た。さらに対照群及び各投薬群に雌雄各 21 例を割り付け、曝露量の評価のための血液試料採取に用いた。

生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、生体試料中薬物濃度分析（曝露量の評価）、剖検及び病理組織学的検査を実施した。本試験でみられた数種類の腫瘍の発生率の増加は、科学諮問グループ（Scientific Advisory Group）が評価した。

投薬 1、13、26、104 週（雄）及び 105 週（雌）の投与後 2 時間及び 24 時間時点で採取した血漿試料を用いて、Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の濃度を測定した。Lu AA21004 及びその代謝物に対するマウスの曝露量は、先に実施したマウスにおける反復経口投与毒性試験で得られた曝露量と同程度であり、曝露量は用量依存傾向を示した。

動物の行動及び外観は投薬による影響を受けず、投与後の症状又は死亡に対する影響はなかった。触診可能な腫瘤の群間の分布、多発性及び平均発生時期は、投薬による影響を受けなかった。体重増加量及び摂餌量に対する影響はなかった。

103／104 週での血液学的検査値は、投薬による影響はなかった。

肉眼検査により、肝臓及び胆管系に投薬に関連する変化がみられた。肝臓においては、50 mg/kg/日の雄に腫瘤形成及び退色巣の発生頻度の増加がみられ、100 mg/kg/日の雌に退色巣の発生頻度の増加がみられた。胆管系では、50 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日の雌で胆嚢内異常内容物の発生頻度増加、並びに 50 mg/kg/日の雄で胆嚢及び胆管の拡張の発生頻度増加がみられた。

50 mg/kg/日の雄では、肝細胞腺腫の発生頻度の増加がみられた。雌では腫瘍発生頻度の増加はなかった。

肝臓・胆管系では投薬に関連した非腫瘍性病変がみられた。肝臓では、50 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日の雌で、胆管周囲線維化あるいは炎症、胆管内結晶性物質、胆管過形成並びに胆管上皮細胞内好酸性封入体がみられた。胆嚢では、50 mg/kg/日の雄 2 例及び 100 mg/kg/日の雌 1 例で上皮過形成、50 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日の雌で内腔における結晶性物質及び内腔拡張の増加、並びに 15 mg/kg/日の雄 1 例及び 100 mg/kg/日の雌数例で上皮における好酸性細胞質内封入体がみられた。肝外胆管では、50 mg/kg/日の雄数例で内腔における結晶性物質、上皮下における線維増生及び炎症／浮腫、並びに上皮過形成がみられ、内腔における結晶性物質は 100 mg/kg/日の雌 1 例でもみられた。これらの変化の発生頻度及び程度は、雄マウスの方が高かった。

CD-1 マウス雄に 50 mg/kg/日の Lu AA21004 を経口投与することで、肝臓における腫瘍性変化（肝細胞腺腫）の発生頻度の増加がみられた。また、雄の 50 mg/kg/日及び雌の 100 mg/kg/日の投与により胆管系内腔中結晶性物質がみられ、その結晶性物質による刺激の結果として肝胆道系で広範囲な二次的炎症性変化が発生したと考えられる。高用量の雄における良性腫瘍性変化の発生頻度の増加は、持続的な肝傷害に起因する非遺伝毒性メカニズムにより生じたものと思われた。Lu AA21004 の投薬に関連する腫瘍形成についての無影響量は、雄で 15 mg/kg/日、雌で 100 mg/kg/日であった。本試験における全体的な NOAEL は、腫瘍性変化及び非腫瘍性変化の両方を考慮し、雄は 15 mg/kg/日、雌においては 30 mg/kg/日と結論した。

2.6.6.5.3 ラットを用いた用量設定試験

ラットを用いた 2 年間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、13 週間[4.2.3.2-8]及び 26 週間[4.2.3.2-9]反復投与毒性試験を行った。これらの試験成績は反復投与毒性試験の項[2.6.6.3.4]に記載済みである。

2.6.6.5.4 ラットを用いた 2 年間がん原性試験

2.6.6.5.4.1 ラットを用いた 2 年間強制経口投与がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.1-2（評価）

本試験の目的は、Wistar Han（Crl: WI（Han））系ラットに 1 日 2 回（投与間隔 10 時間）104 週間強制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[4.2.3.4.1-2, 概要表 2.6.7.10B]。それぞれ雌雄各 55 例からなる 3 群を設け、雄に対しては 2、7 及び 20 mg/kg BID、雌に対しては 5、15 及び 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を投与した。同例数の対照群（溶媒投与）には、投与期間を通じて同用量の溶媒（10% HP-β-CD に 4.4%ブドウ糖一水和物を混合）を投与した。背景データを得るため、同例数の水投与対照群（検体調製用水）を設定した。さらに雌雄各 15 例を対照群及び各投薬群に割り付け、曝露量評価のための血液試料採取に用いた。

生死、一般状態、体重、摂餌量、飲水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、生体試料中薬物濃度分析（曝露量の評価）、尿検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。本試験でみられた数種類の腫瘍の発生率の増加は、科学諮問グループ（Scientific Advisory Group）が評価した。

投薬 1 日目並びに 13、26 及び 105 週に投薬動物から得られた血漿試料を用いて、Lu AA21004 及びその代謝物の曝露量を測定した結果、先に実施したラットを用いた反復経口投与毒性試験で得られた曝露量よりも高く、曝露量は用量依存傾向を示すことを確認した。

死亡率が 40 mg/kg BID の雌で増加した。

動物の行動及び外観、並びに触診可能な腫瘤の群間の分布、多発性及び平均発生時期は、投薬による影響を受けなかった。体重増加量及び摂餌量に対する影響はなかった。

投薬 52 週及び 104 週における血液学的検査では、20 mg/kg BID の雄で赤血球数の軽微な低値及び平均赤血球容積の軽度の高値、投薬 104 週に 20 mg/kg BID の平均赤血球ヘモグロビン量の高値、並びに 7 mg/kg BID あるいは 20 mg/kg BID の平均赤血球ヘモグロビン濃度の高値がみられた。雌では、投薬 52 週において 40 mg/kg BID で赤血球数の軽微な高値がみられ、15 mg/kg BID あるいは 40 mg/kg BID で平均赤血球ヘモグロビン濃度の軽微な高値、平均赤血球容積の軽微な低値がみられたが、投薬 104 週ではこれらの変化は明らかではなかった。白血球数の変動として、7 又は 20 mg/kg BID の雄において投薬 52 週に単球数の高値が、40 mg/kg BID の雌では投薬 52 週及び 104 週に好中球数及び単球数の高値がみられ、これらの結果として高用量動物の総白血球数が軽微な高値を示した。

投薬 104 週における血液生化学的検査では、20 mg/kg BID の雄及び 5、15、又は 40 mg/kg BID の雌における ALP 活性の高値、15 あるいは 40 mg/kg BID の雌における尿素濃度の低値、15 あるいは 40 mg/kg BID の雌におけるリン濃度の高値、15 あるいは 40 mg/kg BID の雌におけるカリウム及びカルシウム濃度の高値がみられた。

投薬 103 週の尿検査では、雄の投薬各群で尿量及び尿蛋白濃度の用量依存的な高値がみられ、40 mg/kg BID の雌で尿蛋白濃度の高値及び軽微な尿比重の高値がみられた。40 mg/kg BID の雌の尿中では、結晶物の増加が認められた。

投薬に関連する肉眼的変化が、肝臓、直腸、肝外胆管、腸間膜リンパ節及び腎臓でみられた。20 mg/kg BID の雄及び 40 mg/kg BID の雌において、腫瘤の発生頻度の若干の増加がみられた。

投薬に起因する良性腫瘍が肝臓及び腸間膜リンパ節でみられた。20 mg/kg BID の雄及び 40 mg/kg BID の雌で、肝細胞腺腫の発生頻度が対照群に比べて高かった。これら肝臓における良性腫瘍の発生頻度の増加は、胆管過形成、胆管炎及び胆管における結晶物を特徴とする持続的な肝傷害に起因する、非遺伝毒性メカニズムにより生じたものと推定された。7 及び 20 mg/kg BID の雄では、腸間膜リンパ節における良性血管腫の発生頻度が対照群に比べて高かった。この良性腫瘍はラットに特異的なものであり、この種における血管増殖性刺激に対する過度の感受性に関連するものと考えられた[1][2]。

数例のポリープ様直腸腺腫が、高用量群の雌ラットでみられた。HP-β-CD はラットの大腸粘膜に対して成長促進作用があり、ラットに特異的な大腸のポリープ状腫瘍発生の原因となるという知見から、この所見は、使用した溶媒に起因する大腸の上皮過形成及び炎症に関連していると考えられた[3][4]。また、溶媒対照群も含むすべての投与群で大腸粘膜の過形成がみられたことから、ポリープ様直腸腫瘍は、HP-β-CD に起因する炎症及び過形成（表 2.6.6.5-1）に関連するものであり、Lu AA21004 投与は関連しないものと考えられた。

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]

群／性別 投与量 (mg/kg BID)	1M 0	2M 0	3M 2	4M 7	5M 20	1F 0	2F 0	6F 5	7F 15	8F 40
上皮過形成										
軽微	1	16	4	7	10	1	24	16	17	18
軽度	2	7	5	4	7	0	10	6	7	7
中等度	0	0	3	0	1	0	3	1	1	1
合計	3	23	12	11	18	1	37	23	25	26
粘膜炎症										
軽微	0	4	1	1	3	0	7	3	6	4
軽度	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
合計	0	4	1	2	4	0	7	3	6	4
検査動物数	54	55	55	55	55	55	55	55	55	52

