2.6.6 毒性試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
略号一覧 5
1 まとめ 6
2 単回投与毒性試験 7
2.1 マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験 7
2.2 ラットを用いた単回経口投与毒性試験 8
2.3 カニクイザルを用いた用量漸増経口投与毒性試験 8
3 反復投与毒性試験 9
3.1 マウスを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 9
3.2 マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 10
3.3 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 11
3.4 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 12
3.5 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 14
3.6 カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 15
3.7 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 16
3.8 カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験 17
3.9 カニクイザルを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 19
4 遺伝毒性試験 21
4.1 ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 21
4.2 ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞を用いた小核試験 21
4.3 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 22
4.4 マウスを用いた小核試験 22
4.5 ラットを用いた小核試験 23
5 がん原性試験 23
5.1 マウスを用いた 104 週間がん原性試験 23
5.2 ラットを用いた 104 週間がん原性試験 24
6 生殖発生毒性試験 26
6.1 雄ラットの授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26
6.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 26
6.3 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 27
6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 28
6.5 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 29
6.6 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 30
7 局所刺激性試験 32

7.1 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 32
7.2 ウサギを用いた眼一次刺激性試験 32
7.3 ウサギを用いた静脈内，動脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験 33
8 その他の毒性試験 33
8.1 免疫毒性試験 33
8.1.1 ラットを用いた 4 週間経口投与免疫毒性試験 33
8.2 毒性発現の機序に関する試験 34
8.2.1 マウス，ラット及びヒト血管内皮細胞を用いた *in vitro* 毒性発現機序検討試験 35
8.2.2 マウスを用いた毒性発現機序検討試験 35
8.2.3 ラットを用いた毒性発現機序検討試験 37
8.2.4 マウスを用いた皮膚に関する検討試験 39
8.3 光毒性試験 40
8.3.1 3T3 細胞を用いた光毒性試験 40
8.4 皮膚感作性試験 40
8.4.1 マウスを用いた局所リンパ節試験 40
8.5 依存性試験 41
8.5.1 ラットを用いた身体依存性試験 41
8.5.2 ラットを用いた薬物弁別法による依存性試験 42
8.5.3 ラットを用いた薬物自己投与法による依存性試験 43
8.6 代謝物 44
8.7 不純物 44
8.7.1 不純物：ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 44
8.7.2 不純物：ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 45
8.7.3 不純物の安全性評価 46
8.8 新規添加剤 47
9 考察及び結論 47
10 参考文献 54

表 一 覧

Table 1-1 毒性試験一覧 6
Table 2-1 カニクイザルを用いた用量漸増経口投与毒性試験における曝露量 9
Table 3-1 マウスを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 10
Table 3-2 マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 11
Table 3-3 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 12
Table 3-4 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 14

Table 3-5 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 15
Table 3-6 カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 16
Table 3-7 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 17
Table 3-8 カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 19
Table 3-9 カニクイザルを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 21
Table 5-1 マウスを用いた 104 週間がん原性試験における腫瘍性病変の発現頻度 ... 24
Table 5-2 マウスを用いた 104 週間がん原性試験における曝露量 24
Table 5-3 ラットを用いた 104 週間がん原性試験における曝露量 26
Table 6-1 雌性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試験における曝露量 27
Table 6-2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における曝露量 28
Table 6-3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における曝露量 30
Table 8-1 マウスを用いた毒性発現機序検討試験の群構成 36
Table 8-2 マウスを用いた毒性発現機序検討試験における曝露量 37
Table 8-3 ラットを用いた毒性発現機序検討試験の群構成 38
Table 8-4 ラットを用いた毒性発現機序検討試験における曝露量 39
Table 8-5 ラットを用いた身体依存性試験における血漿中濃度 42
Table 8-6 ラットを用いた薬物弁別法による依存性試験における血漿中濃度 43
Table 8-7 ラットを用いた薬物自己投与法による依存性試験における血漿中濃度 43
Table 8-8 不純物：ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量 ... 46
Table 8-9 反復投与毒性試験における不純物含有量 47
Table 9-1 反復投与毒性試験において認められた主要な変化 48
Table 9-2 毒性試験に用いた動物種とヒトの全身曝露量の比較 52

