目次

略号一覧表 4
2.6.6 毒性試験の概要文 10
2.6.6.1 まとめ 10
2.6.6.2 急性毒性試験／単回投与毒性試験 14
2.6.6.2.1 マウスを用いた強制経口投与急性毒性試験 14
2.6.6.2.2 マウスを用いた静脈内投与急性毒性試験 15
2.6.6.2.3 ラットを用いた強制経口投与急性毒性試験 15
2.6.6.2.4 ラットを用いた静脈内投与急性毒性試験 15
2.6.6.3 反復投与毒性試験 15
2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性予備試験 17
2.6.6.3.2 マウスを用いた主要な反復投与毒性試験 18
2.6.6.3.3 ラットを用いた反復投与毒性予備試験 22
2.6.6.3.4 ラットを用いた主要な反復投与毒性試験 24
2.6.6.3.5 イヌを用いた反復投与毒性予備試験 28
2.6.6.3.6 イヌを用いた主要な反復投与毒性試験 29
2.6.6.4 遺伝毒性試験 32
2.6.6.4.1 *in vitro* 遺伝毒性試験 32
2.6.6.4.2 *in vivo* 遺伝毒性試験 33
2.6.6.5 がん原性試験 34
2.6.6.5.1 マウスを用いた用量設定試験 34
2.6.6.5.2 マウスを用いた２年間がん原性試験 34
2.6.6.5.3 ラットを用いた用量設定試験 36
2.6.6.5.4 ラットを用いた２年間がん原性試験 36
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 38
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚・胎児発生に関する試験 38
2.6.6.6.2 ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験 40
2.6.6.6.3 ラットを用いた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 47
2.6.6.6.4 幼若動物毒性試験 48
2.6.6.7 局所刺激性試験 51
2.6.6.8 その他の毒性試験 51
2.6.6.8.1 免疫毒性 52
2.6.6.8.2 毒性発生機序に関する試験 52
2.6.6.8.3 薬物乱用性試験 53
2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験 53
2.6.6.8.5 その他の毒性試験（静脈内投与試験） 54
2.6.6.8.6 その他の毒性試験（皮膚感作性） 57
2.6.6.8.7 その他の毒性試験（光毒性） 58
2.6.6.9 考察及び結論 58

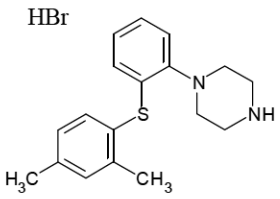
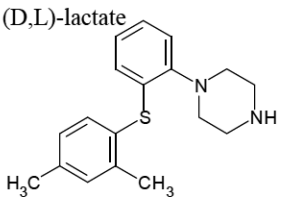
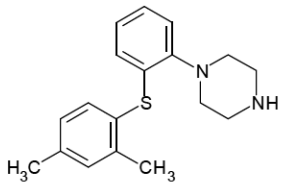
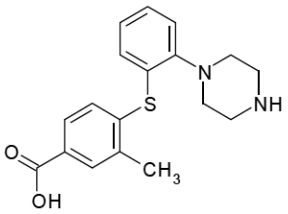
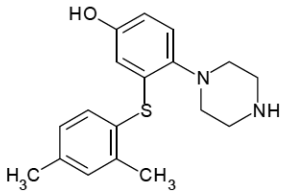
2.6.6.9.1 考察 61
2.6.6.9.2 結論 64
2.6.6.10 参考文献 65

表

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム 11
表 2.6.6.3-1 主要な反復投与毒性試験で実施した観察スケジュール 17
表 2.6.6.3-2 マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 20
表 2.6.6.3-3 マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 21
表 2.6.6.3-4 マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 22
表 2.6.6.3-5 マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 22
表 2.6.6.3-6 ラットへ Lu AA21004 を 4 週間反復強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 24
表 2.6.6.3-7 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 26
表 2.6.6.3-8 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 26
表 2.6.6.3-9 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 26 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 28
表 2.6.6.3-10 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 26 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 28
表 2.6.6.3-11 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 29
表 2.6.6.3-12 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 31
表 2.6.6.3-13 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 31
表 2.6.6.3-14 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 52 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 32
表 2.6.6.3-15 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 52 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 32
表 2.6.6.5-1 Lu AA21004 のラットがん原性試験における直腸所見の概要 [4.2.3.4.1-2] 37
表 2.6.6.6-1 妊娠が推定されるラットに妊娠 6～17 日まで Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 41

表 2.6.6.6-2 妊娠が推定されるラットに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後、妊娠 17 日に測定した Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の TK パラメータ（平均） 42
表 2.6.6.6-3 妊娠が推定されるウサギに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後、妊娠 18 日に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 45
表 2.6.6.6-4 妊娠が推定されるウサギに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後、妊娠 18 日に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 46
表 2.6.6.6-5 妊娠が推定されるウサギに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後、妊娠 18 日に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均） 47
表 2.6.6.6-6 21 日齢の幼若ラットに Lu AA21004 を単回強制経口投与後に測定した Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の TK パラメータ（平均） 49
表 2.6.6.6-7 幼若ラットに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後に測定した Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の TK パラメータ（平均） - 21 日齢時 51
表 2.6.6.6-8 幼若ラットに Lu AA21004 を 1 日 2 回強制経口投与後に測定した Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の TK パラメータ（平均） - 91 日齢時 51
表 2.6.6.8-1 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 14 日間静脈内投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 56
表 2.6.6.8-2 イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 14 日間静脈内持続投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均） 57
表 2.6.6.9-1 Lu AA21004 の臨床最大用量 20 mg/日に対する毒性試験無毒性量の曝露量（AUC）比較 59
表 2.6.6.9-2 Lu AA21004 の臨床最大用量 20 mg/日に対する毒性試験無毒性量及び非発がん量の曝露量（Cmax）比較 60
表 2.6.6.9-3 Lu AA34443 の臨床最大用量 20 mg/日に対する毒性試験無毒性量の曝露量（AUC）比較 60
表 2.6.6.9-4 Lu AA34443 の臨床最大用量 20 mg/日に対する毒性試験無毒性量及び非発がん量の曝露量（Cmax）比較 61

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学名	化学構造式	由来
Lu AA21004 -HBr	ボルチオキセチン臭化水素酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine monohydrobromide		原薬
Lu AA21004 -(D,L)-lactate	ボルチオキセチン乳酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine (D,L)-lactate		原薬
Lu AA21004	ボルチオキセチン	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine		フリー体
Lu AA34443	—			代謝物
Lu AA39835	—			代謝物

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
5-HT	serotonin	セロトニン
5-HTP	5-hydroxytryptophan	5-ヒドロキシトリプトファン
5-HTT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
5-HTx	serotonin receptor subtype x	セロトニン受容体サブタイプ X
α-BGTX	alpha-bungarotoxin	α-ブンガロトキシン
ACh	acetylcholine	アセチルコリン
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
A/G	albumin to globulin ratio	アルブミン/グロブリン比
AGP	α_1-acid glycoprotein	α_1酸性糖たん白質
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
aVF, aVL, aVR	augmented unipolar ECG lead	増大単極 ECG 誘導
AUC	area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-inf)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-t)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t (hr)	0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティー
BID	twice daily	1 日 2 回
BCRP	breast cancer resistance protein	－
BP	blood pressure	血圧
BrdU	5-bromo-2-deoxyuridine	5-ブロモ-2-デオキシウリジン
BSEP	bile salt export pump	－
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
Caco-2	Human colon carcinoma	ヒト大腸がん由来細胞
Cdyn	dynamic lung compliance	動肺コンプライアンス
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
cIC_{50}	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$, where S is the radio-substrate concentration and Km is the Michaelis-Menten rate constant for radio-substrate to the transporter	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$：S は放射性基質濃度、Km はトランスポーターに対する放射性基質の Michaelis-Menten 定数
CLp	plasma clearance	血漿クリアランス
Cmax	maximum observed plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CV5RL	precordial chest ECG lead	胸部 ECG 誘導
CYP	cytochrome P-450	チトクローム P450
DA	dopamine	ドーパミン
DAT	dopamine transporter	ドーパミントランスポーター
dLVP/dt	rate of change in left ventricular pressure	左心室内圧の変化率
DMSO	dimethyl sulfoxide (vehicle)	ジメチルスルホキシド（溶媒）
DRN	dorsal raphe nucleus	背側縫線核
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
ECAC	Executive Carcinogenicity Assessment Committee	がん原性試験評価委員会
ECG	electrocardiogram; electrocardiographic	心電図；心電図の

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ED_{50}	median effective dose	50%有効量
EMEA	European Medicines Agency	欧州医薬品審査庁
FDA	US Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FLIPR	fluorometric imaging plate reader	蛍光測定画像解析用プレート・リーダー
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GD	Gestation Day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GTPγS	guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate	グアノシン 5'-O-[γ-チオ]三リン酸
hSERT	human serotonin transporter	ヒトセロトニントランスポーター
h5-HTx	human 5-HT receptor subtype x	ヒトセロトニン受容体サブタイプ X
HA	histamine	ヒスタミン
h β x	human beta-adrenergic receptor, subtype x	ヒト β-アドレナリン受容体、サブタイプ X
HBr	hydrobromide	臭化水素酸塩
hδ	human delta	ヒトデルタ-オピオイド受容体
HED	human equivalent dose	ヒト相当用量
HEK-293	human embryonic kidney - 293 variation	ヒト胎児由来腎臓細胞-293 変異株
HeLa	cell type in an immortal cell line derived from cervical cancer cells taken from human	ヒト由来子宮頚がん細胞から培養した不死化細胞株の細胞種
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト遅延整流カリウムイオンチャンネル遺伝子
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
hμ	human μ	ヒトミュー-オピオイド受容体
hNAT	human noradrenaline transporter	ヒトノルアドレナリントランスポーター
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HP-β-CD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (vehicle)	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（溶媒）
Hgb	hemoglobin	ヘモグロビン
HR	heart rate	心拍数
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IA	intrinsic activity	内因活性
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IKr	rapid activating delayed rectifier potassium current	急速活性型遅延整流カリウム電流
IP	intraperitoneal(ly)	腹腔内
IV	intravenous(ly)	静脈内
Kb	Kb =IC_{50}/(1+ ([A]/ EC_{50})), where [A is the concentration of the agonist and EC_{50} is the EC_{50} of the agonist in this experiment]	Kb =IC_{50}/(1+ ([A]/ EC_{50}))：[A]はアゴニスト濃度、EC_{50} は当該実験でのアゴニストの EC_{50} を示す
Ki	dissociation constant of an inhibitor	阻害剤の解離定数
LC	locus coeruleus	青斑核
LC/MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LD	lactation day	哺育日数