1M 及び 1F:対照群（水）
2M 及び 2F:対照群（溶媒）

投薬に関連する非腫瘍性変化が、肝臓、胆管、腎臓、胃及び腸間膜リンパ節でみられた。20 mg/kg BID の雄及び 15 あるいは 40 mg/kg BID の雌では、肝臓の門脈域に結晶が認められた。付随した変化として、胆管過形成及び拡張並びに胆管炎／胆管周囲炎がみられた。さらに、40 mg/kg BID の雌では、多胞性胆管嚢胞、胆管周囲線維化及び肥満細胞症の発症頻度の増加がみられ、15 あるいは 40 mg/kg BID の雌では肝細胞壊死の発生頻度の増加がみられた。7 あるいは 20 mg/kg BID の雄では、空胞化を伴う小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度及び程度の増加がみられた。20 mg/kg BID の雄及び 15 あるいは 40 mg/kg BID の雌の肝外胆管には結

晶がみられ、胆管拡張、胆管上皮過形成及び線維化の発生頻度及び程度の増加を伴っていた。結晶は、20 mg/kg BID の雄及び 15 あるいは 40 mg/kg BID の雌の腎臓においても認められた。結晶は腎皮質の尿細管拡張を伴い、40 mg/kg BID の雌では、慢性進行性腎症及び間質性腎炎の発症頻度が増加し、うち数例の動物では尿細管に細胞性円柱が認められた。20 mg/kg BID の雄では胃の腺胃領域で腺拡張の発生頻度増加がみられ、40 mg/kg BID の雌ではこの変化の発生頻度及び程度の増加がみられた。腸間膜リンパ節では、40 mg/kg BID の雌にマクロファージ集簇及び洞組織球症の発現頻度及び程度の増加がみられ、20 mg/kg BID の雄に血管腫様過形成がみられた。

腫瘍性変化についての無影響量は、雄で 2 mg/kg BID、雌で 15 mg/kg BID であった。腫瘍性変化及び非腫瘍性変化の双方を考慮し、本試験における全体的な NOAEL は、雄は 2 mg/kg BID、雌は 5 mg/kg BID と結論した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

Lu AA21004 が生殖パラメータに及ぼす有害作用について検討する目的で、ラットを用いた受胎能試験、出生前及び出生後の発生への影響の評価、並びにラット及びウサギを用いた発生毒性試験を行った。

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

2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚・胎児発生に関する試験のための強制経口投与用量設定試験

：**添付資料番号** 4.2.3.5.1-1（**参考**）、-2（**参考**）

下記の受胎能及び初期胚発生に関する試験の用量を選択するため、Sprague-Dawley 系ラットにおける Lu AA21004 の影響を検討する 2 つの用量設定試験を行った[4.2.3.5.1-1 及び 4.2.3.5.1-2, 概要表 2.6.7.11]。

最初の試験[4.2.3.5.1-1]では、雌雄ラットに Lu AA21004 を投与した場合の生殖機能への影響を検討した。5、15 及び 40 mg/kg BID の投与において、雄、雌あるいは F1 世代に影響は認められなかった。

第 2 の試験[4.2.3.5.1-2]では、60 mg/kg BID を投与した場合の忍容性を検討した。雌雄両性のラットに Lu AA21004 の 60 mg/kg BID の用量を 14 日間投与した結果、影響は認められなかった。

2.6.6.6.1.2 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する強制経口投与試験

：**添付資料番号** 4.2.3.5.1-3（**評価**）

本試験では、雌雄ラットに Lu AA21004 を投与した場合の受胎能及び初期胚発生への影響を検討した[4.2.3.5.1-3, 概要表 2.6.7.12]。

性成熟した Sprague-Dawley 系ラット（各群雌雄各 20 例）に、0（溶媒対照）、20、40 及び 60 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を強制経口投与した。雄には交配前 29 日間、交配期間中及び剖検の前日まで投与した。雌には交配前 15 日間、交配期間中及び妊娠 6 日まで投与した。

一般状態、体重及び摂餌量を記録した。雌は妊娠 13 日に安楽死処分し剖検を実施し、黄体数、着床数及び生存胎児数を調べた。妊娠率確定後、雄は安楽死処分し剖検後、精巣及び精

巣上体を摘出し、精巣の重量を測定し、精子評価を行った。交配前の投薬期間の最終日に、曝露量測定のため、投与前並びに初回投与後 2 時間及び 10 時間時点で血液試料を採取した。

60 mg/kg BID 群の雄 2 例は、人道的な理由で早期安楽死処分した。それらの例では、死亡前に体表温低下、異常歩行、自発運動低下、過剰流涎、円背位、斜頚、立毛及び尿道口からの赤色分泌物がみられた。剖検では、摂餌物で膨張した胃、尿管拡張、重篤な腎盂拡張及び腎臓における白色結晶性物質（試験報告書には結石と記載）がみられた。他の例には、投薬に関連すると考えられる所見あるいは死亡はなかった。

60 mg/kg BID の雄で体重の増加抑制（29～32 日、39～50 日、並びに 1～57 日）及び摂餌量の低下が試験後半にみられた。60 mg/kg BID の雌では、交配前投与期間の試験 1～8 日目及び妊娠 0～7 日に摂餌量が低かった。60 mg/kg BID の雌の妊娠期間中における摂餌量の低値を除く値はいずれも背景データの範囲内に収まっていたことから、60 mg/kg BID の雌の妊娠期間中における摂餌量の低下のみ毒性学的な意義がある所見と考えられた。

雌雄の受胎能及び交配能力、黄体数、着床数、生存胎児数、並びに着床前及び着床後胚死亡率に対し、Lu AA21004 による影響はなかった。交配前発情周期や交配所要日数にも影響はなかった。

40 あるいは 60 mg/kg BID の雄で腎臓に腎盂拡張がみられ、発現頻度は用量依存的に増加した。60 mg/kg BID では、腎臓に白色あるいは黄色の結晶性物質（試験報告書には「結石」と記載）及び／あるいは白色物質を伴う尿管拡張も観察された。また、顎下リンパ節の大型化の発現頻度の増加が用量依存的にみられた。

Lu AA21004 は、精巣の絶対重量あるいは体重比重量に影響を及ぼさず、また、精子検査でもその影響はみられず、毒性学的な意義があると考えられる精子の形態学的所見はなかった。雌では、剖検で Lu AA21004 の投与に関連した所見はなく、妊娠パラメータへの影響はなかった。

Lu AA21004 並びにその代謝物 Lu AA34443 及び Lu AA39835 の曝露について確認した。20 から 60 mg/kg BID の用量間では、Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の最大血漿中濃度は、概ね用量に比例して増加した。

雌雄ラットに 20 mg/kg BID の Lu AA21004 を投与した場合の Lu AA21004 及び Lu AA34443 の血漿中濃度は、26 週間強制経口投与毒性試験と本試験との間で大きな差異はみられなかった。

NOAEL は、雄の一般毒性については 20 mg/kg BID（血漿試料の採取時点は限られているが、試験 29 日目のデータに基づくと Cmax で 311 ng/mL に相当）、雄の受胎能については 60 mg/kg BID（同じく試験 29 日目のデータに基づくと Cmax で 783 ng/mL に相当）と判断した。NOAEL は、母体の一般毒性については 40 mg/kg BID（血漿試料の採取時点は限られているが、試験 15 日目のデータに基づくと Cmax で 579 ng/mL に相当）、雌の受胎能及び着床までの初期胚発生については 60 mg/kg BID（同じく試験 15 日目のデータに基づくと Cmax で 557 ng/mL に相当）と判断した。

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

広範な背景データが利用可能であることから、発生毒性試験に適切な齧歯類としてラットを選択した。Sprague-Dawley 系ラットは、良好な受胎能力及び繁殖力から、生殖発生毒性試験で一般的に用いられている。

発生毒性試験に適切な非齧歯類としてウサギを選択した。ニュージーランドホワイトウサギは多くの既知ヒト催奇形性物質に対して感受性があり、自然発生奇形率についても背景データの蓄積がある。

2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験のための強制経口投与用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-1（参考）

胚・胎児発生毒性試験のための投与量を選択するため、Lu AA21004 の用量設定試験を行った[4.2.3.5.2-1, 概要表 2.6.7.11]。

妊娠したと推定される Sprague-Dawley 系ラット各群 6 例に、妊娠 6～17 日（17 日目を含む）の間、Lu AA21004 を 0（溶媒対照）、10、20、30 及び 40 mg/kg BID の用量で強制経口投与した。

体重、摂餌量及び一般状態を記録した。試験期間の完了時点にあたる妊娠 20 日に帝王切開を実施し、母動物の内臓器官に肉眼的異常があるかどうかを調べた。胎児を子宮から摘出し、体重測定及び雌雄判別し、外表異常を検査した。胎盤重量も記録した。

Lu AA21004 の経口投与による死亡例はみられなかった。一般症状として、40 mg/kg BID で鼻分泌物を示す動物数の増加、並びに用量依存的な摂餌量の減少があった。0（溶媒対照）、10、20、30 及び 40 mg/kg BID 投与群に対し、それぞれ 6、6、4、5 及び 6 例の妊娠を確認した。黄体数、着床数、着床前及び着床後胚死亡率及び生存胎児数は、対照群と同程度であった。Lu AA21004 投与動物において、平均胎児重量、胎盤重量あるいは胎児の性比への影響はなかった。

以上の結果から、用量依存的な摂餌量減少を母体毒性と判断し、本試験での用量として 5、15 及び 40 mg/kg BID を選択した。

2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生毒性に関する強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（評価）、-3（評価）

胚・胎児発生毒性評価のため、ラットの器官形成期に Lu AA21004 を投与する本試験（主試験）を 2 つ実施し、胚・胎児発生に対する影響を検討した。最初の試験[4.2.3.5.2-2, 概要表 2.6.7.13A]では、0（溶媒対照）、5、15 及び 40 mg/kg BID の Lu AA21004 を投与した。2 回目の試験[4.2.3.5.2-3, 概要表 2.6.7.13B]では、より強い母体毒性を惹起するため、60 及び 80 mg/kg BID を投与した。

最初の試験[4.2.3.5.2-2]では、各群 24 例の妊娠 Sprague-Dawley 系ラットに妊娠 6 から 17 日（17 日を含む）まで、0（溶媒対照）、5、15 及び 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を強制経口投与した。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 20 日にすべての母動物を剖検し、主要臓器を観察した。妊娠の有無を評価し、黄体数、着床数及び生存胎児数を記録した。生存胎児の体重測定及び雌雄判別を行い、外表異常がないかどうか検査した。胎盤重量も記録し

