない。

15. 新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

16. 局所刺激性試験

追加の試験は実施していない。

17. その他の毒性試験

17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（1/5）

Report Title: Repeated Dose Toxicity Study in Rats Treated via Inhalation with Tyloxapol for 3 Months Followed by a 28-Day Recovery Period

Test Article: Tyloxapol

Species/Strain: Rats/RccHan:WIST
Initial Age: 8 to 9 weeks age
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]

Duration of Dosing: 3 Months
Duration of Postdose: 28-day
Method of Administration: Inhalation, snout only
Vehicle/Formulation: Saline /Solution

Attachment No. 4.2.3.7.7-1
Location in CTD: 4.2.3.7.7
GLP Compliance: Yes

Special Features: Post dose recovery period (28 days) was set for control and 2.08 and 6.56 mg/kg treated groups (5 animals/each sex/group).
No Observed Adverse Effect Level: 0.688 mg/kg/day in males and females

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		0.688		2.08		6.56	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Noteworthy Findings								
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (Δ%) Week 13 [b]	381 g	229 g	+6	−2	0	−4	−1	−2
Food Consumption (Δ%) Week 13 [b]	138 g/week	97 g/week	+3	−2	−1	−6	−4	−2
Ophthalmic Examination Week 13	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology (No. examined) Week 13	(10)	(10)	(9)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Neutrophils ($\times 10^9$/L)	1.21	0.72	1.47	0.79	1.80*	0.80	2.16**	1.27**
Monocytes ($\times 10^9$/L)	0.17	0.07	0.22	0.07	0.20	0.10	0.23*	0.16**

-: No noteworthy findings, NE: Not examined
Statistics (vs Control): *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (William's test); Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
a: Control animals were treated with aerosol generated with saline.
b: Δ%: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（2/5）

Attachment No. 4.2.3.7.7-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		0.688		2.08		6.56	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Blood Chemistry Week 13	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis Week 13	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (No. examined) [b, c]	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Lung and bronchi weight (Δ%) [d]	1.313 g	0.975 g	+6	+4	+10*	+8	+75**	+69**
Gross Pathology (No. examined)[c]	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Lungs: Pale Area(s)	3	3	3	3	4	6	10	10
Tracheobronchial Lymph Nodes: Enlarged	0	0	0	0	2	0	6	4
Mediastinal Lymph Nodes: Enlarged	0	0	0	0	0	0	4	0
Histopathology (No. examined) [c]	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Lungs and Bronchi: Alveolar Macrophages, Foamy, Increased, Diffuse	0	0	0	0	2	3	10	10
Lungs and Bronchi: Infiltrate, Inflammatory Cell, Alveoli, Diffuse	0	0	0	0	2	0	8	10
Lungs and Bronchi: Infiltrate, Inflammatory Cell, Perivascular	2	1	3	2	4	2	10	10
Lungs and Bronchi: Hypertrophy, Epithelium, Alveoli	0	0	0	0	1	0	4	6
Lungs and Bronchi: Eosinophilic Material, Alveolar	0	0	0	0	0	0	6	4

-: No noteworthy findings
Statistics (vs Control): *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (William's test)
a: Control animals were treated with aerosol generated with saline.
b: Adjusted for body weight as covariate.
c: At the end of dosing period.
d: Δ%: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（3/5）

Attachment No. 4.2.3.7.7-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control) [a]		0.688		2.08		6.56	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Histopathology (Continued) [b]								
Nose/Turbinates: Eosinophilic Globules, Olfactory Epithelium	0	0	0	0	3	2	10	6
Nose/Turbinates: Eosinophilic Globules, Respiratory Epithelium	0	0	0	0	0	1	6	6
Nose/Turbinates: Degeneration, Olfactory Epithelium	0	0	0	0	1	0	3	0
Nasopharynx: Increase, Mucous Cells	0	0	0	0	2	1	7	10
Tracheobronchial Lymph Node: Cellularity Increased, Paracortex	0	0	0 [c]	0	0 [c]	0	6 [c]	6
Mediastinal Lymph Node: Cellularity Increased, Paracortex	NE	NE	NE	NE	NE	NE	4 [d]	NE

NE: Not examined
a: Control animals were treated with aerosol generated with saline.
b: At the end of dosing period.
c: Only 9, 6, and 9 animals examined for males at 0.688, 2.08, and 6.56 mg/kg/day, respectively.
d: Only 4 animals examined.