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
Lead I, II, III	bipolar ECG leads	双極 ECG 誘導
LLNA	local lymph node assay	局所リンパ節試験
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
Lu AA21004	test article	被験物質
Lu AA25790	sulfoxide metabolite (M4(a))	スルホキシド体代謝物（M4(a)）
Lu AA34443	carboxylic acid metabolite	カルボン酸体代謝物
Lu AA34994	hydroxy intermediate (of Lu AA34443)	（Lu AA34443 の）ヒドロキシ中間体
Lu AA39835	hydroxy metabolite (M8)	ヒドロキシ体代謝物（M8）
Lu AE22404	*N*-hydroxy intermediate (for M11 and M12)	（M11 及び M12 の）*N*-ヒドロキシ中間体
LVP	left ventricular pressure	左心室内圧
M3	glucuronide of Lu AA39835	Lu AA39835 のグルクロン酸抱合体
M4(a)	sulfoxide metabolite (Lu AA25790)	スルホキシド体代謝物（Lu AA25790）
M4(b)	acyl glucuronide of Lu AA34443	Lu AA34443 のアシルグルクロン酸抱合体
M8	hydroxy metabolite (Lu AA39835)	ヒドロキシ体代謝物（Lu AA39835）
M11	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体
M12	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体
MABP	mean arterial blood pressure	平均動脈血圧
MATE	multidrug and toxin extrusion	－
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney	Madin-Darby Canine Kidney 細胞
MDD	major depressive disorder	大うつ病性障害
MDR1	Multidrugresistance 1	多剤耐性たん白質
MED	minimally effective dose	最小有効量
MIST	metabolites in safety testing	代謝物の安全性試験
mPFC	medial prefrontal cortex	内側前頭前皮質
mRNA	messenger ribonucleic acid	伝令リボ核酸
MS	mass spectrometry	質量分析
MS/MS	tandem mass spectrometry	タンデム質量分析
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NAS	nucleus accumbens	側坐核
NAT	noradrenaline transporter	ノルアドレナリントランスポーター
NDA	New Drug Application	新薬承認申請
NE	norepinephrine	ノルエピネフリン
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	no-observed-effect level	無作用量
NOR	novel object recognition	新奇物体認識
OB	olfactory bulbectomized	嗅球摘出
OAT	organic anion transporter	－
OATP	organic anion transporting polypeptide	－
OCT	organic cation transporter	－
Papp	Permeation coefficient	透過係数
P peak/wave	ECG peak/wave in the PR interval	心電図 P 波
pCO_2	partial carbon dioxide pressure	二酸化炭素分圧
PCPA	4-chloro-DL-phenylalanine methyl ester hydrochloride	4-クロロ-DL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩
Penh	enhanced pause, an index of airway constriction	エンハンスドポウズ、気道収縮の指標
P-gp	P-glycoprotein	P-糖たん白質

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態（学）
PO	oral(ly)	経口
pO_2	partial oxygen pressure	酸素分圧
PQ interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node and the bundle of His	心電図 PQ 間隔：興奮が心房、房室結節及びヒス束を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
PR interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node, the bundle of His and Purkinje fiber	心電図 PR 間隔：興奮が心房、房室結節、ヒス束及びプルキンエ繊維を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
QRS axis	sum of vectors during cardiac depolarization	心電図 QRS 軸：心室脱分極期のベクトルの合計
QRS interval	ECG interval representing conduction time for ventricular depolarization	心電図 QRS 間隔：心室脱分極の伝導時間を表す心電図間隔
QT interval	ECG interval representing the conduction time for ventricular de- and re-polarization	心電図 QT 間隔：心室脱分極から再分極までの伝導時間を表す心電図間隔
QTc	QT interval corrected for HR	心拍数で補正した心電図 QT 間隔
QTcV	QT interval corrected for HR by the use of Van de Water's correction formula.	Van de Water の補正式を用いて、心拍数で補正した QT 間隔
R peak/wave	ECG peak/wave in the QRS complex	心電図 R 波：QRS 複合体のピーク／波
r5-HTx	rat 5-HT receptor subtype x	ラットのセロトニン受容体サブタイプ X
R_L	airway resistance	気道抵抗
rNa+	rat sodium ion	ラットにおけるナトリウムイオン
RR interval	ECG interval representing the time between two successive ECG complexes	心電図 RR 間隔：2 つの連続した心電図波形間の時間を表す心電図間隔
SA	spontaneous alternations	自発的交替行動
SC	subcutaneous(ly)	皮下
SCN5A	cardiac sodium channel	心臓ナトリウムチャネル
SERT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
SNRI	serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor	セロトニン-ノルエピネフリン再取り込み阻害薬
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor	選択的セロトニン再取り込み阻害薬
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T wave	ECG wave representing cardiac ventricular repolarization	心電図 T 波：心室再分極を表す心電図波形
Tmax	time to reach Cmax	最高血漿中濃度到達時間
TOF-SIMS	time-of-flight secondary ion mass spectrometry	飛行時間型二次イオン質量分析法
UHP	ultra high purity	超高純度
USV	ultrasonic vocalization	超音波発声
UV	ultraviolet	紫外線
V_{10}	precordial chest ECG lead	標準胸部誘導
Vd	volume of distribution	分布容積
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
VHip	ventral hippocampus	腹側海馬
VTA	ventral tegmental area	腹側被蓋野

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

Lu AA21004 は、セロトニン再取り込み阻害作用並びにセロトニン受容体調節作用を有する。*in vitro* 試験により、Lu AA21004 が、5-HT_{1D}、5-HT_3 及び 5-HT_7 受容体アンタゴニスト、5-HT_{1B} 受容体部分アゴニスト、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト、並びに 5-HT トランスポーター阻害剤であることが示されている。ラットを用いた 5-HTT 占有率試験、ニューロン発火実験及びマイクロダイアライシス試験に基づくデータから、本薬の標的が複雑に相互作用し、ラット前脳内でのセロトニン神経系・ノルエピネフリン神経系・ドーパミン神経系・ヒスタミン神経系・アセチルコリン神経系等の複数の神経系での神経伝達の調節をもたらすことが示唆されている。

毒性試験プログラムは、大うつ病性障害を有するヒトに対する経口投与抗うつ剤である Lu AA21004 の長期間投与をサポートする目的で、単回投与から 26 あるいは 52 週間までの反復毒性試験を実施した。ラット及びイヌをそれぞれげっ歯類及び非げっ歯類の第一選択動物種とした。

in vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施し、また、マウス及びラットを用いた 2 つの 2 年間がん原性試験において Lu AA21004 の発がん性を検討した。受胎能及び着床までの初期胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生への影響及び母体の機能はラットを用いて評価し、ラット及びウサギを用いて胚・胎児発生毒性試験を行った。

他に、ラットを用いた 13 週間毒性試験の一部として免疫毒性試験、ラット及びイヌを用いた静脈内投与（IV）による 7 日間及び 14 日間毒性試験、マウスを用いた皮膚感作性評価のための局所リンパ節試験、並びにイヌにみられた痙攣発現の機作検討及びラットを用いた肝臓及び腎臓における結晶性物質の機序検討の各検討試験を実施した。

Lu AA21004 をマウス及びイヌに 1 日 1 回、ラット及びウサギに 1 日 2 回（BID、これらの種は Lu AA21004 の消失半減期（t1/2）が短いため 1 日 2 回とした）経口投与（PO）した。

主要なすべての試験で、Lu AA21004 のトキシコキネティクス（TK）プロファイリング又は全身暴露量測定を実施した。うちいくつかの試験では、代謝物の TK 測定も実施した。

試験タイプ、動物種及び用量範囲を含む毒性試験プログラムの概要を、表 2.6.6.1-1 に示す。詳細（添付資料番号及び GLP 基準適合状況等）は毒性試験概要表（以下、概要表）[2.6.7.1]に示す。毒性試験の概要を概要表 [2.6.7.2]、[2.6.7.3A]及び[2.6.7.3B]に示す。別途記載する場合を除き、すべての投与量は Lu AA21004 のフリー体で示す。表 2.6.6.1-1 に示す通り（*in vitro* 遺伝毒性試験及び局所リンパ節試験を除き）、ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）水溶液を溶媒として使用した。使用した Lu AA21004 のバッチの概要を概要表[2.6.7.4]に示す。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

実施試験	投与経路 最低-最高用量	動物種	溶媒
単回投与毒性試験			
単回投与毒性試験	PO 200～500 mg/kg	マウス、ラット	15% HP-β-CD
単回投与毒性試験	IV 20～40 mg/kg	マウス、ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
反復投与毒性試験			
4～14 日間最大耐量（MTD）推定試験	PO 40～300 mg/kg BID 500～1500 mg/kg/日 20～150 mg/kg BID 10～25 mg/kg/日	マウス ラット イヌ	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 15% HP-β-CD 混餌 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 15% HP-β-CD
4 週間強制経口投与毒性試験	PO 50～200 mg/kg/日 10～40 mg/kg BID 3.75～15 mg/kg/日	マウス ラット イヌ	15% HP-β-CD 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 5% HP-β-CD
13 週間強制経口投与毒性試験	PO 12.5～200 mg/kg/日	マウス	15% HP-β-CD
13 週間強制経口投与毒性試験 + 回復性試験	PO 10～40 mg/kg BID 3.75～15 mg/kg/日	ラット イヌ	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 5% HP-β-CD
26 週間強制経口投与毒性試験 + 回復性試験	PO 10～40 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
52 週間強制経口投与毒性試験 + 回復性試験	PO 3.75～7.5 mg/kg/日	イヌ	5% HP-β-CD
in vitro 遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	*in vitro* 2.344～300 µg/plate	*S typhimurium*、*E coli*	DMSO
細胞遺伝毒性試験(染色体異常)	*in vitro* 3.34～22.6 µg/mL	ヒト末梢血リンパ球	DMSO
in vivo 遺伝毒性試験			
骨髄を用いた小核試験	PO 125～305 mg/kg/日	ラット	15% HP-β-CD
がん原性試験			
がん原性試験	PO 5～100 mg/kg/日 2～40 mg/kg BID	マウス ラット	15% HP-β-CD 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液

脚注は表末に示す。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム（続き）

実施試験	投与経路 最低-最高用量	動物種	溶媒
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のための用量設定試験	PO 5～40 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
14 日間探索的予備試験	PO 60 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	PO 20～60 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
胎児・発生に関する試験のための用量設定試験	PO 10～40 mg/kg BID 5～30 mg/kg BID	ラット ウサギ	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液あるいは 10% HP-β-CD
胎児・発生に関する試験	PO 5～80 mg/kg BID 1～30 mg/kg BID	ラット ウサギ	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液あるいは 10% HP-β-CD
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	PO 5～60 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
幼若動物毒性試験			
幼若動物毒性試験のための用量設定試験	PO 10～40 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
幼若動物毒性試験 + 回復期間	PO 10～40 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
その他の毒性試験			
Lu AA21004 の 26 週間投与による毒性発現機序に関する試験	PO 40～80 mg/kg BID	ラット	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
Lu AA34443 静脈内投与による毒性発現機序に関する試験	IV NA	イヌ	5% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
7 及び 14 日間試験	IV 3.75～20 mg/kg BID 0.5～4 mg/kg/日	ラット イヌ	10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液 10% HP-β-CD + 4.4% ブドウ糖液
局所リンパ節試験	皮膚局所適用 30～210 mg/mL	マウス	ジメチルスルホキシド

MTD=最大耐量、NA=該当せず

最高血漿中濃度（Cmax）及び血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）に関して原資料で使用した濃度単位は、それぞれ nmol/L 及び nmol·hr/L である。これらは、本概要文全体を通じて、Lu AA21004 に対しては 0.29845、代謝物 Lu AA34443 に対しては 0.32843、代謝物 Lu AA39835 に対しては 0.31445 の換算係数を使用して ng/mL 及び ng·hr/mL に変換して表記する。