た。各腹の半数の胎児を内臓検査に、残りの胎児は実体顕微鏡下での解剖に供し、臓器を検査し、胎児から内臓を摘出した。続いてカーカスを処理して骨化した骨格を視覚化し、骨格変異及び異常がないか検査した。胎児の生存又は形成を損なう形態的先天異常は、重度の異常として、他の外部欠陥は軽度の異常として分類した。

全身曝露量の測定のため、妊娠 6 日（1 日 2 回の第 1 回目の投与後 2 及び 10 時間）並びに妊娠 17 日（投与前、1 日 2 回の第 1 回目の投与後 2 時間及び 10 時間時点）に、各群 3 例から血液試料を採取した。

試験期間中、早期安楽死処分例あるいは死亡例はなかった。Lu AA21004 投与群のいずれにも、投薬に関連すると考えられる一般状態変化はみられなかった。

Lu AA21004 のいずれの投薬群にも、体重又は総体重増加量に対する影響はなかった。投薬群、特に 40 mg/kg BID 群で妊娠 6～9 日の期間に対照群と比較して統計的に有意な摂餌量の減少がみられ、40 mg/kg BID 群では摂餌量は妊娠 17 日まで減少し続けた。投与を中止すると、対照群を含むすべての群で摂餌量が増加した。

剖検では、投薬に関連する肉眼的所見はなかった。母体への投薬は、黄体数、着床数、生存胎児数あるいは着床前胚死亡率に影響を及ぼさなかった。胎児体重あるいは胎児の性比にも投薬による影響はなかった。投薬群では、着床後胚死亡率の軽微な増加がみられたが、雌 1 例当たりの平均生存胎児数については、対照群との比較において影響はなかった。

胎児の重度異常の発現頻度には投薬による影響はみられなかった。観察された軽度の異常は、主に骨化遅延及び尿管拡張の発生頻度増加であった。これらの所見は、発生に対する一過性の影響を示すものであり、胎児の発育異常を意味する変化ではないと考えられた。

AUC(0-10)を測定するために使用した、投与後 0、2 及び 10 時間時点（n=3）での推定血漿中濃度の概要を表 2.6.6.6-1 に示す。

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）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	C0hr (ng/mL)	C02hr (ng/mL)	C10hr (ng/mL)	AUC(0-10) (ng/hr/mL)
妊娠 6 日	5	NA	24.5	4.78	155
	15	NA	125	20.0	985
	40	NA	507	212	4477
妊娠 7 日	5	4.18	29.8	7.16	176
	15	35.8	194	68.6	1224
	40	281	955	478(n=2)	6864

C（0、2、10）hr: 投与後 0、2、及び 10 時間時点での推定血漿中濃度。NA=該当せず

C2hr、C10hr 及び AUC(0-10)のいずれの曝露も、用量比以上に増加した。母体毒性に対する NOAEL は 15 mg/kg BID、発生毒性に対する NOAEL は 40 mg/kg BID と判断した。

2 回目の主試験[4.2.3.5.2-3]では、各群 20 例の妊娠 Sprague-Dawley 系ラットに、妊娠 6 から 17 日（17 日を含む）まで、0（溶媒対照）、60、又は 80 mg/kg BID の Lu AA21004 を強制経口投与した。

一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 20 日にすべての雌を剖検し、主要臓器を観察した。妊娠の有無を評価し、黄体数、着床数及び生存胎児数を記録した。生存胎児の体重測

定及び雌雄判別を実施し、外表異常がないかどうか検査した。胎盤重量も記録した。各腹の半数の胎児を内臓検査に、残りの胎児は実体顕微鏡下での解剖に供し、臓器を検査し、胎児から内臓を摘出した。続いてカーカスを処理して骨化した骨格を視覚化し、骨格変異及び異常がないか検査した。胎児の生存又は形成を損なう形態的先天異常は、重度の異常として、他の外部欠陥は軽度の異常として分類した。

全身曝露量を測定するため、妊娠 17 日に各群 3 例の動物から血液試料を採取した。

試験期間中には、投薬に関連する早期安楽死処分例又は死亡例はなかった。投薬に関連する所見として、60 又は 80 mg/kg BID を投与した動物において流涎のみが散見された。

妊娠 6～18 日に用量依存的な体重増加抑制が Lu AA21004 投与各群でみられ、投与初日には体重減少もみられた。また投与期間中、投薬群では用量依存的な摂餌量の低下もみられた。

剖検では、Lu AA21004 投与に関連すると考えられる肉眼的所見はなかった。母体への投薬は、黄体数、着床前及び着床後胚死亡数、性比、あるいは生存胎児数に影響を及ぼさなかった。

60 及び 80 mg/kg BID 群においては、投薬に起因した統計的に有意な胎児体重の低下がみられた。胎盤重量は投薬の影響を受けなかった。

胎児の重度異常の発現率に関しては投薬の影響はなかった。胎児の軽度の異常及び変異に統計的に有意な発現率増加がみられたが、それらはいずれも胎児骨格の骨化遅延に関連していた。これは通常、胎児の軽微な発育遅延を示す所見と考えられ、胎児の体重増加抑制をしばしば伴う変化である。

Lu AA21004 投与各群で Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の曝露が確認され、Lu AA21004 及び Lu AA34443 の曝露は、用量とともに増加した。

母体毒性に対する NOAEL は 60 mg/kg BID 未満、発生毒性に対する NOAEL は 80 mg/kg BID と判断した。

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）

分析対象物質	投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-10) (ng·hr/mL)	AUC(10-24) (ng·hr/mL)
Lu AA21004	60	1361	12	7790	11,490
	80	1615	1	11,132	11,550
Lu AA34443	60	3317	12	19,607	27,391
	80	3875	3	29,789	29,132
Lu AA39835	60	10.0	12	62.6	84.3
	80	8.36	12	57.5	79.9

~ Tmax 値は、2 回目投与の 2 時間後に該当。

2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験のための強制経口投与用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-4（参考）、-5（参考）、-6（参考）

3 つの用量設定試験を行った。

最初の試験[4.2.3.5.2-4, 概要表 2.6.7.11]では、非妊娠雌ウサギにおける Lu AA21004 の MTD を検討した。試験は 2 つのフェーズで構成され、フェーズ 1 は MTD を確立することを目的とし、フェーズ 2 では 7 日間の投与期間にわたって MTD 投与の影響を評価した。

フェーズ 1 では、性成熟したニュージーランドホワイトウサギ 3 例に Lu AA21004 を 3 日間連続強制経口投与後（10 mg/kg BID）、2 日間の休薬期間をおき、用量を漸増し、20 mg/kg BID を 3 日間連続して投与した。3 例の雌からなる第 2 群には溶媒のみを投与し、対照群とした。

体重、摂餌量及び一般状態を毎日記録した。20 mg/kg BID の最終投与から 2 日後、20 mg/kg BID を投与した動物を安楽死処分して剖検を実施し、内臓器官の異常の有無を肉眼観察した。

Lu AA21004 を投与した動物では、用量依存的な体重減少がみられた。各用量期間中に、対照群と比較して用量依存的な摂餌量低下がみられた。

フェーズ 2 では 15 mg/kg BID を 7 日間連続投与した。最終投与の翌日、すべての動物を安楽死処分し剖検を行った。

投薬に関連すると考えられる死亡又は一般状態変化はなかった。

体重は、15 mg/kg BID の 7 日間投与期間中にわずかな減少がみられた。投与 2～5 日の群平均摂餌量は投薬前値と比較して低下し、それ以降は回復した。

剖検では、投薬に関連すると考えられる肉眼的所見はなかった。

この試験成績をもとに、発生毒性に関する主試験のための用量を確立することを目的として、2 回目の用量設定試験では 15 mg/kg BID を高用量として設定し[4.2.3.5.2-5, 概要表 2.6.7.11]、器官形成期中に Lu AA21004 を投与した場合のウサギにおける胚及び胎児発生への影響を検討した。

各群 5 例の妊娠ニュージーランドホワイトウサギで構成した 4 群に、Lu AA21004 の 0（溶媒対照）、5、10 及び 15 mg/kg BID を妊娠 6～18 日に強制経口投与した。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 28 日に、すべてのウサギを安楽死処分し剖検を実施し、臓器の肉眼的異常を検査した。黄体数、胚の着床数及び分布（早期吸収胚数又は後期吸収胚数として分類）、生存あるいは死亡胎児数を記録した。胎児を摘出して体重測定し、外表異常の検査を行い、雌雄判別した。胎盤重量も記録した。

妊娠 6 日及び 18 日に、サテライト群の動物 3 例から TK のための血液試料を採取した。サテライト群の雌は、採血後安楽死処分し、妊娠の有無だけをチェックした。

試験期間中、3 例を早期安楽死処分した（妊娠 23 日に対照群で 1 例、5 mg/kg BID 投与群で 1 例、並びに妊娠 27 日に 10 mg/kg BID 投与群で 1 例）。これら 3 例にはいずれも流産の可能性を示す兆候がみられた。

体重、体重増加量及び摂餌量は、対照群を含むすべての投与群で低下し、糞量は摂餌量と共に減少した。5、10 あるいは 15 mg/kg BID 投与群のいずれの群においても、着床数、着床前及び着床後胚死亡率、あるいは雌当たりの生存胎児数に母体投与による影響はみられなかった。また、胎児体重又は胎盤重量、あるいは性比に投薬による影響はみられなかった。剖検では、投薬に関連すると考えられる異常は認められなかった。高用量の 15 mg/kg BID でも予想された母体毒性は誘発されなかったが、MTD 予備試験ではそれよりも高い用量で明確な毒性が示されたことから、15 mg/kg BID がウサギにおける最初の主試験[4.2.3.5.2-7]での高用量として適切であると判断した。

3 回目の用量設定試験[4.2.3.5.2-6, 概要表 2.6.7.11]は、2 回目の主試験[4.2.3.5.2-8]のための用量選択を目的として行い、器官形成期中に Lu AA21004 を投与した場合のウサギにおける胚及び胎児発生に及ぼす影響を検討した。