17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（4/5）

Attachment No. 4.2.3.7.7-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)[a]		2.08		6.56	
Recovery Period						
No. of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Noteworthy Findings						
Dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-			-	-
Body Weight (Δ%) Day 29 [b]	406 g	251 g	+2	−3	+3	−2
Food Consumption (Δ%) Day 29 [b]	144 g/week	102 g/week	+6	+5	+3	+7
Hematology Week 4 of recovery						
Neutrophils ($\times 10^9$/L) [c]	1.52	0.46	2.50	0.91*	1.72	1.09**
Blood Chemistry Week 4 of recovery	-	-	-	-	-	-
Organ Weight [d, e]						
Lung and bronchi weight (Δ%) [b]	1.367 g	1.059 g	+10	+6	+79**	+88**
Gross Pathology [c]	-	-			-	-
Lungs: Pale Area(s)	0	1	3	3	5	5
Tracheobronchial Lymph Nodes: Enlarged	0	0	0	0	5	5
Mediastinal Lymph Nodes: Enlarged	0	0	0	0	3	3

-: No noteworthy findings
Statistics (vs Control): *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (William's test)
a: Control animals were treated with aerosol generated with saline.
b: Δ%: For control groups, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
c: N = 3 to 5
d: Adjusted for body weight as covariate.
e: At the end of recovery period.

17.1 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールのラット 3 ヵ月間反復吸入投与毒性試験（5/5）

Attachment No. 4.2.3.7.7-1 (Continued)

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)[a]		2.08		6.56	
No. of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology [b]						
Lungs and Bonchi: Alveolar Macrophages, Foamy, Increased, Diffuse	0	0	4	3	5	5
Lungs and Bonchi: Infiltrate, Inflammatory Cell, Alveoli, Diffuse	0	0	0	2	5	5
Lungs and Bonchi: Infiltrate, Inflammatory Cell, Perivascular	3	0	3	1	5	5
Lungs and Bonchi: Hypertrophy, Epithelium, Alveoli	0	0	0	0	5	5
Lungs and Bonchi: Eosinophilic Material, Alveolar	0	0	0	0	4	5
Nose/Turbinates: Eosinophilic Globules, Olfactory Epithelium	0	0	3	0	4	5
Nose/Turbinates: Eosinophilic Globules, Respiratory Epithelium	0	0	0	0	4	4
Nasopharynx: Increase, Mucous Cells	0	0	0	0	2	2
Tracheobronchial Lymph Node: Cellularity Increased, Paracortex	0 [c]	0	0	0	5	5
Mediastinal Lymph Node: Cellularity Increased, Paracortex	NE	NE	NE	NE	3 [c]	1 [c]

NE: Not examined
a: Control animals were treated with aerosol generated with saline.
b: At the end of recovery period.
c: Only 3 animals examined.

17.2 その他の毒性試験: 新添加物チロキサポールの in silico 変異原性評価

Report Title: Evaluation of Tyloxapol for mutagenicity using DEREK Nexus and CASE Ultra

Test Article: Tyloxapol

Test for Induction of: structural alert by (Q)SAR methodologies
Strains: *S. typhimurium* and *E. coli*

Attachment No. 4.2.3.7.7-2
Location in CTD: 4.2.3.7.7
GLP Compliance: No

Mutagenic Effects: None

Protocol Adopted for Processing	Protocol Version	Alert
DEREK Nexus	Program: DEREK Nexus: 5.0.2, Nexus: 2.1.1 Knowledge base: Derek KB 2015 2.0	No alert
CASE Ultra	Program: 1.6.0.3 Models used: GT1_A7B (1.6.0.0.3979.450) and GT1_AT_ECOLI (1.6.0.0.1199.500)	Inconclusive alert was dismissed by careful review of the alert structure.