すべての主要な毒性試験は、GLP 基準に準拠して実施した。用量設定試験に関しては、必ずしも GLP 基準に適合していない。

生体試料分析業務を委託した試験施設（[redacted]）において不十分な科学的判断及び GLP の不徹底から発生した不正行為が発覚したため、H. Lundbeck A/S 社及び武田薬品工業株式会社は、生体試料分析試験の評価におけるデータ不備の影響について検討した。その結果、[redacted] で薬物濃度測定を実施した GLP 毒性試験 9 試験のうち、幼若ラットを用いた強制経口投与毒性試験（12980、4.2.3.5.4-3）を除く、8 試験のデータに影響

がみられたが、問題解決のための是正措置を行った結果、生体試料分析データの信頼性に懸念はなく、非臨床試験全体の評価に影響はないと判断された。したがって、本非臨床試験を含め製造販売承認申請資料として添付することは妥当と判断した。

なお、本調査及び是正措置の詳細な報告についてはモジュール 4 [4.2.3.7.7-6]を参照のこと。

以下の節では、毒性試験における所見の概要を示す。

すべての所見は、個々の試験で用いた対照動物と比較した。

急性毒性試験において単回経口投与による Lu AA21004 の概略の致死量は、マウスで 500 mg/kg 及びラットで>500 mg/kg、最大耐量（MTD）は、マウスで 300 mg/kg 及びラットで 500 mg/kg であった。MTD を上回る用量を投与した際の臨床症状として痙攣もみられた。イヌにおける MTD 推定のための毒性試験の結果、イヌの経口投与による概略の致死量は >25 mg/kg、MTD は 25 mg/kg/日であった。

用量設定試験も含めて、マウス、ラット及びイヌにそれぞれ最大 300 mg/kg BID、150 mg/kg BID 及び 25 mg/kg/日の用量で経口投与した。反復経口投与毒性試験において、主に中枢神経系（CNS）に関連した一般状態所見が認められた。経口及び静脈内投与毒性試験で Lu AA21004 を投与したイヌ 100 例のうち計 2 例に痙攣が観察されたが、この所見は、イヌを用いた 13 週間毒性試験の高用量（10 mg/kg/日以上）投与のみでみられた。痙攣に対する無毒性量（NOAEL）は、イヌを用いた 52 週間毒性試験において 7.5 mg/kg/日であり、この用量における血漿中曝露量は、Lu AA21004 の臨床最高用量 20 mg/日でのヒト曝露量の約 5 倍に相当する。

反復投与毒性試験において特定された標的臓器は、腎臓（ラット）及び肝臓（マウス及びラット）であった。

腎臓では、器官重量増加及び肉眼的な外観異常がみられ、病理組織学的変化も伴っていた。ラットを用いた 13 週間試験において糸球体腎炎が認められた。ラットの 26 週間試験では結晶性物質がみられ、この結晶による尿細管閉塞が腎臓の変化の原因であると考えられた。結晶は、毒性の発現機序に関する検討の結果、主に代謝物 Lu AA34443 及び M3 で構成されていることが判明した（2.6.4.8.1）。

マウスにおいて、肝細胞壊死、胆管過形成、胆管における結晶性物質及び炎症細胞等の肝毒性が観察された。ラットにおいては、胆管周囲炎を伴う胆管過形成、胆管における結晶性物質及び肝細胞壊死等の肝毒性がみられた。肝細胞壊死は、投薬に起因する毒性変化と考えられ、胆管過形成の発現頻度の増加は、代謝物 Lu AA34443 及び M3 で構成される結晶性物質によるものと考えられた（2.6.4.8.1）。軽度の肝細胞空胞化を特徴とする肝臓の変化は、イヌを用いた 4 週間試験で観察されたが、より長期間の試験では認められなかった。

毒性の発現機序に関する非臨床試験の結果、ヒトにおける臨床用量では結晶析出が起きる可能性は低いことが示された。したがって、Lu AA21004 に起因する肝毒性及び腎毒性のリスクは低いものと考えられる。

一連の標準的な *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験では、Lu AA21004 の遺伝毒性は認められなかった。

がん原性試験では、マウスでは最高 100 mg/kg/日、ラットでは最高 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を投与し、マウス及びラットにおける発がん性を検討した。その結果、肝臓及

び直腸に投薬による腫瘍発生率の増加がみられたものの僅かな変化であり、いずれも良性腫瘍であった。上記所見は持続的な肝毒性及び溶媒による直腸上皮の増殖に起因する齧歯類に特異的な非遺伝毒性機序により生じたものと考えられた。マウス及びラットにおいては腫瘍形成に対して明らかな無毒性量（NOAEL）があった。Lu AA21004 がヒトに対する発がん性を示唆する所見はなかった。

Lu AA21004 は、受胎能、交配能力、生殖器、あるいは精子形態及びその運動性に影響を与えなかった。ラット及びウサギでは Lu AA21004 の催奇形性は認められなかったが、投薬に関連した影響として胎児体重及び骨化遅延がみられた。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において、Lu AA21004 の投与により母体に毒性を示さない用量で、出生児の死亡率増加、体重増加抑制及び出生児の発育遅延がみられた。以上のことから、ヒトの出生前後の発育に対するリスクは排除できない。

幼若ラットを用いた試験では、成体ラットを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験と比較し、Lu AA21004 の投薬に関連する新規又は重篤な所見はみられなかった。

すべての反復投与毒性試験おいて NOAEL が確立された。臨床最高用量（20 mg/日）でのヒト曝露量に対するこれらの NOAEL における曝露量の比較を表 2.6.6.9-1 に示す。

2.6.6.2 急性毒性試験／単回投与毒性試験

急性毒性試験の目的は、CD-1 マウス又は Han Wistar 系ラットに単回（強制）経口投与又は単回静脈内投与したときの Lu AA21004 の MTD を決定することである。MTD は、死亡又は重篤な臨床症状を引き起こさない投与可能な最高用量と定義した。各試験は、用量設定のための予備試験とそれに続く主試験で構成した。

2.6.6.2.1 マウスを用いた強制経口投与急性毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-1（評価）**

CD-1 マウス（主試験フェーズでは雌雄各 5 例）に 300 mg/kg の用量で Lu AA21004 を単回強制経口投与又は1回200 mg/kgの用量で2分割強制経口投与（投与間隔1時間）した[4.2.3.1-1, 概要表 2.6.7.5]。Lu AA21004 の難溶性を考慮し、より高い累積投与量での投与を可能とするため、当初は分割投与法を用いた。しかしながら、MTD は当初予想していた用量よりも低かったため単回投与での試験実施が可能であった。投与後 1 時間ないしは 2 時間で、一般状態変化が発現した。200 mg/kg を 2 回投与した雌 1 例に痙攣が発現したため、1 回目投与の 4 時間後に安楽死処分した。投薬に対するその他の症状として、振戦、顕著な接触過敏、半眼及び不安定歩行が認められた。雄全例及び雌 2 例は試験 2 日目に回復し、残りの雌は 3 日目又は 4 日目に回復した。300 mg/kg 単回投与に対する初期症状は、顕著な接触過敏であったが（雄全例及び雌 4 例）、すべての例が試験 2 日目までに外観上正常となった。なお、本試験では用量設定フェーズにおいて 200、400 及び 500 mg/kg の用量で単回投与し、500 mg/kg で雌 1 例を動物状態の悪化のため安楽死させた。

マウスに経口投与した場合の概略の致死量は、分割投与で 200 mg/kg BID、単回投与で 500 mg/kg、MTD は、300 mg/kg 単回と判断した。

2.6.6.2.2 マウスを用いた静脈内投与急性毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-2（評価）**

CD-1 マウス（主試験フェーズでは雌雄各 5 例）に 20 mg/kg の用量で Lu AA21004 を単回静脈内投与した[4.2.3.1-2, 概要表 2.6.7.5]。用量設定フェーズにおいては、30 mg/kg で雄 1 例に痙攣がみられたため安楽死させたが、主試験フェーズでは投与量 20 mg/kg で雌雄とも明かな影響は認められなかった。

静脈内単回投与におけるマウスの概略の致死量は 30 mg/kg、MTD は 20～30 mg/kg の用量範囲であり、NOAEL は 20 mg/kg と判断した。

2.6.6.2.3 ラットを用いた強制経口投与急性毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-3（評価）**

Han Wistar 系ラット（主試験フェーズでは雌雄各 5 例）に 500 mg/kg の用量で Lu AA21004 を単回強制経口投与又は 1 回 200 mg/kg 及び 300 mg/kg の用量で 2 分割強制経口投与（投与間隔 1 時間）した[4.2.3.1-3, 概要表 2.6.7.5]。投与後 2 時間までは一般状態の変化は殆ど認められなかった。しかしながら、300 mg/kg を 2 回投与したすべての動物において、2 回目の分割投与後直ちに流涎が認められた。200 mg/kg を 2 回投与した雄 1 例及び 300 mg/kg を 2 回投与した雌 1 例に痙攣が発現したため試験 1 日目に安楽死処分した。200 mg/kg を 2 回投与した生存動物は試験 2 日目までに正常な状態に戻ったが、300 mg/kg を 2 回投与した生存動物は試験 3 日目でも正常に戻らなかった。

500 mg/kg を単回投与した際の一般状態変化として、外的刺激に対する反応亢進、呼吸促迫及び鼻周囲の褐色汚染がみられた。すべての動物は、試験 2 日目までに外観上正常となった。ラットに強制経口投与した場合の概略の致死量は、分割投与で 200 mg/kg BID、単回投与で>500 mg/kg、MTD は 500 mg/kg と判断した。

2.6.6.2.4 ラットを用いた静脈内投与急性毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-4（評価）**

Han Wistar 系ラット（主試験フェーズでは雌雄各 5 例）に 20 及び 30 mg/kg の用量で Lu AA21004 を単回静脈内投与した [4.2.3.1-4, 概要表 2.6.7.5]。30 mg/kg の用量では、すべての動物において投与後すぐに不規則呼吸、自発運動低下及び歩行失調がみられた。1 例の一般状態は急速に悪化し、腹臥位となり、努力性呼吸を呈し、投与後約 5 分で死亡した。残りのすべての動物は生存し、投与後 30 分から投与後 2 時間まで雌 2 例に呼吸促迫が認められたものの、大部分は投与後 30 分で外観上正常となった。20 mg/kg の用量で Lu AA21004 を投与すると、投与後 5 分にはすべての動物に活動性低下が発現したが、他には観察期間を通じ異常は認められなかった。

30 mg/kg では雄 1 例が死亡したが、20 mg/kg では軽度の一過性の症状が発現したのみであったことから、ラットの静脈内投与における概略の致死量は 30 mg/kg、MTD は 20～30 mg/kg の範囲と判断した。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌにおいて反復経口投与毒性試験を実施した。

主要な反復投与毒性試験について、毒性プロファイルを同定し評価するため、投薬完了後の検査に加え、経時的な変化の評価が可能となるよう試験期間中の以下の時点で諸検査を実施した。

試験期間中には、生理学的検査及び一般行動（一般状態観察）、摂餌量、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び眼科学的検査を実施した。イヌを用いた試験では、心電図及び血圧を記録した。

すべての試験において、肉眼的病理検査及び器官重量測定を含む剖検ならびに病理学的検査を行った。試験期間中の全身曝露量の評価は、Lu AA21004 についてはすべての試験で、主代謝物については大部分の試験で実施した。