4 群の妊娠ニュージーランドホワイトウサギ（各群はそれぞれ雌 3、5、5 及び 5 例で構成）に、妊娠 6 から 18 日まで、Lu AA21004 を 0（溶媒対照 – 10% HP-β-CD）、0（溶媒対照 – 超純水）、20 あるいは 30 mg/kg BID の用量で強制経口投与した。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 28 日に、すべての動物を安楽死処分して剖検を実施し、臓器の異常を肉眼的に検査した。妊娠の有無を評価し、黄体数、着床数及び生存胎児数を記録した。胎児を摘出して体重測定し、外表異常の検査を行って雌雄判別した。

著明な体重減少のため、妊娠 23 日に 30 mg/kg BID 投与群の 1 例を早期安楽死処分した。当該動物は摂餌がほぼ廃絶していた。

20 mg/kg BID の 1 例では、床敷きの汚れ及び外陰部からの出血がみられた。投薬群では、投与開始時から体重減少がみられ、摂餌量がほぼ廃絶し糞便量は減少していた。投与終了後には代償的な体重及び摂餌量の増加がみられた。

剖検では投薬に関連する肉眼的所見はなく、母体への投薬は、着床前及び着床後胚死亡率及び生存胎児数に影響を及ぼさなかった。30 mg/kg BID では胎児体重の軽微な低下が認められたが､胎児に外表異常はみられなかった｡妊娠パラメータに影響を及ぼさなかったものの、母体体重及び摂餌量に対しては明らかな影響がみられたことから、30 mg/kg BID をウサギを用いた 2 回目の主試験の高用量とした。

2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生毒性に関する強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-7（評価）、-8（評価）

Lu AA21004 を器官形成期に投与した場合のウサギの胚･胎児発生に及ぼす影響を 2 つの主試験により検討した。1 回目の主試験[4.2.3.5.2-7, 概要表 2.6.7.13C]は、0（溶媒対照）、5、10 あるいは 15 mg/kg BID の用量で実施した。2 回目の主試験[4.2.3.5.2-8, 概要表 2.6.7.13D]は、より強い母体毒性を惹起するため、1 及び 30 mg/kg BID の用量で胚・胎児発生毒性試験を行った。

1 回目の主試験[4.2.3.5.2-7]は､妊娠ニュージーランドホワイトウサギ（各群 20 例の雌）に、妊娠 6 から 18 日まで、0（溶媒対照）、5、10 あるいは 15 mg/kg BID の Lu AA21004 を強制経口投与した。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 28 日に、すべての主試験の雌を安楽死処分して剖検を実施し、臓器の肉眼的異常を検査した。黄体数、胚の着床数及び分布（早期吸収胚数又は後期吸収胚数として分類）、生存又は死亡胎児数を記録した。胎児を摘出して体重測定し、外表異常の検査を行い、雌雄判別した。胎盤重量も記録した。

各腹の半数の胎児を断頭し、頭部は眼、脳、鼻腔及び舌の観察のため切片標本作製に用いた。残りの胎児及び断頭した胎児の体部を用いて実体顕微鏡下で解剖を実施した。臓器を検査し、胎児から内臓を摘出した。続いてカーカスを処理して骨化した骨格を視覚化し、骨格変異及び異常がないか検査した。胎児の生存又は形成を損なう形態的先天異常は、重度の異常として、他の外表異常は軽度の異常として分類した。

妊娠 18 日に、サテライト群の動物から TK のための血液試料を採取した。サテライト群の雌は、採血後安楽死処分し、妊娠の有無のみをチェックした。

試験期間中、死亡例はなかった。

Lu AA21004 は、投与したすべての群の母体で体重減少及び摂餌量減少がみられた。体重は、投薬を開始した妊娠 6 日から減少し妊娠 9 日まで減少し続けた。妊娠 9～12 日の間、体重の著明な変化はなく、妊娠 12～15 日には体重は増加に転じたが、投与期間を通じて体重減少がみられた。摂餌量はすべての投薬群で減少した。体重及び摂餌量への影響は、Lu AA21004 投薬群よりは軽いものの、溶媒対照群動物でも観察された。

Lu AA21004 投与動物の多くが試験中に、とりわけ投与期間中に糞便異常（液状便、軟便、無便、あるいは糞量減少）を示した。

剖検では Lu AA21004 投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

対照群と比較したところ、着床数、着床前及び着床後胚死亡率、あるいは母動物 1 例当たりの生存胎児数に対し、母体への投薬による影響はみられなかった。Lu AA21004 投与群における胎児体重及び胎盤重量は、対照群に比べて低かった。

Lu AA21004 の母体への投与に関連した重度の異常はなかった。骨化遅延を示唆する骨格の軽度異常及び骨格変異の発現率の増加が観察されたが、これは胎児の軽微な発育遅延を示すものと通常考えられ、胎児の体重増加抑制に伴う変化である。

TK パラメータ（n=2-3）は、ノンコンパートメントの方法を使用して算出した。その概要を表 2.6.6.6-3 示す。

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）

投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
5	20.4	2	153
10	138	2	788
15	190	2	1275

Cmax 及び AUC は、5～10 mg/kg BID 投与では用量比を上回って増加し、10 及び 15 mg/kg BID 投与では用量に比例して増加した。

Lu AA21004 を投与したすべての群において、体重減少及びそれに伴う摂餌量減少がみられたため、母体毒性に対する NOAEL は決定できなかった。発生毒性に対する NOAEL は、15 mg/kg BID と考えられた。

2 回目の主試験[4.2.3.5.2-8]では、各群 20 例の妊娠ニュージーランドホワイトウサギ 4 群に、0（溶媒対照 – 10% HP-β-CD）、0（溶媒対照 – 超純水）、1 あるいは 30 mg/kg BID の Lu AA21004 を妊娠 6 から 18 日にわたり強制経口投与した。超純水投与対照群は、ウサギでは個体により HP-β-CD への感受性が異なり、体重及び摂餌量に影響する可能性が示唆されたことから、3 回目の用量設定試験[4.2.3.5.2-6]と同様設定した。すなわち、医薬品の生殖発生毒性についてのガイドライン[5]では、溶媒そのものによる影響の可能性又は溶媒が被験物質の作用に影響を及ぼす可能性があるとき、主試験では第 2 の対照群の設定を考慮すべきであると勧告していることから、溶媒調製で使用する超純水を 2 回目の主試験の追加対照群に投与した。

母体の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。妊娠 28 日に、すべての動物を安楽死処分して剖検を行い、臓器の肉眼的異常を検査した。黄体数、胚の着床数及び分布（早期吸収胚数

又は後期吸収胚数として分類）、生存あるいは死亡胎児数を記録した。胎児を摘出して体重測定し、外表異常の検査を行って雌雄判別した。胎盤重量も記録した。

各腹の半数の胎児を断頭し、頭部は眼、脳、鼻腔及び舌の観察のため切片標本作製に用いた。残りの胎児及び断頭した胎児の体部を用いて実体顕微鏡下で解剖を実施した。臓器を検査し、胎児から内臓を摘出した。続いてカーカスを処理して骨化した骨格を視覚化し、骨格変異及び異常がないか調べた。胎児の生存又は形成を損なう形態的先天異常は、重度の異常として、他の外部欠陥は軽度異常として分類した。

主試験動物と並行して、3 群を追加し、0（溶媒対照 – 10% HP-β-CD）、1 又は 30 mg/kg BID を投与した。妊娠 18 日に TK のための血液試料を採取し、採血終了後これらの動物を安楽死処分した。

試験期間中、6 例の早期死亡がみられたが、いずれも投薬との関連はないと考えられた。

投薬期間において、30 mg/kg BID の雌数例で投与中の排尿がみられ、投薬に関連した症状と考えられた。摂餌量の低下とそれに対応する糞量の減少がすべての群でみられたが、30 mg/kg BID 投与群で所見の持続時間及び頻度が最も高かった。また、この群で妊娠 6～7 日の期間にみられた体重減少は統計的に有意であり、体重の低値は妊娠 28 日まで持続し、統計的に有意に低かった。1 mg/kg BID 投与群においては、妊娠 28 日に統計的に有意な平均体重の低下がみられたものの、体重増加量に対する影響はごくわずかであった。超純水投与対照群と比較したところ、軽微ではあるが統計的に有意な溶媒（10% HP-β-CD）の体重への影響がみられた。

剖検では、毒性学的に意義のある所見はなかった。

30 mg/kg BID 群において、溶媒対照群（10% HP-β-CD）と比較して、統計的に有意な着床前胚死亡数の増加がみられたが、平均総胚死亡数（着床前及び着床後胚死亡数）が対照群（超純水）と同程度だったことから、生物学的意義はないものと考えられた。黄体数または生存胎児数に対する被験物質の影響はなかった。投薬群の妊娠子宮重量は、溶媒対照群（10% HP-β-CD）に比べて軽微ではあるものの統計的に有意に低下していた。これは、1 mg/kg BID 群で母動物 1 例当たりの胎児数が少なく、30 mg/kg BID 投与群で胎児体重がわずかに（投薬とは無関係に）低かったためと考えられた。胎児の体重あるいは性別には投薬による影響はみられなかった。

重度の異常の発現頻度に、投薬の影響はみられなかった。30 mg/kg BID では矮小児数の増加がみられ、母体の摂餌量低下に関連していると考えられた。また、母体の摂餌量低下は、当該群での骨化遅延（胎児発育遅延）の原因になっていると考えられた。

母体の NOAEL 及び発生に対する無影響量（NOEL）は、いずれも 1 mg/kg BID と判断した。

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）

投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
1	2.93	1	10.7(a)
30	272	1	1,900

(a) AUC(0-16)

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）

投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
1	150	4.7	948
30	4500	6.5	39,700

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

2.6.6.6.3.1 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強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.5.3-1（評価）