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
AUC	area under the concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
KLH	keyhole limpet hemocyanin	スカシガイヘモシアニン
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level	最小毒性量
LUC	large unstained cell	大型非染色細胞
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PALS	periarteriolar lymphoid sheath	動脈周囲鞘
PLGF2	placental growth factor 2	胎盤成長因子
RDW	red cell distribution width	赤血球容積粒度分布幅
S1P	sphingosine-1-phosphate	スフィンゴシン 1 リン酸
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体産生
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TSH	thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
T4-UDP-GT	T4-Thyroxine-UDP-Glucuronosyl transferase	T4-UDP-グルクロン酸転移酵素

1 まとめ

シポニモド　フマル酸塩（開発コード：BFA312，以下シポニモド）はスフィンゴシン 1 リン酸（Sphingosine-1-phosphate，S1P）受容体サブタイプ 1（$S1P_1$ 受容体）及び 5（$S1P_5$ 受容体）を標的とする S1P 受容体調節剤であり，二次性進行型多発性硬化症治療薬として開発している。

シポニモドの非臨床安全性評価を目的として，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験及びその他の毒性試験を実施した。毒性試験の一覧をTable 1-1に示す。主要な毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use，ICH）M3(R2)ガイドライン（医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドライン）及びその他の安全性に関するガイドラインに従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice，GLP）を遵守して実施した。試験は，ノバルティス社が委託した受託試験機関又はノバルティス社の試験施設で実施した。

Table 1-1　　毒性試験一覧

試験の種類		投与経路	試験系
単回投与毒性		静脈内	マウス
		経口	ラット，カニクイザル
反復投与毒性	2 週間	経口	マウス，ラット，カニクイザル
	4 週間	経口	ラット，カニクイザル
	13 週間	経口	マウス
	26 週間	経口	ラット，カニクイザル
	52 週間	経口	カニクイザル
遺伝毒性	遺伝子突然変異	*in vitro*	ネズミチフス菌
	小核	*in vitro*	ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞
	染色体異常	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球
	小核	経口	マウス（骨髄），ラット（骨髄）
がん原性	104 週間	経口	マウス，ラット
生殖発生毒性	受胎能及び初期胚発生	経口	ラット
	胚・胎児発生	経口	ラット，ウサギ
	出生前及び出生後の発生	経口	ラット
局所刺激性	皮膚	経皮	ウサギ
	眼	点眼	ウサギ
	静脈内，動脈内，静脈周囲	左に同じ	ウサギ

Table 1-1　毒性試験一覧（続き）

試験の種類		投与経路	試験系
その他の毒性	免疫毒性試験	経口	ラット
	毒性発現の機序に関する試験	*in vitro*	マウス，ラット及びヒト血管内皮細胞
		経口	マウス，ラット
	光毒性試験	*in vitro*	3T3 線維芽細胞
	皮膚感作性試験	経皮	マウス
	依存性試験	経口	ラット
	不純物の毒性試験	経口	ラット