試験期間中に行った検査及び測定は、対照動物に対しても行い、すべての所見は対照動物と比較した。

動物の生死及び全身状態を毎日観察した。試験期間中に死亡または安楽死処分したすべての動物はできる限り速やかに剖検し、可能である場合は病理学組織的検査を行った。

主要な反復投与毒性試験で実施した観察スケジュールを、表 2.6.6.3-1 に示す。

表 2.6.6.3-1 主要な反復投与毒性試験で実施した観察スケジュール

動物種	マウス		ラット			イヌ		
試験期間(週)	4	13	4	13	26	4	13	52
投与経路	PO	PO	PO	PO	PO	PO	PO	PO
一般状態観察	d	W1: d W2-4: x2/w	W1: d W2-4: x2/w	W1: d W2-4: x2/w W5-13: w	W1: d W2-4: x2/w W5-26: w	d	W1: d W2-4: x2/w W5-13: w	d
体重	d	w	w	w	w	x2/w	w	w
摂餌量	w	w	w	w	w	d	d	d
眼科学的検査	pd W4	pd W13	pd W4	pd W13	pd W26 RW12	pd W4	pd W13 RW4	pd W52
血液学的検査及び血液生化学的検査	W5	W13	W4	W6 W13 RW4	W13 W26 RW12	pd W4	pd W6 W13 RW4	pd W13 W26 W52 RW12(a)
尿検査	-	-	W4	W6 W13 RW4	W13 W26 RW12	pd W4	pd W6 W13 RW4	pd W13 W26 W52
心電図／血圧	-	-	-	-	-	pd W1 W4	pd W1 W6 W13 RW4	pd W13 W26 W52 RW12
肉眼病理学的検査、病理組織学的検査、器官重量	+	+	+	+	+	+	+	+
トキシコキネティクス	D1 W4	D1 W13	D1 W4	D1 W13	D1 W13 W26	D1 W1 W2 W3 W4	D1 W7 W13	D1 W13 W26 W39 W52

d=毎日、D=日数、pd=投与前、RW=休薬期間（週）、w=週 1 回、W=週数、x2/w=週 2 回、+=実施、-=未実施
(a) 血液生化学的検査のみ

2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性予備試験

2.6.6.3.1.1 マウスを用いた最大耐量（MTD）推定のための強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-1（参考）

本試験の目的は、Lu AA21004 を 1 日 2 回反復経口投与した場合のマウスの MTD を推定することである[4.2.3.2-1, 概要表 2.6.7.6]。Lu AA21004 を CD-1 マウス（1 群当たり雌雄各 10 例）に 0（溶媒対照）、40、80 及び 120 mg/kg BID の用量で最大 7 日間投与した。

生死、一般状態、体重、摂餌量、肉眼病変及び器官重量を記録した。血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。

80 mg/kg BID 群では、試験 1 日目に雄 1 例が死亡し、6 日目及び 7 日目に雌 2 例が死亡した。死亡した雌のうちの 1 例は、投与過誤による死亡であった。120 mg/kg BID 群では、試験 3 日目に雄 2 例が死亡し、5 日目に雄 1 例が死亡した。死亡した動物のうちの 2 例は、投

与過誤による死亡であった。死亡した他の動物の死因は、剖検所見からは判定できなかったが、死因となる症状はほとんどなかったことから、投薬起因の死亡とは判断しなかった。

対照群を含むすべての動物に立毛が観察された。剖検では、肝臓に大理石様化、変色及び退色が、すべての投与群で用量依存的に認められた。さらに、120 mg/kg BID を投与した雌では肝臓重量の高値が認められた。

マウスの MTD は 120 mg/kg BID を上回ると判断され、MTD が推定されなかったため、さらに高い用量で再試験することにした。

2.6.6.3.1.2 マウスを用いた最大耐量（MTD）推定のための強制経口投与毒性試験 II

：添付資料番号 4.2.3.2-2（参考）

本試験の目的は、Lu AA21004 を 1 日 2 回反復経口投与した場合のマウスの MTD を推定することである[4.2.3.2-2, 概要表 2.6.7.6]。CD-1 マウス各群雌雄各 10 例に、0（溶媒対照）、200 及び 300 mg/kg BID の用量で最大 8 日間 Lu AA21004 を投与した。

生死、一般状態、体重、摂餌量、肉眼病変及び器官重量を記録し、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。

200 mg/kg BID を投与した群では、4 日目に雄 1 例が死亡し、3 日目に雌 1 例が死亡した（死因は投与過誤）。5 日目に残りの雄全例を、6 日目に雌 1 例をそれぞれ瀕死時安楽死処分した。300 mg/kg BID を投与した群では、試験 3 日目に雄 1 例が死亡し、雌 1 例を瀕死時安楽死処分した。残りの動物は、呼吸音異常、痙攣、振戦、自発運動低下、腹部膨満、立毛、並びに体表温低下の重篤な症状を示したため、試験 4 日目に瀕死時安楽死処分した。

摂餌量低下を伴う体重減少が、300 mg/kg BID を投与した雌雄及び 200 mg/kg BID 投与の雄で認められた。雄の投与群では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、白血球数、好中球数及び好塩基球数の増加、並びにリンパ球数の減少が認められ、雌では、血小板数、好中球数及び好塩基球数の増加、並びにリンパ球数及び網状赤血球数の減少が認められた。200 mg/kg BID 及び 300 mg/kg BID を投与した雌雄で、肝臓に退色及び大理石模様が認められた。雄では、肝臓、腎臓、脾臓、精巣の絶対重量の低値、並びに脳、腎臓及び精巣上体の相対重量の高値が認められた。雌では、顎下唾液腺の絶対及び相対重量の高値、並びに脳、腎臓及び心臓の絶対重量の高値が認められた。雌では、脾臓、子宮、胸腺の絶対及び相対重量の低値、並びに肺の絶対重量の低値も認められた。病理組織学的検査は実施しなかった。

雄に対する MTD は 200 mg/kg BID 未満で、雌に対する MTD は 300 mg/kg BID 未満と判断した。

2.6.6.3.2 マウスを用いた主要な反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 マウスを用いた 4 週間強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-3（評価）

本試験の目的は、マウスに Lu AA21004 を 4 週間強制経口投与したときの全身毒性を評価し、13 週間毒性試験における適切な用量を選択することである[4.2.3.2-3, 概要表 2.6.7.7A]。

CD-1 マウス各群雌雄各 12 例に Lu AA21004 を強制経口投与した。雄に対しては 0（溶媒対照）、50、100、150 mg/kg BID の用量、雌に対しては 0（溶媒対照）、50、150、250 mg/kg BID の用量を計画したが、高用量群の雌において死亡例がみられたため、試験 2 日目に、雌の高

用量群の用量を 200 mg/kg BID に変更した。試験 3 日目及び 4 日目は、雌の高用量群への投与は実施しなかった。重篤な一般状態変化及び死亡例が認められたため、試験 4 日目以降すべての群で投与を 1 日 2 回から 1 日 1 回に変更した。なお、マウス雌雄各 39 例を Lu AA21004 の各投与群に割り付け、TK 評価のために用いた。

計画時の用量選択は、先に実施した MTD 試験成績[4.2.3.2-1, 4.2.3.2-2]に基づいた。投薬期間中に、27 例の動物が死亡又は早期安楽死処分となった。これらの動物中 5 例は余剰動物と置き換えた。これらの動物のうち 13 例は死亡発見された（50 mg/kg/日の雌 3 例が 1、3 又は 8 日目、100 mg/kg/日の雄 2 例が 2 又は 19 日目、150 mg/kg/日の雌 4 例及び雄 1 例が 2、5 又は 6 日目、並びに 250/200 mg/kg/日の雌 3 例が 1、8 又は 15 日目）。痙攣がみられたため、動物 4 例を切迫安楽死処分し（150 mg/kg/日の雄 1 例及び雌 2 例を 2、3 又は 4 日目、250/200 mg/kg/日の雌 1 例を 1 日目）、闘争による咬傷等のため人道的な理由で 10 例を安楽死処分した（100 mg/kg/日の雄 2 例を 8 又は 11 日目、150 mg/kg/日の雄 7 例を 1、2、8、又は 11 日目、250/200 mg/kg/日の雌 1 例を 3 日目）。これらの動物では肉眼的所見として肝臓及び腎臓の退色又は表面の大理石模様化が認められた。

痙攣に加え、主要な一般状態変化として、振戦、自発運動低下、腹部膨満、呼吸音異常、立毛、被毛の汚れ及び啼鳴がみられた。これらの所見は主として高用量群にみられ、Lu AA21004 の薬理作用が関連しているものと考えられた。試験 1 日目に、250 mg/kg BID を投与した雌 1 例に運動失調及び痙攣前駆症状が認められた。

投薬したすべての雄で、血液学的検査において好中球性顆粒球の増加、血液生化学的検査においてアルカリホスファターゼ（ALP）値の上昇が認められた。

肝臓では、大理石模様化、白色巣あるいは白色結節並びに、黄色化あるいは退色等の投薬に関連する肉眼的変化がみられた。さらに、胆嚢においては、黄色液及び／あるいは硬質粒子若しくは白色/緑色物質で構成される内容物貯留による膨張が認められた。

腎臓の絶対重量は、150 又は 250/200 mg/kg/日の雌で高く、腎臓の体重相対重量は 250/200 mg/kg/日の雌で高かった。しかし、これらの変化は血液生化学的検査における腎障害に関連するパラメータあるいは病理組織学的検査における変化と関連していなかった。

肝臓では、投薬との関連を示唆する組織学的変化として、軽微～軽度の肝細胞質内空胞化（200 mg/kg/日の雌でその程度が強かった）、100 及び 150 mg/kg/日の雄にのみ認められた多巣性の肝細胞壊死、胆管周囲炎及び門脈の炎症、並びに胆嚢及び肝内胆管における結晶の析出（100 及び 150 mg/kg/日の雄に主に認められた）等が認められた。しかしながら、肝臓における壊死性変化は限局的で分布に特徴がみられなかったため、投薬との関連性は明らかではなく、投薬による毒性よりもむしろ細菌感染による変化と考えられた。したがって、次のマウスを用いた 4 週間毒性試験で所見を詳細に検討した。

Lu AA21004 の TK は、サテライト群の動物で評価した。4 週間強制経口投与後の定常状態での TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-2 に示す。

曝露量（Cmax 及び AUC(0-24)）は、用量に比例して増加した。最低用量の 50 mg/kg/日を除き、曝露量は、試験 1 日目と比較すると、25 日目（100～150 mg/kg/日）及び 28 日目（250/200 mg/kg/日）で低かった。

性差に関しては、雄で雌より曝露量が高く、20%～50%の差があった。

肝臓が毒性標的臓器であると考えられた。一般状態並びに肝臓及び腎臓所見に基づき、Lu AA21004 の 4 週間経口投与試験から得たマウスの NOAEL は、雌雄とも 50 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-2　マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 25 日	50	雄	1797	1	11,828
		雌	1485	1	9361
	100	雄	2851	2	21,950
	150	雌	1985	1	16,162
	150	雄	3703	4	31,592
	200	雌	2310	2	22,925