器官形成期・胎児発育並びに分娩後発育・離乳までの期間に Lu AA21004 を投与し、ラットの出生前及び出生後の発生に Lu AA21004 が及ぼす影響を検討した[4.2.3.5.3-1, 概要表 2.6.7.14]。

各群 22 例の妊娠 Sprague-Dawley 系ラットに、0（溶媒対照）、5、20 あるいは 60 mg/kg BID の Lu AA21004 を妊娠 6 日から哺育 20 日までの期間、強制経口投与した。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量を記録した。母動物を分娩させ、同腹児数及び各性別数を記録した。哺育 4 日に同腹児を間引きし、雌雄各 4 例とした。母動物には、哺育 21 日（離乳予定日）まで残りの出生児を育てさせた。哺育 21 日まで出生児を体重測定及び発育観察し、その過程で 1 群当たり雌雄各 20 例の出生児をさらなる評価（F1 世代試験）のために選択し、残りの出生児は剖検した。F1 動物を成熟させ、母体を介する Lu AA21004 曝露が F1 の成長、発達、行動及び生殖に与える影響を評価した。F1 雄については、交配終了から約 2 週間後に剖検した。F1 雌は妊娠 13 日に剖検し、妊娠の有無、黄体数及び着床数を記録した。

妊娠 6 日及び哺育 11 日に母動物から TK のための血液試料を採取したが、採取頻度が少ないため AUC 又は Cmax の推定は行わず、Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の血漿中濃度について、以前のラット TK 試験から得られた結果との比較のみ実施した。

投薬に起因する死亡はなかった。20 及び 60 mg/kg BID 群では、妊娠 7 日から退色便及び流涎（20 mg/kg BID 群は授乳期間のみ）が散見された。妊娠 6～9 日の間に摂餌量の減少がみられ、60 mg/kg BID 群では分娩まで継続した。60 mg/kg BID 群では妊娠期間中に体重の低値が観察されたが、5 あるいは 20 mg/kg BID 群では影響はみられなかった。授乳期間中、20 あるい 60 mg/kg BID 群で、哺育 1～4 日に体重増加量の減少がみられ、哺育 4～7 日には体重増加量の増加がすべての投薬群にみられた。20 あるいは 60 mg/kg BID 群の授乳期の体重増加量は、対照動物と比較して統計的に有意な高値を示した。

Lu AA21004 投与は妊娠期間及び分娩に影響を及ぼさず、また、着床部位数及び肉眼剖検所見への影響もなかった。

60 mg/kg BID の F1 の生存出生児数、生存率及び哺育指標は、対照群と比較し、軽微ではあったが統計的に有意に低かった。20 及び 60 mg/kg BID では、F1 世代の出生児死亡率は増加していたが、これは出生児剖検時に胃に乳汁がない出生児数の増加と関連していると考えられた。60 mg/kg BID の F1 世代の群平均体重は、哺育期間（哺育 1～21 日）においては対照群よりもわずかに低かった。20 及び 60 mg/kg BID 群において哺育 15 日時点で開眼した出

生児の割合が低値であったことを除いて、哺育期間中の出生児発育観察結果に影響はみられなかった。この開眼遅延出生児数は、60 mg/kg BID 群において統計的に有意に低値であった。

離乳後、F1 世代の一般状態に異常はみられず、Lu AA21004 の母体投与は F1 世代の発育及び行動に影響を及ぼさなかった。

離乳後、60 mg/kg BID 群の F1 雄は、対照群と比較して群平均体重が低く、交配前期間中も対照群より統計的に有意な低値のままであった。20 mg/kg BID 群の F1 雄には、離乳後 8～22 日にかけて統計的に有意な体重増加量の減少がみられた。20 及び 60 mg/kg BID 群の F1 雌では離乳後体重が減少したが、交配までの期間の全体的な体重増加量は対照群と同程度であった。

哺育 0 日では、20 及び 60 mg/kg BID（母体投薬）群の F1 雌は、対照群よりも絶対体重が低かったが、その後の体重への影響はなかった。

投薬による F1 の交配所要日数、受胎率及び妊娠データに対する影響はなく、また剖検でも異常所見はなかった。

26 週間毒性試験[4.2.3.2-9]の投与初日及び 13 週目の投与後 10 時間時点に得られた Lu AA21004 及び Lu AA34443 の血漿中濃度を、本試験での妊娠 6 日及び哺育 11 日の投与後 10 時間時点で得られた血漿中濃度と比較した。本試験における妊娠 6 日における Lu AA21004 及び Lu AA34443 の平均血漿中濃度概算値は、26 週間毒性試験[4.2.3.2-9]の投与初日の値と比較して、それぞれ 2.6 及び 1.6 倍高かった。Lu AA21004 の 1 日 2 回反復投与後（哺育 11 日）において、Lu AA21004 の平均血漿中濃度は、26 週間毒性試験 [4.2.3.2-9]の 13 週目の値よりも 1.6 倍高かった。Lu AA34443 の血漿中濃度に関しては、両試験間で明らかな差はなかった。

母体毒性に関する NOAEL は、20 mg/kg BID（哺育 11 日での限られたサンプル数に基づくと Cmax で 277 ng/mL に相当）と判断した。出生児の発生に対する NOAEL は、5 mg/kg BID（哺育 11 日での限られたサンプル数に基づくと Cmax で 35 ng/mL に相当）と判断した。F1 世代の発達に対する NOAEL は、60 mg/kg BID（哺育 11 日での限られたサンプル数に基づくと Cmax で 1026 ng/mL に相当）と判断した。

2.6.6.6.4 幼若動物毒性試験

2.6.6.6.4.1 幼若ラットを用いた毒性試験のための用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-1（参考）、-2（参考）

Sprague-Dawley 系ラットを用いた幼若毒性に関する主試験のための投与量および投与レジメンを選択するため、TK 試験（第 1 試験）及び用量設定試験（第 2 試験）を行った。

第 1 試験[4.2.3.5.4-1, 概要表 2.6.7.15A]は、各群雌雄各 18 例の幼若ラットに 10、20 又は 40 mg/kg の用量で Lu AA21004 を単回経口投与後、Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の TK を測定した。21 日齢に投与し、TK のための血液試料を投与後 1、2、4、6、10 及び 24 時間に採取した。

いずれの投与量においても、良好な忍容性を示した。

TK パラメータの概要を、表 2.6.6.6-6 に示す。

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）

分析対象物質	Cmax(ng/mL) (雄/雌)	Tmax(hr) (雄/雌)	AUC(0-10) (ng·hr/mL) (雄/雌)
Lu AA21004	10 mg/kg: 151/176 20 mg/kg: 490/467 40 mg/kg: 764/1188	10 mg/kg: 2/1 20 mg/kg: 1/1 40 mg/kg: 1/1	10 mg/kg: 639/740 20 mg/kg: 1878/1833 40 mg/kg: 3948/5064
Lu AA34443	10 mg/kg: 1406/1669 20 mg/kg: 3197/3168 40 mg/kg: 5708/6753	10 mg/kg: 1/1 20 mg/kg: 1/1 40 mg/kg: 1/1	10 mg/kg: 5095/6109 20 mg/kg: 13,375/12,091 40 mg/kg: 22,933/26,299
Lu AA39835	10 mg/kg: 2.27/2.07 20 mg/kg: 3.65/2.94 40 mg/kg: 3.96/3.62	10 mg/kg: 2/2 20 mg/kg: 2/2 40 mg/kg: 1/4	10 mg/kg: 10.3/NC 20 mg/kg: 21.4/17.2 40 mg/kg: 28.6/29.1

NC=計算せず

Lu AA21004 の血漿中濃度が低かったことから、以降の幼若毒性試験は 1 日 2 回投与を採用することにした。

第 2 試験[4.2.3.5.4-2, 概要表 2.6.7.15A]では、Lu AA21004 の幼若ラットに及ぼす影響を評価した。各群雌雄各 12 例の動物に、10、20 及び 40 mg/kg BID の用量で 21 日齢から 48／49 日齢まで投与した。別途、雌雄各 12 例に溶媒のみを投与し対照群とした。

体重、摂餌量及び一般状態を定期的に記録した。性成熟については、雄は 38 日齢に、雌は 28 日齢に評価した。すべての動物について、内臓器官に異常がないか肉眼的に調べた。

21 日齢及び 48 日齢に TK のための血液試料を採取した。

本試験では死亡動物はなかった。一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量には、投薬による影響はみられなかった。

流涎及び投与後に下顎を擦りつける行動が、すべての投薬群の動物に観察された。これは、投与液に対する非特異的な反応と考えられた。

雌の性成熟（膣開口）については、20 又は 40 mg/kg BID の雌に軽微な遅延があった。これは用量依存的な反応であった。

剖検では Lu AA21004 の投与に起因する肉眼的所見はなかった。幼若ラットを用いた主試験での最高用量は 40 mg/kg BID が適切であると判断した。

2.6.6.6.4.2 幼若ラットを用いた強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-3（評価）

幼若ラットにおける Lu AA21004 の毒性を検討するため、主試験を実施した[4.2.3.5.4-3, 概要表 2.6.7.15B]。本試験では、21 日齢のラットに 10、20 あるいは 40 mg/kg BID の用量を 91 日齢まで投与した。試験は、各群雌雄各 12 例からなる主フェーズ、各群雌雄各 12 例からなる回復性フェーズ及び各群雌雄各 20 例からなる生殖フェーズで構成した。同数の例数の群を溶媒対照群として用い、回復性フェーズの動物は投薬後 4 週間休薬させた。

試験期間中、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、性成熟評価、成長測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、神経行動学的検査、自発運動量評価、学習及び記憶検査、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査並びに TK 測定を実施した。

主試験の動物では、投薬起因の死亡はなく、投薬に関連する一般状態変化もみられなかった。体重、摂餌量、尺骨長、性成熟評価、あるいは眼科学的検査にも投薬の影響はなかった。