供試動物として，シポニモドの薬理作用がみられ，代謝経路がヒトと類似している動物種であるマウス，ラット，ウサギ及びカニクイザルを選択した。

反復投与により，いずれの動物種においてもすべての投薬群で中等度～重度の末梢血中リンパ球数の減少及びリンパ系組織の萎縮性変化（脾臓，リンパ節または胸腺のリンパ球枯渇またはリンパ組織萎縮）並びに胸腺の髄質拡大がみられ，シポニモドの薬理作用に起因した変化と考えられた。また，中枢神経への影響を示唆する一般状態の変化（痙攣等）並びに肺，腎臓，肝臓，甲状腺，涙腺，消化管，骨格筋及び皮膚に投薬に関連した病理組織学的変化がみられ，休薬により回復した。本薬に遺伝毒性はみられず，マウスを用いたがん原性試験において認められた血管肉腫及び悪性リンパ腫，並びにラットを用いたがん原性試験において認められた甲状腺濾胞上皮癌はヒトへの外挿性の低い変化と考えられた。生殖発生毒性試験では胚・胎児死亡及び催奇形性が認められたことから，妊娠中は本薬の使用を避けることが推奨される。原薬及び製剤中の不純物の安全性について検討した結果，規格値までの安全性は確認されたものと判断した。

以上，毒性試験で確認されたシポニモドの毒性プロファイルは，添付文書に規定した用法・用量に従った多発性硬化症患者の治療を支持するものと考えられた。

なお，本概要文におけるシポニモドの用量は遊離塩基量として表記した。

2　単回投与毒性試験

2.1　マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.1-1］

本試験[Table2.6.7.5-0670303]は，マウスにシポニモドを単回静脈内投与したときの毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（20%クレモホール／5%グルコース水溶液）に溶解し，マウス（CD1，1 群雌雄各 3 例）に 0（対照），50，100，150 及び 200 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。一般状態観察及び体重測定を実施し，試験 15 日に剖検した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重及び剖検においても変化はみられなかった。

以上の結果から，本試験における概略の致死量は 200 mg/kg 超と考えられた。

2.2 ラットを用いた単回経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.1-2］

本試験[Table2.6.7.5-0670304]は，ラットにシポニモドを単回経口投与したときの毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 3 例，2000 mg/kg 群のみ雌雄各 5 例）に 0（対照），250，500，1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。一般状態観察及び体重測定を実施し，試験 15 日に剖検した。

本試験において死亡は認められず，剖検においても変化はみられなかった。

一般状態観察では，2000 mg/kg 投与群の雌で立毛，身づくろいの減少，身体緊張低下，歩行異常または異常姿勢がみられた。また，同投与群では体重の減少がみられた。

以上の結果から，本試験における概略の致死量は 2000 mg/kg 超と考えられた。

2.3 カニクイザルを用いた用量漸増経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.1-3］

本試験[Table2.6.7.5-0470204]は，カニクイザルにシポニモドを単回経口投与したときの毒性を検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，用量漸増法により 2 例の雄カニクイザルに 10，30 及び 60 mg/kg の用量をそれぞれ試験 1，3 及び 5 日に経口投与した後，試験 7 日に剖検した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検及び病理組織学的検査）及びトキシコキネティクス（toxicokinetics，TK）試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態，体重及び摂餌量に投薬に起因した変化はみられなかった。

血液学的検査において，60 mg/kg 投与後にリンパ球数の減少及び活性化部分トロンボプラスチン時間の延長がみられた。60 mg/kg まで投与した後の病理組織学的検査において，1 例に肝細胞の細胞質内封入体がみられた。

TK 試験の結果，すべての投与量で本薬の曝露が確認された（Table 2-1）。

以上の結果から，本試験における概略の致死量は 60 mg/kg 超と考えられた。

Table 2-1 カニクイザルを用いた用量漸増経口投与毒性試験における曝露量

用量（mg/kg）	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng*h/mL)
10	3445	57100
30	9720	159000
60	21350	370000

Source: Table 2.6.7.5-0470204

3 反復投与毒性試験

3.1 マウスを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.2-1］

本試験[Table2.6.7.6-0770648]は，シポニモドをマウスに 2 週間反復経口投与したときの毒性の検討及び反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，マウス（CD1，1 群雌雄各 6 例）に 0（対照），50，150 及び 300 mg/kg の用量で 2 週間経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