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

2.6.6.3.2.2 マウスを用いた 4 週間強制経口投与毒性試験 II

：添付資料番号 4.2.3.2-4（評価）

本試験の目的は、マウスに Lu AA21004 を 4 週間強制経口投与したときの全身毒性を評価し、先に実施したマウスにおける 4 週間毒性試験でみられた肝臓変化を確認することである[4.2.3.2-4, 概要表 2.6.7.7B]。

Lu AA21004 を 4 週間にわたり CD-1 マウスに対し、雄では各群 12 例の 4 群に 0（溶媒対照）、50、100、150 mg/kg/日の用量で、雌では各群 12 例の 4 群に 0（溶媒対照）、50、150、200 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。さらに雌雄マウス各 21 例を Lu AA21004 の各投与群に、雌雄マウス各 9 例を対照群に割り付け、TK 評価のために用いた。

試験期間を通じ死亡例は認められなかった。雌においては高用量の 200 mg/kg/日まで、雄においては高用量 150 mg/kg/日まで、明らかな毒性の症状は認められず、概ね良好な忍容性を示した。

200 mg/kg/日の雌では、摂餌量及び飼料利用効率が低かった。

150 mg/kg/日の雄で血漿中 ALP、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の高値が観察された。200 mg/kg/日の雌及び 150 mg/kg/日の雌雄では総コレステロール濃度が低かった。150 又は 200 mg/kg/日の雌で、クロライド濃度がやや高く、リン濃度がやや低かった。すべての投薬群の雄において、やや低いリン濃度が認められた。すべての投薬群の雌ではアルブミン濃度が高く、α-2、β-、及び γ-グロブリン濃度がやや低かったため、アルブミン/グロブリン（A/G）比が上昇した。

200 mg/kg/日の雌において、4 週間投与後の剖検で肝臓に小葉構造明瞭化が高頻度にみられた。100 mg/kg/日の雄 2 例並びに 150 mg/kg/日の雌雄各 3 例で肝臓の小葉構造の明瞭化、150 mg/kg/日の雄及び 200 mg/kg/日の雌ならびに 100 mg/kg/日の雄 2 例で胆嚢に異常内容物がみられた。

病理組織学的検査では、100 又は 150 mg/kg/日の雄で肝細胞の壊死巣（炎症性細胞浸潤の程度増悪及び有糸分裂像の増加を伴う）及び胆管過形成（門脈域炎症細胞を伴う）の発現頻度及び程度が用量依存性に増加した。150 mg/kg/日の雄 8 例及び 100 mg/kg/日の雄 1 例では胆

管周囲線維化が観察され、150 mg/kg/日の雄 5 例では胆管内に結晶性物質も認められた。雌では、投薬に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

Lu AA21004 の TK は、サテライト群の動物で評価した。4 週間強制経口投与後の定常状態での TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-3 に示す。

曝露量（Cmax 及び AUC(0-24)）は、用量に比例して増加した。性差に関しては、雄マウスの方が雌マウスよりも曝露量が高く、40%～60%の差があった。

マウスを用いた 4 週間反復毒性試験により、肝臓がマウスにおける標的臓器であることが確認された。血液生化学的検査及び病理組織学的所見に基づき、4 週間経口投与試験から得られたマウスにおける NOAEL は、雄は 50 mg/kg/日、雌は 200 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-3　マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 28 日	50	雄	1360	1	10,893
	50	雌	806	4	6876
	100	雄	1751	1	14,155
	150	雌	1564	8	17,344
	150	雄	3618	2	40,756
	200	雌	2059	4	23,008

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

2.6.6.3.2.3 マウスを用いた 13 週間強制経口投与毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）**

本試験の目的は、マウスに Lu AA21004 を 13 週間強制経口投与したときの全身毒性を評価することである[4.2.3.2-5, 概要表 2.6.7.7C]。

Lu AA21004 を CD-1 マウスに、雄は各群 12 例の 4 群に 0（溶媒対照）、12.5、25 又は 50 mg/kg/日の用量で、雌は各群 12 例の 4 群に 0（溶媒対照）、50、150、又は 200 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。さらに雌雄マウス各 33 例を Lu AA21004 の各投与群に、雌雄マウス各 18 例を対照群に割り付け、TK 評価のために用いた。

用量の選択は、先に実施した 4 週間試験の結果[4.2.3.2-3, 4.2.3.2-4]に基づいた。

主試験群において死亡例は認められなかったが、TK 試験動物で 2 例の偶発的死亡が発生した。

投薬 5 週目以降、150 又は 200 mg/kg/日の雌に散発的な自発運動亢進がみられた。

200 mg/kg/日の雌では、体重増加抑制及び飼料利用効率低下がみられた。25 又は 50 mg/kg/日の雄の摂餌量、体重増加量及び飼料利用効率は、投薬 1 週目にやや高かった。

血液生化学的検査では、200 mg/kg/日の雌で血漿中 ALP 活性の高値がみられ、同群の雌 1 例では、ALT 及び AST 活性も高かった。雌ではすべての投与群で用量依存的に、雄では 50 mg/kg/日のみで総コレステロール濃度の低値が、みられた。総コレステロール濃度は、雌では総トリグリセリド濃度の低下を伴っていたが、雄では総トリグリセリド濃度は増加していた。雄ではすべての投与量で血漿中リン濃度が低かった。

200 mg/kg/日の雌において、腎臓及び肝臓の重量が高値を示した。

剖検では、50 mg/kg/日の雄 1 例、150 mg/kg/日の雌 3 例及び 200 mg/kg/日の雌 6 例の胆嚢に異常内容物が確認された。

病理組織学的変化が肝臓及び胆嚢にみられた。肝臓では、150 又は 200 mg/kg/日の雌の門脈／門脈周囲域に、胆管周囲線維化、胆管過形成及び炎症性細胞がみられた。200 mg/kg/日の雌では、肝細胞壊死巣も観察された。200 mg/kg/日の雌 8 例、150 mg/kg/日の雌 4 例及び 50 mg/kg/日の雄 3 例の胆嚢内に結晶性物質がみられた。

Lu AA21004 及び代謝物 Lu AA34443 の TK は、サテライト群の動物で評価した。Lu AA21004 及び Lu AA34443 の 13 週間強制経口投与後の定常状態での TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-4 及び表 2.6.6.3-5 に示す。

代謝物 Lu AA34443 に対する曝露量は、雌では用量比で増加し、雄では用量比以上に増加した。直接比較可能な投与量 50 mg/kg/日における Lu AA21004 曝露量は、雄では雌の 2 倍であったが、代謝物の曝露量は、雌雄同程度であった。

雌マウスにおいては肝臓が標的臓器と考えられた。肝臓及び胆嚢の所見に基づき、13 週間経口投与毒性試験におけるマウスの NOAEL は、雌雄とも 50 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-4　マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 13 週	12.5	雄	815	1	3623
	50	雌	762	4	6371
	25	雄	999	2	6373
	150	雌	1071	1	10,771
	50	雄	1451	8	12,695
	200	雌	1185	2	13,109

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

表 2.6.6.3-5　マウスへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-8) (ng·hr/mL)
投薬 13 週	12.5	雄	75.5	1	189
	50	雌	665	1	1537
	25	雄	162	1	331
	150	雌	951	1	4943
	50	雄	1091	1	1668
	200	雌	1415	1	6351

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

2.6.6.3.3 ラットを用いた反復投与毒性予備試験

2.6.6.3.3.1 ラットを用いた最大耐量（MTD）推定のための強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-6（参考）

本試験の目的は、Lu AA21004 を反復経口投与した場合の Han Wistar 系ラットの MTD を決定することである[4.2.3.2-6, 概要表 2.6.7.6]。試験は、混餌検体の嗜好性評価、混餌投与での MTD 試験及び 1 日 2 回強制経口投与での MTD 試験の 3 部に分割して実施した。

生死、一般状態観察結果、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び肉眼病理観察結果を記録した。

ラットではLu AA21004の消失半減期が短いため、混餌投与が最も適切な投与経路と考え、名目の用量として、500、1000 及び 1500 mg/kg/日を餌に混ぜて投与した。混餌投与による MTD 試験において 4 日間投与したところ、嗜好性の問題により、摂餌量低下及び著しい体重減少がみられた。そのため、混餌投与は中止し、1 日 2 回の強制経口投与に投与経路を変更した。

強制経口投与の用量は、0（溶媒対照）、20、40、及び 80 mg/kg BID（1 群当たり雌雄各 5 例）で 10 日間以上投与した。また、試験 4 日目からは 100 mg/kg BID（雌雄各 2 例）を追加して 8 日間投与した。さらに投与可能最大用量を投与するため、試験 5 日目以後、20 mg/kg BID 投与群は 150 mg/kg BID へと用量を増量した。反復投与後、100 mg/kg BID を投与した雌 2 例中 1 例が試験 9 日目に、150 mg/kg BID の雄 5 例中 1 例が 10 日目に死亡した。軽微な鎮静作用がすべての投薬群で認められ、80 mg/kg BID 以上を投与した雄には中等度の鎮静作用が認められた。投薬群では振戦、わずかな流涎、軟便若しくは水様便（雌雄の高用量群のみ）及び被毛粗造が認められた。150 mg/kg BID の雄 2 例では、試験 10 日目及び 11 日目に赤色尿がみられた。80 mg/kg BID 以上を投与した雄では、体重減少及び摂餌量減少が、100 及び 150 mg/kg BID を投与した雌では、投与期間の後期数日間に体重減少のみが認められた。

雄では、80 mg/kg BID 以上の投与群で血小板数、好中球数及び空胞化リンパ球数の高値、並びにリンパ球数の低値がみられた。雌では、血小板数の高値（40 mg/kg BID 以上投与群）、白血球数の高値（80 mg/kg BID 投与群）、好中球数及び空胞化リンパ球数の高値（すべての群）がみられた。また、雄では 80 mg/kg BID 以上の群でクレアチニン、尿素及びクロライドの用量依存的な高値、投薬各群でトリグリセリドの低値、100 mg/kg BID 以上の群で ALP の低値がみられた。雌では、ALT（すべての投薬群）及びリン（80 mg/kg BID 以上投与群）の高値、尿素（150 mg/kg BID 投与）、コレステロール及びトリグリセリドの低値（80 mg/kg BID 以上）がみられた。

80 mg/kg BID 以上を投与した雄では、絶対及び相対腎臓重量の高値のほか、白色/黄白色粒子を含み肉眼的に大理石模様化し腫大した腎臓及び拡張した尿管が観察された。また、雄では副腎重量の高値（100 mg/kg BID で絶対値増加、80 mg/kg BID 以上で相対値増加）もみられた。さらに、80 mg/kg BID 以上の雄では、唾液腺の絶対重量低値、並びに脳及び精巣の相対重量の高値、並びに脾臓、胸腺、前立腺、精嚢の重量低値もみられた。雌では、脾臓の絶対及び相対重量、唾液腺の絶対重量の低値（80 mg/kg BID 以上）、並びに胸腺の絶対及び相対重量の低値（すべての投薬群）が認められた。

腎臓の病理組織学的検査では、80 mg/kg BID 以上を投与したすべての雄で、近位尿細管に変化がみられた。150 mg/kg BID を投与した雄 3 例で腎臓の血管に血栓がみられ、うち 1 例では血管周囲に肉芽腫性炎を伴っていた。80 mg/kg BID 及び 100 mg/kg BID を投与した各群の雄各 2 例に外膜の炎症を伴う尿管の軽微な拡張がみられた。また、80 mg/kg BID を投与した雄 1 例では外膜に血栓も認められた。腎臓所見の病因及び発現機序はこの段階では不明であった。しかしながら、得られた所見から、Lu AA21004 の投与に関連しているものと考えられた。