20 あるいは 40 mg/kg BID を投与した雄及び／あるいは雌では、臨床病理学的パラメータの変化として、プロトロンビン時間の延長（20 mg/kg BID の雌及び 40 mg/kg BID の雌雄）、血漿中アルカリホスファターゼ活性の高値（40 mg/kg BID の雄）、尿素の低値（40 mg/kg BID の雌）、グルコース及びクロライドの高値（20 mg/kg BID の雄及び 40 mg/kg BID の雌雄）並びに尿中クロライド及び尿量の高値（40 mg/kg BID の雌）がみられた。このうち、プロトロンビン時間の延長（10、20 及び 40 mg/kg BID の雄）、血漿中グルコースの高値（40 mg/kg BID の雄）、クロライドの高値（40 mg/kg BID の雌雄）及び尿中クロライドの高値（10、20 及び 40 mg/kg BID の雌）は 4 週間の休薬後もみられた。しかしながら、これら統計学的に有意な変動はいずれも軽微であることから、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。

投与群の雄の自発運動量は対照群に比べて高かった。また、40 mg/kg BID の雄では、驚愕反応強度が高値を示す傾向がみられた。休薬後、これらのパラメータはすべて正常に戻り、完全に可逆的であった。聴覚性驚愕反応における慣れ及びピーク値までの潜時、並びにモリス水迷路試験における学習能力や記憶は投薬による影響を受けなかった。

20 及び 40 mg/kg BID の雌雄において、肝臓の絶対重量及び体重に対する相対重量に高値がみられた。雄は、20 及び 40 mg/kg BID で唾液腺重量のわずかな低値、並びに 40 mg/kg BID で精嚢重量のわずかな低値を示した。休薬後、20 及び 40 mg/kg BID の雄の唾液腺重量に軽微な低値がみられたが、他のすべての器官重量は生物学的変動内であった。

剖検では投薬に関連する肉眼的所見はなかった。投薬と関連する病理組織学的変化が肝臓及び腎臓にみられた。すべての投薬群の雌において、軽微な小葉中心性肝細胞肥大がみられた。20 及び 40 mg/kg BID の雄では、小葉中心性肝細胞の軽微な肥大及び軽微～軽度の空胞化が認められた。これらの所見は部分的又は完全に可逆的であった。軽微な腎臓の鉱質沈着が、すべての投薬群の雌及び 40 mg/kg BID の雄 1 例にみられた。この所見は部分的に回復した。

生殖パラメータ（交配能力、受胎能、着床率、生存出生児数、性比等）には投薬に関連する所見はなかった。40 mg/kg BID を投与した動物からの出生児では、1～7 日齢における生存率は低かった。この群からの出生児は低体重の傾向があり、低体温で胃にほとんどあるいはまったく乳汁がなかった。剖検では、出生児に肉眼的所見がなかった。

Lu AA21004、Lu AA34443 及び Lu AA39835 の AUC(0-10)及び Cmax としての全身曝露量（表 2.6.6.6-7 及び表 2.6.6.6-8）は、10～40 mg/kg BID 投与では、用量比を上回る増加傾向を示した。Tmax は概して 1 時間であった。70 日間の投薬期間で、未変化体及び上記代謝物の曝露量は明瞭に増加した。91 日齢の雌において Lu AA34443 に対する曝露量が雄より低くなる傾向を除けば、未変化体及び上記代謝物の曝露量において明らかな性差はみられなかった。

本試験での NOAEL は 20 mg/kg BID と結論した。

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

分析対象物質	投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL) 雄/雌	Tmax (hr) 雄/雌	AUC(0-10) (ng·hr/mL) 雄/雌
Lu AA21004	10	15.3/14.3	1/1	84.8/73.4
	20	74.3/48.6	1/1	304/279
	40	58.8/117	1/1	388/462
Lu AA34443	10	62.7/86.7	1/1	454/431
	20	350/272	1/5	1451/1593
	40	288/503	5/1	1909/2302
Lu AA39835	10	NC/NC	NC/NC	NC/NC
	20	NC/NC	NC/NC	NC/NC
	40	0.434/NC	5/NC	2.41/NC

NC=計算せず

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

分析対象物質	投与量 (mg/kg BID)	Cmax (ng/mL) 雄/雌	Tmax (hr) 雄/雌	AUC(0-10) (ng·hr/mL) 雄/雌
Lu AA21004	10	83.9/110	1/1	273/325
	20	393/324	1/1	1250/1072
	40	539/718	1/1	2611/3133
Lu AA34443	10	821/540	1/1	3006/1614
	20	2020/1266	1/1	7235/4557
	40	2364/2053	1/1	12,611/9966
Lu AA39835	10	1.28/1.27	1/1	4.40/5.88
	20	3.49/2.08	1/1	14.6/12.5
	40	7.45/3.43	1/5	30.9/30.4

2.6.6.7 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施しなかったが、ラット[4.2.3.7.7-2, 概要表 2.6.7.17E]及びイヌ[4.2.3.7.7-4, 概要表 2.6.7.17F]における 14 日間静脈内投与毒性試験で反復静脈内投与後の Lu AA21004 の局所毒性を評価した。ラットにおいては最大 7 mg/kg BID で、イヌにおいては最大 1.5 mg/kg/日の用量で、10% HP-β-CD と 4.4%ブドウ糖液の混合液から成る溶媒に Lu AA21004 を溶解して反復静脈内投与したところ、Lu AA21004 は良好な忍容性を示した。より高用量投与では、剥離、腫脹及び潰瘍等の局所反応がみられた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

Lu AA21004 の免疫毒性を評価するため、ラットを用いた 13 週間毒性試験[4.2.3.2-8]の一部として免疫毒性評価を行った。イヌの 13 週間毒性試験[4.2.3.2-12]でみられた 2 例の痙攣について検討するため、代謝物 Lu AA34443 による毒性発現の機序に関する試験をイヌを用いて実施した。ラットを用いた 26 週間試験[4.2.3.7.3-1]にて、肝臓及び腎臓における結晶性物質析出に関する機序評価を実施した。ヒトにおける絶対的生物学的利用率試験をサポートするため、静脈内投与による反復投与毒性試験をラット及びイヌを用いて実施した。Lu AA21004

の製造に関連する労働安全衛生アセスメントをサポートするため、Lu AA21004 の皮膚感作能をマウスを用いた局所リンパ節試験（LLNA）[4.2.3.7.7-5]にて評価した。

2.6.6.8.1 免疫毒性

2.6.6.8.1.1 免疫毒性評価

：**添付資料番号 4.2.3.2-8（評価）**

Han Wistar 系ラットを用い、13 週間毒性試験及び 4 週間回復性試験[4.2.3.2-8, 概要表 2.6.7.17A]の一部として免疫毒性評価を行った。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に基づいて評価したところ、Lu AA21004 はこれらの免疫学的項目に影響がないことが示された。

2.6.6.8.2 毒性発生機序に関する試験

2.6.6.8.2.1 ラットを用いた Lu AA21004 強制経口投与後の毒性発生機序に関する試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.3-1（参考）**

Wistar Han（Crl:WI（Han））ラットを用いた 26 週間強制経口投与毒性試験で認められた胆管及び尿路の結晶性物質の特性を検討する目的で実施した[4.2.3.7.3-1, 概要表 2.6.7.17B]。雄ラット 3 群に、それぞれ 40、60 あるいは 80 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を投与した。40 mg/kg BID 群は雄 10 例とし、26 週間にわたって投与した。60 mg/kg BID 群は雄 20 例とし、うち 10 例は 4 週間後に安楽死処分、残りは 13 週間後に安楽死処分した。80 mg/kg BID 群は雄 20 例とし、当初 4 週間投与の予定であったが、過剰の毒性発現を考慮して投薬 14 日目に安楽死処分した。さらに、雄 15 例からなる対照群を設け（雄各 5 例で構成した 3 つのコホートに分け、それぞれ 4、13 又は 26 週後に安楽死処分）、同用量の溶媒を投与した。

投与量は、標的臓器において確実に結晶が析出する用量を選択した。13 及び 26 週間毒性試験で 40 mg/kg BID が最高用量であったこと、及び MTD 試験[4.2.3.2-6]の結果に基づき、80 mg/kg BID 投与を最大投与可能量と判断した。

80 mg/kg BID では体重増加量及び摂餌量が低下し、その影響は投与 1 週よりも 2 週で大きかった。40 及び 60 mg/kg BID では用量依存的な体重増加量の低下がみられたが、摂餌量の減少は 60 mg/kg BID を投与した雄のみでみられた。

投与 2 週目の後期に 80 mg/kg BID で過剰な毒性、すなわち、痙攣により投与 13 日目に 1 例を早期安楽死処分し、さらに、体重減少、立毛、呼吸困難、歩行異常、円背位、削痩、活動低下及び床敷材の摂取等の数多くの症状がすべての動物で発現したため、投与 14 日目に高用量群を早期安楽死処分した。高頻度にみられた肉眼的な所見は、腎臓の異常（退色、肥大、腎盂拡張、時に腎表面顆粒状化）、尿管拡張（しばしば尿管壁の肥厚を伴い、灰白色の粒子状物質あるいは透明の結晶性物質を含む）、並びに膀胱内にみられた灰白色の粒子状物質あるいは透明な結晶性物質であった。腎臓の凍結切片の病理組織学的検査では、腎皮質、腎乳頭、腎盂において結晶析出がみられ、多くの動物の腎盂部に偏光下で屈折性を示す結晶沈着が認められた。結晶性物質の著明な沈着は、1 例の腎乳頭先端でみられた。

本試験により、40 mg/kg BID を高用量とした先の試験において報告された尿管及び肝胆道系での結晶析出が確認された。しかし、40 あるいは 60 mg/kg BID 投与した場合と比較すると明らかな用量反応性はなかった。尿検査により、投薬動物に尿酸結晶及び針状結晶がある

ことが証明された。針状結晶の定性的組成は、飛行時間型二次イオン質量分析法（TOF-SIMS）による試験で別途同定した。腎臓及び肝臓断面を TOF-SIMS 分析した結果、M3、すなわち Lu AA39835 のグルクロン酸抱合体及び Lu AA34443 に起因するイオンが結晶性物質全体に分布していることが証明された[4.2.2.7-1]。結晶性物質における被験薬関連物質の同定は、組織切片から当該物質を抽出後、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法によって行った[4.2.2.7-2]。