300 mg/kg/日群では，主試験群の雄 2 例が死亡し，雄 1 例を切迫殺した。

一般状態観察において，150 mg/kg/日以上の投与群の雄で振戦及び自発運動の低下，300 mg/kg/日群の雄で筋緊張の低下，円背位，蒼白及び横臥が認められた。300 mg/kg/日群の雄で，体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。

血液学的検査において，50 mg/kg/日以上の投与群でリンパ球数の減少及び好中球数の増加，150 mg/kg/日以上の投与群の雌で単球数及び好酸球数の増加がみられた。血液生化学的検査において，50 mg/kg/日以上の投与群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase，ALT，雌のみ）及び A/G 比の増加並びにコレステロール及びグロブリンの減少，300 mg/kg/日群の雄でトリグリセリドの減少が認められた。

剖検において，50 及び 300 mg/kg/日群で肺に虚脱がみられず，硬化が認められた。150 mg/kg/日以上の投与群の雄で腎臓の淡色化，軟化及び表面不整，300 mg/kg/日群の雄で肝臓の腫大及び胸腺の小型化がみられた。器官重量測定において，50 mg/kg/日以上の投与群で肝臓重量の増加，300 mg/kg/日群の雄で胸腺重量の減少がみられた。病理組織学的検査において，50 mg/kg/日以上の投与群で肺に炎症，線維化及び平滑筋過形成を伴うフィブリン／硝子様物質の沈着巣，並びに肺胞マクロファージの増加，下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節にリンパ球枯渇及び胚中心形成の低下，脾臓にリンパ組織の萎縮及び髄外造血の増加，胸腺に髄質拡大，肝臓に巨大核を伴う小葉中心性肝細胞肥大，胸骨骨髄に骨髄球系細胞の過形成がみられた。150 mg/kg/日以上の投与群では，肝臓に炎症細胞巣，限局性壊死及び単細胞壊死がみられた。同群の雄では，腎臓に巨大核を伴う好塩基性尿細管及び炎症細胞浸潤，リンパ節及び胸腺にリンパ球融解がみられた。

300 mg/kg/日群では，雌雄で胸腺の萎縮，雄では腎臓の変化（尿細管壊死，鉱質沈着，尿細管拡張及び硝子円柱），肝臓に肝細胞の細胞質空胞化，胸骨骨髄の細胞密度の減少，精巣に精細管変性，精巣上体に細胞残屑がみられた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-1）。

以上，300 mg/kg/日群の雄で死亡がみられ，腎臓の変化が死因である可能性が考えられた。すべての投薬群で肺及び肝臓に変化がみられたことから，本試験の無毒性量（No Observed Adverse Effect Level，NOAEL）は規定されず，反復投与毒性試験の用量は 50 mg/kg/日以下が適切であると判断された。

Table 3-1　　マウスを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 2 週	50	24100	16100	378000	280000
	150	28300	30600	491000	512000
	300	61200	40500	965000	647000

Source: Table2.6.7.6-0770648

3.2　　マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.2-2］

本試験[Table2.6.7.7A-0770649]は，シポニモドをマウスに 13 週間経口投与したときの毒性の検討及びがん原性試験の用量設定を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，マウス（CD1，1 群雌雄各 10 例）に 0（対照），5，15，35 及び 80 mg/kg の用量で 13 週間経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態観察，眼科学的検査及び剖検において投薬に関連した変化は認められなかった。

5 mg/kg/日以上の投与群の雌及び 80 mg/kg/日群の雄で体重増加，5 mg/kg/日以上の投与群で体重増加量の増加が認められた。5 mg/kg/日以上の投与群の雄で摂餌量の増加がみられた。

血液学的検査において，5 mg/kg/日以上の投与群で白血球数及びリンパ球数の減少がみられた。血液生化学的検査において，5 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 80 mg/kg/日群の雌で総タンパク質及びアルブミンの減少，80 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で ALT の増加がみられた。