雄ラットでは 80 mg/kg BID 投与により腎臓に病理組織学的所見がみられ MTD を上回るものと判断された。雌ラットでは、100 mg/kg BID では死亡がみられ、80 mg/kg BID では非特異的な毒性がみられた。

2.6.6.3.4 ラットを用いた主要な反復投与毒性試験

2.6.6.3.4.1 ラットを用いた 4 週間強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-7（評価）

本試験の目的は、ラットに 4 週間 1 日 2 回強制経口投与したときの、Lu AA21004 の全身毒性を評価することである[4.2.3.2-7, 概要表 2.6.7.7D]。

Han Wistar 系ラット各群雌雄各 10 例の 4 群に、0（溶媒対照）、10、20、又は 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を 4 週間強制経口投与した。さらに雌雄ラット各 18 例を各 Lu AA21004 投与群に割り付け、TK 評価のために用いた。

先に実施した MTD 試験結果[4.2.3.2-6]に基づいて用量を設定した。

試験期間を通じ死亡例は認められなかった。投与 2 週までに、40 mg/kgBID を投与した雌で、体重及び体重増加量が増加した。一般状態観察では、投薬群のすべての動物において、投与時の流涎のみが用量依存的にみられた。線条導管及び腺房細胞の脱顆粒及び／あるいは腺房細胞の萎縮が唾液腺において認められ、唾液分泌亢進による二次的変化と考えられた。40 mg/kg BID を投与した雄の副腎の病理組織学的検査で、皮質の軽微なびまん性肥大がみられ、関連する所見として副腎重量の高値がみられたが、本所見の原因は不明である。

Lu AA21004 の TK は、サテライト群の動物で評価した。4 週間強制経口投与後の定常状態での TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-6 に示す。

Lu AA21004 の曝露は用量依存的に増加したが、AUC は用量比を上回り増加した。

副腎における病理組織学的所見に基づき、NOAEL は、20 mg/kg BID と判断した。

表 2.6.6.3-6　ラットへ Lu AA21004 を 4 週間反復強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 29 日	10	雄	89.5	2(a)	677
		雌	138	2(a)	924
	20	雄	343	2(a)	2039
		雌	475	2(a)	3099
	40	雄	892	2(a)	7322
		雌	779	2	9390

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

(a) 毎日の 2 回目の投与後の時間

2.6.6.3.4.2 ラットを用いた 13 週間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-8（評価）

本試験の目的は、ラットに 1 日 2 回 13 週間強制経口投与したときの、Lu AA21004 の全身毒性及び潜在的免疫毒性を評価することである[4.2.3.2-8, 概要表 2.6.7.7E]。また、4 週間の回復期間を設定し毒性変化の可逆性を評価した。

Han Wistar 系ラット各群雌雄各 10 例の 4 群に、0（溶媒対照）、10、20、あるいは 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を 13 週間強制経口投与した。さらに雌雄ラット各 5 例を対照群及び高用量群にそれぞれ割り付け、13 週間投与後の 4 週間の休薬による回復性を評価した。さらに雌雄ラット各 18 例を各 Lu AA21004 投与群に割り付け、TK 評価に用いた。

用量の選択は、先に実施した 4 週間強制経口投与毒性試験[4.2.3.2-7]の成績に基づいた。

試験期間中に死亡例は認められなかった。20 あるいは 40 mg/kg BID を投与した動物に流涎がみられ、10 mg/kg BID を投与した動物でも低頻度にみられた。20 又は 40 mg/kgBID を投与した雌では、飼料利用効率の増加を伴う体重及び体重増加量の増加がみられた。40 mg/kg BID を投与した雌で回復期間の第 1 週に軽微な体重減少がみられた。

20 あるいは 40 mg/kg BID を投与した雄及び 40 mg/kg BID を投与した雌の尿に結晶（針状又は塊状）が投与終了時に認められた。腎臓に対する影響に関連している可能性のある変動として、投与 13 週時点の尿検査において、尿中電解質の変動（ナトリウム、カリウム及びクロライドの高値：20 及び 40 mg/kg BID の雄、ナトリウム及びカリウムの低値：40 mg/kg BID の雌）、pH の高値（10、20 及び 40 mg/kg BID の雌雄）並びに尿比重及び尿量の変動（尿比重の低値/尿量の高値：20 及び 40 mg/kg BID の雄、尿量の低値：40 mg/kg BID の雌）が認められた。投与 6 週時点でみられた尿蛋白の低値（40 mg/kg BID の雌）は投与 13 週時点では認められなかった。これら統計学的に有意な変動はいずれも軽微であり、雌雄で逆方向の変動がみられる、また、腎臓の病理組織学的検査結果と必ずしも一致していないことから、いずれの変動も生物学的／毒性学的な意義は低いと考えられた。剖検では、40 mg/kg BID を投与した動物において腎臓重量の高値がみられ、同群の雄 3 例で糸球体腎炎が認められた。

投薬群のすべての雄及び 40 mg/kg BID を投与した雌において肝臓への影響として、肝臓重量の増加及び小葉中心性肝細胞肥大がみられた。40 mg/kg BID を投与した雄 2 例で小葉中間帯肝細胞空胞化、雄 1 例で胆管内に結晶性物質がみられた。肝臓の病理組織学的所見に関連している可能性のある変動として、投与 13 週時点の臨床病理学的検査において、アルカリホスファターゼ活性の高値（20 及び 40 mg/kg BID の雌雄）、血漿中蛋白の高値（10、20 及び 40 mg/kg BID の雄）、カルシウムの高値（20 及び 40 mg/kg BID の雄）、血小板数の低値（40 mg/kg BID の雄）及び PT の延長（10、20 及び 40 mg/kg BID の雄、40 mg/kg BID の雌）が認められた。これら統計学的に有意な変動はいずれも軽微であり、生物学的／毒性学的な意義は低いと考えられた。なお、投与 6 週時点で観察された APTT の短縮（10、20 及び 40 mg/kg BID の雌雄）及びグルコースの高値（40 mg/kg BID の雌雄）は、投与 13 週時点では認められなかった。

血小板数低値、ALP 活性高値、カルシウム高値、肝臓重量高値及び 40 mg/kgBID 投与した雄 1 例でみられた糸球体腎炎を除き、大部分の変化は、投与終了後 4 週間で少なくとも部分的な回復性がみられた。

リンパ球イムノフェノタイピング及びナチュラルキラー細胞機能検査では、Lu AA21004 の免疫毒性を示唆する所見はみられなかった。

Lu AA21004 及び代謝物 Lu AA34443 の TK は、サテライト群の動物で評価した。13 週間強制経口投与後の定常状態における Lu AA21004 の TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-7 に、Lu AA34443 については表 2.6.6.3-8 に示す。

Lu AA21004 の曝露は用量依存的に増加したが、13 週時点での AUC は用量比を上回り増加した。Lu AA21004 の曝露に明らかな雌雄差はなかったが、代謝物 Lu AA34443 の AUC は、雄ラットは雌ラットの約 2 倍であった。

病理組織学的所見に基づき、Lu AA21004 を 13 週間経口投与した場合の NOAEL は、雄ラットで 20 mg/kg BID、雌ラットで 40 mg/kg BID と判断した。

表 2.6.6.3-7 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 13 週	10	雄	146	1.0	839
		雌	151	1.0	1,061
	20	雄	392	12(a)	3112
		雌	481	1.0	3056
	40	雄	908	14(b)	11,436
		雌	852	12(a)	9836

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。
(a) 2 回目の投与後 2 時間と同じ
(b) 2 回目の投与後 4 時間と同じ

表 2.6.6.3-8 ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 13 週	10	雄	1397	1.0	8749
		雌	881	1.0	4575
	20	雄	2219	12(a)	19,105
		雌	1551	1.0	10,999
	40	雄	3484	12(a)	44,025
		雌	2017	12(a)	19,932(b)

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。
(a) 2 回目の投与後 2 時間と同じ
(b) AUC(0-16)

2.6.6.3.4.3 ラットを用いた 26 週間強制経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-9（評価）

本試験の目的は、ラットに 1 日 2 回 26 週間強制経口投与したときの、Lu AA21004 の全身毒性を評価することである[4.2.3.2-9, 概要表 2.6.7.7F]。12 週間の回復期間を設定し、毒性変化の可逆性を評価した。

Han Wistar 系ラット各群雌雄各 12 例の 4 群に、0（溶媒対照）、10、20、又は 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を 26 週間強制経口投与した。また雌雄ラット各 6 例を対照群及び高用量群にそれぞれ割り付け、26 週間投与後の 12 週間の休薬による回復性を評価した。さらに各 18 例の雌雄ラットを各 Lu AA21004 投与群に、各 3 例の雌雄ラットを対照群に割り付け、TK 評価のために用いた。

用量の選択は、13 週間強制経口投与毒性試験[4.2.3.2-8]の成績に基づいた。

試験期間中に、5 例の死亡例（2 例の TK 評価用動物を含む）が認められた。40 mg/kg BID を投与した雄 1 例は、投薬 15 週目に瀕死状態となったため切迫安楽死処分した。本例には尿路系の変化がみられ、死因に関連すると考えられた。このラットにみられた変化は、計画剖検時点に雄で観察された所見に類似していたが、その程度は弱かった。したがって、投薬との関連性を否定できなかった。

投薬 1 週目に、20 及び 40 mg/kg BID を投与した雌で体重増加量が増加した。

一般状態観察では、投薬群で流涎が散見された。

投薬 13 週及び投薬終了時点で、20 mg/kg BID を投与した雄並びに 40 mg/kg BID を投与した雌雄の尿に結晶が認められ、雄では尿電解質、尿比重及び尿量に変動がみられた。剖検では、40 mg/kg BID を投与した雄に腎臓重量の高値がみられ、腎臓の退色、腫大及び顆粒状並びに腎盂拡張を伴っていた。40 mg/kg BID を投与した雄の腎臓では、閉塞に起因すると考えられるさまざまな病理組織所見として、尿細管／腎盂乳頭／糸球体における結晶性物質、尿細管の好塩基性化／再生性過形成、集合管の拡張、尿細管の拡張、腎乳頭壊死／縮小、腎盂上皮及び／あるいは腎乳頭上皮の過形成、尿細管及び／あるいは腎乳頭の炎症、並びに間質の線維化及び腎盂拡張がみられた。

腎機能に対する影響を示唆する変化として、投与 26 週時点の尿検査及び血液生化学的検査において、尿中の血液混在（40 mg/kg BID の雄）、尿比重及び尿量の変動（尿比重の低値/尿量の高値：40 mg/kg BID の雄）、尿中電解質の変動（ナトリウムの低値：10、20 及び 40 mg/kg BID の雄、カリウムの低値：20 及び 40 mg/kg BID の雄）及び血漿中電解質の変動（ナトリウムの高値：20 及び 40 mg/kg BID の雄、カルシウムの高値：20 mg/kg BID の雄及び 40 mg/kg BID の雌雄、カリウムの高値：20 及び 40 mg/kg BID の雌、リンの高値：40 mg/kg BID の雄、クロライドの高値：40 mg/kg BID の雌雄）が認められた。このうち、尿中の血液混在は毒性所見と考えられたが、他のパラメータでみられた統計学的に有意な変動はいずれも軽微であることから、生物学的／毒性学的な意義は低いと考えられた。