以上の成績から、肝臓及び腎臓組織で観察された結晶性物質は代謝物 M3 及び Lu AA34443 で構成されていると考えられた（2.6.4.8.1）。

2.6.6.8.3 薬物乱用性試験

EMEA [6]及び FDA [7]のガイダンス並びに「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」（平成 22 年 2 月 19 日 第 4 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に従って、*in vitro* 受容体結合性及び有効性プロファイル、*in vivo* 試験における強化効果に関連するような所見、薬物動態学的特性、並びに投薬終了後の経過観察に基づいて、Lu AA21004 の薬物乱用性を評価した。

Lu AA21004 は、5-HT 受容体調節及び SERT 阻害を通して薬理作用を発揮し、薬物乱用性と関連していることが知られている標的、すなわち、ドーパミントランスポーター、オピオイド受容体、または GABA-A 受容体（GABA-A 受容体のベンゾジアゼピン結合部位等）とは相互作用しない（2.6.2.2.1.1）。側坐核（NAS）における細胞外ドーパミン（DA）レベルの急激な増加が、多くの乱用性物質の強化特性及び報酬特性の原因と考えられていることから、NAS での細胞外モノアミンレベルに対する Lu AA21004 の効果を無拘束ラットを用いたマイクロダイアリシスによって検討した。その結果、NAS では細胞外 DA 及びノルアドレナリンレベルの上昇はなかったが、同じ脳領域で細胞外 5-HT レベルの著明かつ用量依存的な増加がみられた（2.6.2.2.2.2）。これらの成績は、Lu AA21004 に薬物乱用性がないことを示唆するものである。

ヒトにおける Lu AA21004 の吸収は比較的緩やかであり、血中半減期は約 66 時間であった（2.7.2）。この薬物動態特性からも、断薬時に急激な退薬症候を誘発する可能性が低いことが考えられる。また、薬物乱用せいがないとする見解は、ラット及びイヌを用いた毒性試験（2.6.6.3.4.2, 2.6.6.3.4.3, 2.6.6.3.6.2, 及び 2.6.6.3.6.3）において Lu AA21004 の高用量を投与した回復群で、休薬後に明らかな退薬症候がなかったことからも裏付けられる。

上述した非臨床試験成績に基づき、独立した *in vivo* 薬物乱用性試験は必要ないと判断した。

2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験

2.6.6.8.4.1 イヌを用いた毒性発生機序に関する静脈内投与試験

：添付資料番号 4.2.3.7.5-1（参考）、-2（参考）

イヌを用いた 13 週間毒性試験（2.6.6.3.6.2）において 10 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日投与後に観察された 2 例の痙攣が主代謝物 Lu AA34443 と関連しているかどうか明らかにするため、上記 13 週間毒性試験にて 10 mg/kg/日で痙攣が発生したイヌ（このイヌの血漿中 Lu AA34443 濃度の Cmax は 1316 ng/mL であった[4.2.3.2-13]）で認められた濃度の概ね 2 倍の血漿中濃度（Lu AA34443 の Cmax 平均値は 2416 ng/mL であった）となるよう Lu AA34443 をビーグル

犬に静脈内投与した。Lu AA34443 の投与中あるいは投与後に、痙攣あるいはその他の症状は認められなかった[4.2.3.7.5-1, 概要表 2.6.7.17C]。

Lu AA34443 に対する感受性に個体差がある可能性を考慮し、さらに多くのイヌを試験することで、より確実性の高い成績を得るため、血漿中濃度を先行試験[4.2.3.7.5-1]と同濃度（Lu AA34443 の Cmax 平均値は 2769 ng/mL であった）となるよう 4 例のビーグル犬に Lu AA34443 を静脈内投与した[4.2.3.7.5-2, 概要表 2.6.7.17C]。Lu AA34443 の投与中あるいは投与後に、痙攣あるいは他のいかなる中枢関連症状も観察されなかった。

これらの試験条件下では、Lu AA34443 はイヌに痙攣を誘発しないと判断された。

2.6.6.8.5 その他の毒性試験（静脈内投与試験）

2.6.6.8.5.1 ラットを用いた 7 日間静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.7.7-1（参考）

本試験の目的は、ラットに 1 日 2 回 7 日間静脈内持続投与したときの Lu AA21004 の全身毒性を評価すること及びラットにおける 14 日間静脈内投与毒性試験[4.2.3.7.7-1, 概要表 2.6.7.17D]のための用量を選択することである。

Han Wistar 系ラット雌雄各 5 例の 4 群に、0（溶媒対照）、5、10 あるいは 20 mg/kg BID の投与量で 15 分間、Lu AA21004 を静脈内持続投与した。投与液量は 2 mL/kg とした。20 mg/kg BID の投与では投与 2 日目（3 回投与後）に、投与部位に多くの変化が観察されたため、投与を中止し、この群の動物はすべて安楽死処分した。雌雄各 5 例の追加群を設け、15 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を静脈内持続投与した。

試験期間中、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び肉眼的病理検査を実施した。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。一般状態所見はそのほとんどが投与部位に限られ、尾の暗色あるいは白色巣、冷感、暗色／赤色化、潰瘍及び腫脹がみられた。加えて、足の冷感及び軟便がみられた。15 mg/kg BID では、雌 5 例中 4 例に削痩、雄 5 例中 1 例に尾の潰瘍がみられた。

15 mg/kg BID では、雌雄両性において、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数の軽微な低値、リンパ球の空胞化、並びに網状赤血球数及び好中球数の高値、加えて、雌ではリンパ球数の低値による白血球数の低値がみられた。

雄ではすべての投与量、雌では 15 mg/kg BID で血中尿素濃度が低値を示した。15 mg/kg BID の雌ではリン及びカルシウムの低濃度を伴っていた。雌 5 例中 2 例はアルブミン濃度が非常に低く、β-グロブリン濃度が高値を示したため A/G 比が低くなった。

15 mg/kg BID のすべての動物で脾臓重量が増加した。

投与部位の所見及び赤血球数減少により、15 mg/kg BID の用量は 14 日間投与できないと考えられたため、12.5 mg/kg BID を 14 日間静脈内投与毒性試験における高用量として選択した。

2.6.6.8.5.2 ラットを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.7.7-2（評価）

本試験の目的は、ラットに 1 日 2 回 14 日間 Lu AA21004 を静脈内持続投与したときの Lu AA21004 の全身毒性及び TK を評価することである[4.2.3.7.7-2, 概要表 2.6.7.17E]。

Han Wistar 系ラット雌雄各 10 例の 4 群に、1 回あたり 15 分間の静脈内持続投与を 0（溶媒対照）、3.75、7.0 あるいは 12.5 mg/kg BID の用量で 14 日間実施した。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 7 日間静脈内投与毒性試験（2.6.6.8.5.1）の結果に基づいた。

サテライト群の 3 例が採血中に死亡したが、これらの死亡は偶発的なものであった。12.5 mg/kg BID を投与したサテライト群の雌ラット 1 例は投与部位の状態悪化のため安楽死処分した。

一般状態変化は、投与部位の擦過傷、腫脹、潰瘍、低温、暗色／白色斑及び尾の暗色化等であり、投与部位に限られていた。投与 1 週に、12.5 mg/kg BID の雄において体重増加抑制／体重減少、摂餌量減少及び飼料利用効率の低下が認められた。

投与 14 日目に、12.5 mg/kg BID の雌雄でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数の低値並びに網状赤血球数及び好中球数の高値が認められた。12.5 mg/kg BID の雌では、平均赤血球ヘモグロビン量の低値及び平均赤血球容積の高値が認められ、投薬したすべての雄でリンパ球数の低値が認められた。血液塗抹検査の結果、雌では赤血球大小不同症及び大赤血球症の発現頻度の増加、並びに雌雄両性において血色素減少の発現頻度の増加がみられた。12.5 mg/kg BID の雌雄両性において、活性化部分トロンボプラスチン時間が短縮した。12.5 mg/kg BID の雄では、ALT 及び AST 活性の高値が認められた。グルコース濃度、アルブミン濃度及び A/G 比の低下並びに高濃度の β-グロブリンが雌雄両性で認められ、12.5 mg/kg BID の雄では総蛋白濃度が高値を示した。

肉眼的変化として、投与部位での痂皮、暗調化、剥離、腫脹、陥没及び硬化が認められ、12.5 mg/kg BID では腰部リンパ節及び鼠径リンパ節の腫大及び鬱血がみられた。7.0 及び 12.5 mg/kg BID の雌では、脾臓重量の増加が、また 7.0 mg/kg BID の雌及び 12.5 mg/kg BID の雌雄では脾臓の髄外造血亢進が認められた。雌では、顎下腺の線条部導管の脱顆粒がみられたが、用量との関連は明瞭でなかった。雌ではすべての投与量で、雄では 7.0 及び 12.5 mg/kg BID 群で舌下腺の腺房萎縮がみられた。投与部位では、皮膚潰瘍がすべての投与群で認められ、表皮過形成が対照群を含むすべての群で認められた。12.5 mg/kg BID では、血管周囲炎症反応(程度増加)、出血、血管内膜増生、血栓及び浮腫の程度／頻度の増加もみられた。また、鼠径リンパ節及び腰部リンパ節に胚中心増加、傍皮質細胞充実性増加、形質細胞症、洞赤血球増多症及び反応性組織球症が、各投薬群の数例でみられた。肝臓又は腎臓には、病理組織学的変化は認められなかった。

Lu AA21004 の TK をサテライト群の動物で評価した。14 日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 2.6.6.8-1 に示す。

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）

検査日	投与量 (mg/kg BID)	性別	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 14 日	3.75	雄	258	0.25	1398
		雌	202	0.25	973
	7.0	雄	305	0.25	1788
		雌	243	0.25	1606
	12.5	雄	970	0.25	4439
		雌	766	0.25	4088

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。

14 週間反復静脈内投与後の Cmax 及び AUC の増加は用量に比例していた。TK パラメータに明らかな性差はみられなかった。

NOAEL は 7.0 mg/kg BID と判断した。

2.6.6.8.5.3 イヌを用いた 7 日間点滴静注毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.7-3（参考）**

本試験の目的は、イヌに 1 日 1 回 7 日間を静脈内持続投与した場合の全身毒性を評価すること及びイヌにおける 14 日間静脈内投与毒性試験のための用量を選択することである[4.2.3.7.7-3, 概要表 2.6.7.17D]。

雌雄ビーグル犬各 1 例から成る 2 群に、0.5 又は 1 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を 30 分間静脈内持続投与した。同じ構成の第 3 群には、2 mg/kg/日の用量で 7 日間 Lu AA21004 を投与し、その後、7 日間の休薬期間を設けた後、4 mg/kg/日の用量でさらに 7 日間投与した。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。投与量 0.5 mg/kg/日では、投薬に関連する所見は認められなかった。投与量 1 mg/kg/日では、雄が軽微な運動量低下を示した。投与量 2 mg/kg/日では、散瞳、運動量低下及び亢進、異常行動及び異常歩行が雄よりも雌で多く観察された。投与量 4 mg/kg/日では、散瞳、活動性低下及び亢進、異常発声、異常行動及び異常歩行、尿濃度（粘度）の変化、散発的な尿失禁及び摂餌遅延が観察された。尿失禁は、投与量 2 mg/kg/日の雌でも認められた。

投与量 4 mg/kg/日ではその他、尿中カリウム（雄）及びナトリウム（雌）の濃度上昇がみられ、尿中に血液色素及び赤血球もみられた。雄の腎臓では、腎皮質尿細管に好酸性物質を含む軽微な多発性微細空胞の形成が認められ、これは溶媒（HP-β-CD）投与に関連するものと考えられた。

概略の致死量は>4 mg/kg、MTD は 4 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.8.5.4 イヌを用いた 14 日間静脈内持続投与毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.7-4（評価）**

本試験の目的は､イヌに 14 日間 Lu AA21004 を静脈内持続投与した場合の全身毒性を評価することである[4.2.3.7.7-4, 概要表 2.6.7.17F]。

ビーグル犬雌雄各 3 例から成る 4 群に、0（溶媒対照）、0.5、1.5 又は 4 mg/kg/日の用量で 30 分間静脈内持続投与した。

用量は、先に実施した 7 日間静脈内投与毒性試験（2.6.6.8.5.3）に基づいて選択した。

試験期間中に、一般状態観察、体重、摂餌量、ECG、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、肉眼病理学的検査及び病理組織学的検査を実施した。

計画外死亡例はみられなかった。投薬に対する唯一の反応として、散瞳が 4 mg/kg/日（全例）及び 1.5 mg/kg/日（雄 3 例中 2 例、雌 3 例中 1 例）でみられたものの、いずれの投与量も良好な忍容性を示した。また、4 mg/kg/日では多尿、運動量低下及び間欠的振戦、並びに血漿中クロライド濃度のわずかな減少が雌雄で観察された。尿パラメータに変化はみられなかった。

TK 評価のため、1 群当たり雌雄イヌ各 3 例から血液試料を採取した。14 日目の定常状態平均 TK パラメータの概要を表 2.6.6.8-2 に示す。

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）

検査日	投与量 (mg/kg/日)	性別	Cmax (ng/mL)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)
投薬 14 日	0.5	雄	90.7	253
		雌	63.6	147
	1.5	雄	297	943
		雌	187	537
	4.0	雄	730	2500
		雌	490	1812

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。

Cmax 及び AUC 値は、雌雄共に用量に比例して増加し、いずれの投与量でも雄の方が雌よりも高値を示した。消失半減期は、雌雄共に約 4 時間で、投与量とは関連しなかった。クリアランスは雄では約 2 L/hr/kg、雌では約 3 L/hr/kg で、雌よりも雄において曝露が高いことと一致していた。

イヌに 1.5 mg/kg/日を反復静脈内投与した場合、投与部位では良好な忍容性がみられ、NOAEL は 1.5 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.8.6 その他の毒性試験（皮膚感作性）

2.6.6.8.6.1 皮膚感作性：マウスを用いた局所リンパ節試験

：添付資料番号 4.2.3.7.7-5（参考）

Lu AA21004 の製造に関連する労働安全衛生アセスメントの参考とするため、マウスを用いた局所リンパ節試験（LLNA）[4.2.3.7.7-5, 概要表 2.6.7.17G]を行い、皮膚感作性を評価した。

本試験の目的は、雌性 CBA/CaOlaHsd マウスの耳介背面の皮膚に塗布した場合の Lu AA21004 の皮膚感作性を測定することであり、予備試験及び主試験を実施した。

予備試験では、Lu AA21004 をジメチルスルホキシド（DMSO）で溶解し、0、70 又は 210 mg/mL の濃度で 25 µL の用量で 3 日間連続して耳介皮膚に塗布した。投与局所の変化、一般状態及び耳厚に関して、投薬動物と対照動物との間に差はみられなかった。

予備試験の結果に基づき、主試験では Lu AA21004 を DMSO に溶解し、0、30、140、又は 210 mg/mL の濃度で 25 µL の用量で 3 日間連日耳介皮膚に塗布した。2 群の動物を追加し、

オリーブオイルとアセトンの混合液（陰性対照物質）又はヘキシルシンナムアルデヒド（陽性対照物質）を投与した。試験 6 日目に動物に［3H-メチル］-チミジンを静注した。およそ 5 時間後、動物を安楽死処分し耳介リンパ節を摘出した。リンパ増殖を［3H-メチル］-チミジンの取り込み量として測定し、刺激指数すなわち対照群におけるリンパ増殖に対する試験群におけるリンパ増殖の比率を測定した。

刺激指数は、濃度 30、140 及び 210 mg/mL の Lu AA21004 を投与した群では、それぞれ 3.1、7.7 及び 9.1 であった。いずれかの用量において刺激指数が 3 以上の場合は、その物質を皮膚感作物質として分類する。

結論として、Lu AA21004 はマウス局所リンパ節試験（LLNA）で皮膚に塗布された場合に皮膚感作性があると判断した。

2.6.6.8.7 その他の毒性試験（光毒性）

EU と米国における Lu AA21004 の承認後に発出された医薬品の光安全性評価ガイドライン（ICH S10 ガイドライン）[8]では、290 から 700 nm の波長においてモル吸光係数（MEC）が 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回らない化合物については、光反応性がないと考えられている。
Lu AA21004 MEC 値は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を超えているものの、290 nm を下回る波長で UV 吸収の最大値を示し（水中での吸収極大は 198 nm、マイナーな極大は 226 nm で見出される）、290 から 310 nm の間にわずかな吸収しかみられない。Lu AA21004 は皮膚及び眼に分布し、また、Lu AA21004 はメラニンと結合する（2.6.4.4.1, 2.6.4.4.3）が、Lu AA21004 の光化学的特性から、光反応性のリスクは最小限であると考えられる。

13 週間（マウス）、26 週間（ラット）及び 52 週間（イヌ）の Lu AA21004 の反復経口投与毒性試験では、光毒性の兆候（眼球又は皮膚変化）はみられなかった。また、健常人あるいは市販後データを含む患者での Lu AA21004 の使用データから、Lu AA21004 と光毒性の発生との関連は示唆されていない。

以上のことから、Lu AA21004 は光毒性ポテンシャルを有さないと考えられ、独立した光毒性試験は不要と判断した。

2.6.6.9 考察及び結論

Lu AA21004 の経口投与による臨床使用をサポートするため、Lu AA21004 の一連の毒性試験を実施した。単回投与試験から 26 あるいは 52 週間までの慢性毒性試験に至るまでの一般毒性試験、遺伝毒性試験、2 種類のがん原性試験、並びに生殖発生毒性試験を行った。さらに、免疫毒性及び毒性発現機序に関する試験を実施した。

毒性試験により標的臓器を特定し、すべての種で NOAEL を確立した。マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いた GLP 適用反復投与毒性試験及びその他の毒性試験で得られた本薬の無毒性量及び非発がん量並びにヒト/動物曝露量比率を表 2.6.6.9-1 及び表 2.6.6.9-2 に示す。また、Lu AA34443 の無毒性量及び非発がん量並びにヒト/動物曝露量比率を表 2.6.6.9-3 及び表 2.6.6.9-4 に示す。

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

毒性試験における評価指標	動物種	投与量	AUC(0-24)(a) (ng·hr/mL) 雄/雌	曝露安全域(b) 雄/雌	添付資料番号
無毒性量／反復投与	マウス	50 mg/kg/日 (13 週間)	12,695/6371	20/10	[4.2.3.2-5]
無毒性量／反復投与	ラット	10 mg/kg BID (26 週間)	1471/1026	2/2	[4.2.3.2-9]
無毒性量／反復投与	イヌ	7.5 mg/kg/日 (52 週間)	3052/3150	5/5	[4.2.3.2-15]
非発がん量／がん原性	マウス	15/100 mg/kg/日 (雄/雌, 103/104 週間)	NA	NA	[4.2.3.4.1-1]
非発がん量／がん原性	ラット	2/15 mg/kg BID (雄/雌, 104 週間)	NA	NA	[4.2.3.4.1-2]
無毒性量／胚・胎児発生	ラット	80 mg/kg BID	22,682(c)	35	[4.2.3.5.2-3]
無毒性量／胚・胎児発生	ウサギ	15 mg/kg BID	1275(c)	2	[4.2.3.5.2-7]

NA=トキシコキネティクス分析に必要な血漿中濃度データ数が十分でないため算出せず

(a) 最終測定時のデータ

(b) 毒性試験 AUC(0-24)/臨床 AUC(0-24)。ヒト血漿 AUC(0-24) 値は、臨床最大用量 20 mg/日の値。曝露安全域計算は、20 mg/日でヒトで得た平均 AUC 値（646 ng·hr/mL）に基づく（2.7.2, 表 2.7.2.3-2）。

(c) 雌