肝臓への影響として、20 及び 40 mg/kg BID を投与した雌で、肝臓重量の高値がみられた。40 mg/kg BID を投与した雌雄で異常内容物を含み膨張肥厚した胆管がみられ、関連する病理組織所見として、20 あるいは 40 mg/kg BID を投与した雌雄（主に雄）で胆管過形成、並びに 40 mg/kg BID を投与した雄 1 例及び雌 3 例における胆管過形成を伴う胆管周囲炎がみられた。また、40 mg/kg BID を投与した雌雄で胆管内結晶性物質、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の巣状壊死及び色素沈着マクロファージがみられた。肝細胞の巣状壊死は、20 mg/kg BID を投与した雌雄各 1 例でもみられた。胆管の変化は、20 あるいは 40 mg/kg BID でみられた血漿中 ALP 活性高値の原因である可能性が考えられ、一方、肝細胞の変化は、血漿中尿素、凝固時間及び血漿中蛋白濃度にみられた変動の原因と推定される。

大部分の変化は、投薬中止後に回復性が示された。回復期間終了時点の病理組織学的検査において腎臓及び肝臓（胆管過形成）に所見が認められ、完全回復はみられなかったが、いずれの器官においても所見の発現頻度又は所見程度の低下がみられ、また、関連する所見の消失がみられたことから、休薬により回復性があることが示された。

Lu AA21004 及び代謝物 Lu AA34443 の TK は、サテライト群の動物で評価した。26 週間強制経口投与後の定常状態での Lu AA21004 に関する TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-9 に、Lu AA34443 については表 2.6.6.3-10 に示す。

Lu AA21004 の曝露は用量依存的に増加したが、10 mg/kg と 20 mg/kg の用量間で用量比を上回って増加した。未変化体の曝露に明らかな雌雄差はなかったが、代謝物 Lu AA34443 の AUC は、雄ラットで雌ラットより高かった。

肝臓及び腎臓所見に基づき、Lu AA21004 を 26 週間経口投与した場合のラットの NOAEL は、10 mg/kg BID と判断した。

表 2.6.6.3-9　ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 26 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 26 週	10	雄	192	3	1471
		雌	173	1	1026
	20	雄	575	1	4644
		雌	540	12(a)	4120
	40	雄	NC	NC	NC
		雌	NC	NC	NC

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。NC=TK 分析のための血漿中濃度データ数が不十分のため計算せず。
(a) Tmax 値は、2 回目投与の 2 時間後に該当。

表 2.6.6.3-10　ラットへ Lu AA21004 を 1 日 2 回 26 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 26 週	10	雄	1722	1	9792
		雌	1030	1	5261
	20	雄	2618	1	24,589
		雌	1778	1	14,632
	40	雄	NC	NC	NC
		雌	NC	NC	NC

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。NC=TK 分析のための血漿中濃度データ数が不十分なため計算せず。

2.6.6.3.5 イヌを用いた反復投与毒性予備試験

2.6.6.3.5.1 イヌを用いた最大耐量（MTD）推定のための強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-10（参考）

本試験の目的は、Lu AA21004 を反復経口投与後のビーグル犬の MTD を推定すること、及び 4 週間毒性試験における用量選択に必要なデータを収集することである[4.2.3.2-10, 概要表 2.6.7.6]。Lu AA21004 溶液を毎日 1 回経口投与した。Lu AA21004 の 10 mg/kg/日あるいは 25 mg/kg/日を 1 週間、15 mg/kg/日を 2 週間投与した（各群 2 例）。

生死、一般状態、体重及び摂餌量を記録し、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。Lu AA21004 の血漿中濃度分析のため、15 及び 25 mg/kg/日の群から血液試料を採取した。

試験を通じ死亡例は認められなかった。主な一般状態所見は、散瞳（すべての投与量）、腹筋収縮（25 及び 15 mg/kg/日投与群）、流涎（25 mg/kg/日でみられ、15 mg/kg/日でも低頻度にみられた）、鎮静（25 mg/kg/日）及び嘔吐（15 mg/kg/日でみられ、25 mg/kg/日でも低頻度にみられた）であった。血液学的及び血液生化学的検査において変化はなかった。

平均 Cmax 到達時間（Tmax）は、15 及び 25 mg/kg/日の投与量で 4 時間であった。15 mg/kg/日と 25 mg/kg/日の用量間では、Cmax 及び AUC(0-inf)ともに用量比以上に増加した。

平均消失半減期は、15 mg/kg/日及び 25 mg/kg/日でそれぞれ 6.9 時間及び 14 時間であった。

腹筋収縮及び嘔吐の一般状態所見に基づき、本試験における概略の致死量は>25 mg/kg、MTD は 25 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.6 イヌを用いた主要な反復投与毒性試験

2.6.6.3.6.1 イヌを用いた 4 週間強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-11（評価）

本試験の目的は、イヌに Lu AA21004 を 4 週間強制経口投与したときの全身毒性を評価することである[4.2.3.2-11, 概要表 2.6.7.7G]。

ビーグル犬各群雌雄各 3 例の 4 群に、0（溶媒対照）、3.75、7.5 又は 15 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を 4 週間強制経口投与した。

試験期間を通じ死亡例は認められなかった。主な一般状態所見は散瞳で、投薬群全例において観察された。また、15 mg/kg/日の全例において、流涎が観察された。15 mg/kg/日の投与 4 週目に、心拍数の低下が観察された。7.5 及び 15 mg/kg/日では、PR 間隔の延長が雌（それぞれ 14.7 及び 16.0 ミリ秒）及び雌雄合計した平均値（それぞれ 13.0 及び 10.5 ミリ秒）で認められた。この変化は、本薬の房室伝導抑制作用を示している可能性が考えられた。

投薬群の血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量パラメータに変動が認められたが、これらと関連する肉眼あるいは病理組織学的変化はなく、いくつかのパラメータの値を除き、すべて正常範囲内であった。15 mg/kg/日のイヌ 6 例中 4 例で軽度の肝細胞空胞化が観察され、肝臓が標的臓器と判断されたが、これらの変化の原因は不明であった。

TK 評価のため、各群のイヌ雌雄各 3 例から血液試料を採取した。4 週間強制経口投与後の定常状態での TK パラメータの概要を、表 2.6.6.3-11 に示す。

TK に明らかな性差はみられなかった。Cmax 及び AUC（0-24）は用量に依存して増加し、雌雄いずれも用量比を上回る増加がみられた。

NOAEL は、3.75 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-11　イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 28 日	3.75	雄	101	2.0	817
		雌	83.9	2.7	667
	7.5	雄	154	1.7	1459
		雌	208	1.7	1638
	15	雄	731	1.0	5378
		雌	504	2.0	4950

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。

2.6.6.3.6.2 イヌを用いた 13 週間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験
：添付資料番号 4.2.3.2-12（評価）、4.2.3.2-13（参考）及び 4.2.3.2-14（参考）

本試験の目的は、イヌに Lu AA21004 を 13 週間強制経口投与したときの全身毒性を評価することである。また、4 週間の回復期間における毒性変化の回復性を評価した[4.2.3.2-12, 概要表 2.6.7.7H]。

用量の選択は、先に実施した 4 週間強制経口投与毒性試験[4.2.3.2-11]の成績に基づいて行った。

当初、本試験ではビーグル犬各群雌雄各 3 例の 5 群に、0（溶媒対照）、3.75、5、7.5 及び 15 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を強制経口投与した。回復性評価のため、さらに雌雄各 2 及び 3 例を対照群及び高用量群にそれぞれ割り付けた。しかしながら、投与 2 日目に歩行異常、衰弱、多尿、興奮及び異常発声といった著しい反応並びに痙攣により 15 mg/kg/日群の雌 1 例を早期安楽死処分したため、この群の投与を中断し、その 4 週間後に用量を 10 mg/kg/日に変更して投与を再開した。さらに、10 mg/kg/日の投与においても投与 2 日目に痙攣により別の雌イヌを早期安楽死処分する等、15 mg/kg/日でみられたものと類似した反応がみられたため、雌雄各 3 例を再度割り付けし（群 5A、表 2.6.6.3-12 及び表 2.6.6.3-13）、7.5 mg/kg/日の用量で 13 週間投薬し、その後 4 週間の回復期間を設けた。他の雄 2 例については 7.5 mg/kg/日での投薬は行わず、回復性評価に用いた。

投与量 7.5 mg/kg/日では、いずれのイヌにも痙攣はみられなかった。

痙攣についてさらに検討するため、毒性の発現機序に関する試験（2.6.6.8.4.1）を実施した。

主な一般状態所見は、散瞳あるいは縮瞳不完全で、すべての投薬群で用量依存的な発現頻度で観察された。この変化は休薬により完全に回復した。この他、活動性低下、振戦及び多尿などの症状が 5 あるいは 7.5 mg/kg/日の雄で主に投薬開始から 2 週までに発生した。さらに、7.5 mg/kg/日の雄 1 例において投薬 1 週及び 7 週に、一過性の異常歩行、異常発声を伴う攻撃的行動、立毛及び流涎がみられた。また、同一例では、投薬 7 週に筋痙攣がみられた。

7.5 mg/kg/日では、血漿中 AST 活性、グルコース及び蛋白濃度の増加が認められ、本薬の肝臓に対する影響が示唆されたが、病理組織学的検査や器官重量測定では変化は認められなかったため、投薬に起因する肝臓代謝の軽微な変化を示しているものと考えられた。

5 あるいは 7.5 mg/kg/日の動物で胸腺の退縮／萎縮がみられたが、対照動物 1 例でもみられ、用量依存性はなかった。投薬動物での胸腺における退縮／萎縮発現例数の増加は、ストレスを示唆している可能性が考えられた。

TK 評価のため、1 群当たり雌雄各 3 例のイヌから血液試料を採取した。13 週間強制経口投与後の定常状態での平均 TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-12 に示す。

Lu AA21004 の Cmax 及び AUC(0-24)は、用量に比例して増加した。曝露量は総じて雄の方が雌よりも高かった。

13 週間強制経口投与後の Lu AA34443 に関する定常状態での平均 TK パラメータの概要を表 2.6.6.3-13 に示す。TK パラメータは、バリデーションされていない方法で測定された濃度[4.2.3.2-13 及び 4.2.3.2-14, 概要表 2.6.7.7H]である。

Lu AA21004 の投与量増加にともない、Lu AA34443 に対する全身暴露量は概ね用量に比例して増加した。

7.5 mg/kg/日を超える用量での痙攣所見に基づき、NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-12　イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	群	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 91 日	3.75	2	雄	147	3.3	1293
		2	雌	139	2.7	1057
	5	3	雄	255	2.0	2027
		3	雌	192	2.0	1514
	7.5	4	雄	304	2.7	2960
		4	雌	245	2.0	1920
	7.5	5A*	雄	348	2.7	3361
		5A*	雌	299	3.3	2917
	7.5	4+5A*(a)	雄	326	-	3161
		4+5A*(a)	雌	272	-	2419

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。
*群 5A は、以前に 15 mg/kg/日を 2 回投与し、4 週間後に 10 mg/kg を 1 回投与したイヌで構成した。
(a) 群 4 及び 5A を合わせた曝露量（91 日）

表 2.6.6.3-13　イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 13 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	群	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 91 日	3.75	2	雄	482	2.0	5464
		2	雌	544	2.0	5454
	5	3	雄	599	2.0	5708
		3	雌	742	2.0	7506
	7.5	4	雄	899	2.0	9597
		4	雌	1021	2.0	9388
	7.5	5A*	雄	1011	2.0	10,351
		5A*	雌	844	2.0	10,365
	7.5	4+5A*(a)	雄	955	-	9974
		4+5A*(a)	雌	933	-	9877

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。
*群 5A は、以前に 15 mg/kg/日を 2 回投与し、4 週間後に 10 mg/kg を 1 回投与したイヌで構成した。
(a) 群 4 及び 5A を合わせた曝露量（91 日）

2.6.6.3.6.3 イヌを用いた 52 週間強制経口毒性試験及び 12 週間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-15（評価）

本試験の目的は、イヌに 1 日 1 回 52 週間、Lu AA21004 を強制経口投与したときの全身毒性を評価することである。また、12 週間の回復期間における毒性変化の回復性を評価した[4.2.3.2-15, 概要表 2.6.7.7I]。

ビーグル犬各群雌雄各 4 例の 4 群に、0（溶媒対照）、3.75、5 及び 7.5 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を強制経口投与した。回復性評価のため、さらに雌雄各 2 例を対照群及び高用量群にそれぞれ割り付けた。

用量の選択は、13 週間強制経口投与毒性試験[4.2.3.2-12]の成績に基づいて行った。

試験期間を通じ死亡例は認められなかった。5 mg/kg/日群（雄のみ）及び 7.5 mg/kg/日群において散瞳がみられ、その程度、持続性及び発現頻度とも用量に依存していた。投薬終了後は急速な回復がみられた。投薬開始から数週間、5 及び 7.5 mg/kg/日で摂餌量の軽微な減少がみられた。

投薬各群の雄及び 7.5 mg/kg/日の雌で血漿中グルコースの軽微な上昇がみられたが、投薬に関連する他の所見は認められなかった。

Lu AA21004 及び代謝物 Lu AA34443 の TK 評価のため、対照群及び 7.5 mg/kg/日群は雌雄各 6 例、3.75 及び 5 mg/kg/日は雌雄各 4 例のイヌから血液試料を採取した。52 週間強制経口投与後の Lu AA21004 に関する定常状態での平均 TK パラメータを表 2.6.6.3-14 に示す。Lu AA34443 については表 2.6.6.3-15 に示す。

Lu AA21004 の Cmax 及び AUC(0-24)は、用量比以上に増加した。

Lu AA21004 を 52 週間経口投与した場合の NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6.3-14　イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 52 週間強制経口投与後に測定した Lu AA21004 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (a) (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 52 週	3.75	雄	133	2	1270
		雌	88.9	2	679
	5	雄	205	2	2251
		雌	225	2	1978
	7.5	雄	309	3	3052
		雌	289	2	3150

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。
(a) 中央値

表 2.6.6.3-15　イヌへ Lu AA21004 を 1 日 1 回 52 週間強制経口投与後に測定した Lu AA34443 の TK パラメータ（平均）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (a) (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 52 週	3.75	雄	NC	NC	NC
		雌	NC	NC	NC
	5	雄	NC	NC	NC
		雌	NC	NC	NC
	7.5	雄	963	2	9547
		雌	NC	NC	NC

下線値は、無毒性量（NOAEL）での投与量及び TK パラメータを示す。NC=TK 分析のための信頼できる血漿濃度データ数が十分でなかったため計算せず [4.2.3.7.7-6]。
(a) 中央値

2.6.6.4 遺伝毒性試験

Lu AA21004 の遺伝毒性を検討するため、復帰突然変異試験（Ames 試験）、ヒト培養リンパ球での *in vitro* 染色体異常試験、並びにラット骨髄を用いた *in vivo* 小核試験を実施した。これら遺伝毒性試験の結果を以下に示す。

2.6.6.4.1 *in vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 *in vitro* 復帰突然変異試験

：**添付資料番号 4.2.3.3.1-1（評価）**

本試験では、Lu AA21004 が細菌において遺伝子突然変異を誘発するか否かを評価した [4.2.3.3.1-1, 概要表 2.6.7.8A]。Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9 を用い、代謝活性物質の存在下

及び非存在下の両条件下で、細胞毒性レベルまでの各濃度で Ames 試験を実施した。用いた試験菌株は、TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2 pKM101 及び WP2*uvr*A pKM101 で、プレート法及びプレインキュベーション法の 2 つの手法で試験を実施した。プレート法による細胞毒性は、ラット肝 S9 非存在下では 37.5 µg/plate～300 µg/plate、ラット肝 S9 存在下では 150 µg/plate～300 µg/plate の濃度範囲でみられた。プレインキュベーション法による細胞毒性は、ラット肝 S9 非存在下では 9.375 µg/plate～75 µg/plate、ラット肝 S9 存在下で 75 µg/plate ～300 µg/plate の濃度範囲でみられた。

陽性対照物質は、復帰突然変異株数を統計的に有意に増加させ（Bonferroni 法、p=0.001）、試験の検出感度及び代謝活性化系の活性化が適切であることが示された。

Lu AA21004 処理プレートの復帰変異コロニー数については、陰性対照プレートと比較して、統計的に有意な増加は観察されなかった。

ラット肝代謝活性化系の非存在下及び存在下のいずれの条件でも Lu AA21004 は遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

2.6.6.4.1.2 *in vitro* 細胞遺伝学的試験（染色体異常試験）

：添付資料番号 4.2.3.3.1-2（評価）

本試験では、Lu AA21004 が培養ヒト末梢血リンパ球において染色体異常を誘発するか否かを検討した。Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9 の非存在下及び存在下において各濃度で試験し、有糸分裂抑制の程度に基づき、染色体異常分析のための薬物濃度を選択した[4.2.3.3.1-2, 概要表 2.6.7.8B]。

本試験において最も強い細胞毒性を誘発した条件は、以下の通りであった。

S9 非存在下で濃度 6.83 µg/mL の 3 時間曝露（有糸分裂を 53.6%抑制）

S9 存在下で濃度 22.6 µg/mL の 3 時間曝露（有糸分裂を 65.2%抑制）

S9 非存在下で濃度 8.68 µg/mL の 20 時間曝露（有糸分裂を 54.3%抑制）

陽性対照物質は、統計的に有意に染色体異常細胞数を増加させ（Fisher の正確検定、p=0.001）、試験の検出感度及び代謝活性化系の活性化能力が適切であることが示された。

本試験の結果、Lu AA21004 処理により、陰性対照と比較して、染色体異常細胞の出現頻度に統計的に有意な増加は観察されなかった。

ラット肝代謝活性化系の非存在下及び存在下のいずれの条件でも、Lu AA21004 は培養ヒト末梢血リンパ球において染色体異常を誘発しないと結論した。

2.6.6.4.2 *in vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 ラット骨髄を用いた *in vivo* 小核試験

：添付資料番号 4.2.3.3.2-1（評価）

本試験では、Wistar Crl:WI ラット骨髄を用いて小核試験を実施し、Lu AA21004 が染色体異常又は異数性変化を誘発するか否かを評価した[4.2.3.3.2-1, 概要表 2.6.7.9]。

用量及び性別の選択は、雌雄各 3 例に投与した初期の用量設定試験に基づいて行った。毒性に性差はなかったため、主試験では雄を用いた。

溶液での投与可能最大用量を最高用量として選択した。1 群当たり雄ラット 6 例に 0（溶媒）、125、250、及び 305 mg/kg を 1 日 1 回、2 日間強制経口投与した。陽性対照群（雄 6 例）に

は 20 mg/kg の用量でシクロホスファミドを単回投与した。最高用量 305 mg/kg/日での曝露量を測定するためにサテライト群動物 3 例を加えた。

投与直後に全例で流涎が認められた。305 mg/kg を投与した 3 例のサテライト動物の Cmax の平均値は、Lu AA21004 は 1444 ng/mL、代謝物 Lu AA34443 は 6223 ng/mL であった。

陽性対照（シクロホスファミド投与）群では、1 例を除き、いずれの動物でも多染性赤血球中での小核出現頻度の著明な増加がみられた。Lu AA21004 投与動物において、小核の誘発は認められなかった。

ラット骨髄を用いた *in vivo* 小核試験では、Lu AA21004 は投与可能最大用量 305 mg/kg/日においても小核を誘発しないと結論した。

2.6.6.5 がん原性試験

がん原性試験では、ラット及びマウスに生涯投薬した場合の Lu AA21004 の発がん性を評価した。ヒトにおける毒性変化を予測可能な種として受け入れられていること、並びに既知発がん物質に対する感受性が知られていることから、試験動物種として CD-1 マウス及び Wistar Han 系ラットを選択した。

マウスには 103 週間（雄）／104 週間（雌）の強制経口投与、ラットには 104 週間の強制経口投与により、がん原性試験を行った[4.2.3.4.1-1, 4.2.3.4.1-2]。米国食品医薬品局がん原性試験評価委員会（FDA ECAC）にがん原性試験計画のレビューを受けるために、マウス及びラット反復投与毒性試験データとがん原性試験計画書案を提出した。Lu AA21004 のがん原性試験は、ECAC 推奨用量に従い、雄マウスに対しては 5、15 及び 50 mg/kg/日、雌マウスに対しては 10、30 及び 100 mg/kg/日、雄ラットに対しては 2、7 及び 20 mg/kg BID、雌ラットに対しては 5、15 及び 40 mg/kg BID の用量で実施した。Lu AA21004 は強制経口投与した。対照動物には、溶媒（マウス及びラットに対してそれぞれ 15% HP-β-CD 水溶液及び 10% HP-β-CD 水溶液と 4.4%ブドウ糖液の混合液）を投与した。

2.6.6.5.1 マウスを用いた用量設定試験

マウスを用いた 2 年間のがん原性試験の投与量を選択するための用量設定試験として、4 週間反復投与毒性試験[4.2.3.2-3, 4.2.3.2-4]及び 13 週間反復投与毒性試験[4.2.3.2-5]を行った。これらの試験成績は反復投与毒性試験の項（2.6.6.3.2）に記載済みである。

2.6.6.5.2 マウスを用いた 2 年間がん原性試験

2.6.6.5.2.1 マウスを用いた 2 年間強制経口投与がん原性試験

：**添付資料番号 4.2.3.4.1-1（評価）**

本試験の目的は、Lu AA21004 を Crl:CD-1（ICR）マウスへ経口投与した場合の Lu AA21004 の発がん性を評価することである[4.2.3.4.1-1, 概要表 2.6.7.10A]。投与期間は、雌は 104 週間、雄は 103 週間であった。雄は、対照群の生存数が 102 週で 25 例を下回ったため早期安楽死処分した。雄では各 60 例の 3 群に 5、15 及び 50 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を投与し、雌では各 60 例の 3 群に 10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を投与した。同例数の対照（溶媒投与）群には、投薬期間にわたり、同用量の投与溶媒（15% HP-β-CD）を投与し