器官重量測定において，5 mg/kg/日以上の投与群で肝臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査において，5 mg/kg/日以上の投与群で肺にフィブリン／硝子様物質の沈着巣，炎症，線維化，並びに泡沫マクロファージ及び肺胞内マクロファージの増加，脾臓に辺縁帯のリンパ組織萎縮，動脈周囲鞘（periarteriolar lymphoid sheath，PALS）のリンパ組織過形成及び髄外造血の増加，胸

腺に髄質のリンパ組織過形成，腸間膜リンパ節に髄質の組織球症がみられた。15 mg/kg/日以上の投与群において，肝臓に小葉中心性肝細胞肥大，涙腺に空胞変性がみられた。35 mg/kg/日群以上の投与群の雄において，下顎リンパ節に傍皮質のリンパ組織過形成，同群の雌において涙腺の萎縮がみられた。80 mg/kg/日群において肝臓に組織球症，同群の雄において涙腺に腺房細胞の細胞質好酸性低下がみられた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-2）。

以上，本試験ではすべての投薬群において肺に変化がみられたことから，NOAEL は規定されず，マウスを用いたがん原性試験の用量は 80 mg/kg/日以下が適切であると判断された。

Table 3-2　　マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	5	2000	1600	33400	25200
	15	5770	4190	98900	776000
	35	15100	10500	259000	180000
	80	30100	23900	542000	414000
試験 13 週	5	2730	2570	44700	40100
	15	8860	3590	155000	62600
	35	12200	7940	195000	139000
	80	20300	14600	355000	229000

Source: Table 2.6.7.7A-0770649

3.3　　ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.2-3］

本試験[Table2.6.7.6-0410113]は，シポニモドをラットに 2 週間経口投与したときの毒性の検討及び GLP 適用の反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（1%カルボキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，雄ラット（Wistar Hannover，1 群 5 例）に 0（対照），10，30 及び 100 mg/kg の用量で 2 週間経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態観察，体重測定及び剖検において投薬に関連した変化は認められなかった。

10 mg/kg/日以上の投与群において，摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg 以上の投与群で白血球数及びリンパ球数の減少，30 mg/kg/日以上の投与群で網赤血球数及び血小板数の増加がみられた。血液生化学的検査において，10 mg/kg 以上の投与群でトリグリセリドの増加，100 mg/kg/日群で総タンパク，アルブミン及びナトリウムの減少がみられた。

器官重量測定では，100 mg/kg/日群で脾臓重量の減少及び肝臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査では，10 mg/kg 以上の投与群において，肺に平滑筋の肥大及び過形成並びに肺胞マクロファージの増加，胸腺に髄質の拡大及び染色性の変化，脾臓に PALS のリンパ組織萎縮，胚中心形成の消失及び髄外造血の増加，下顎及び腸間膜リンパ節にリンパ洞のリンパ球枯渇及び組織球症がみられた。また，30 mg/kg/日以上の投与群において，胸腺皮質の萎縮がみられた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-3）。

以上，すべての投薬群で肺に変化が認められた。反復投与毒性試験の高用量は 100 mg/kg/日付近が適切であると判断された。

Table 3-3　　ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng*h/mL)
試験 2 週	10	1170	12700
	30	4510	37400
	100	8750	120000

Source: Table2.6.7.6-0410113

3.4　　ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

［記載箇所：4.2.3.2-4］

本試験[Table2.6.7.7B-0670037]は，シポニモドをラットに 4 週間経口投与したときの毒性，及び 4 週間の休薬による回復性についての検討を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 10 例）に 0（対照），10，50 及び 200 mg/kg の用量で 4 週間反復経口投与した。ただし，200 mg/kg/日群の雌では，顕著な体重減少及び一般状態の悪化がみられたことから，試験 13 日に用量を 100 mg/kg/日に減量した（以下，雄は 200 mg/kg/日群，雌は 200→100 mg/kg/日群と記載）。対照群及び高用量群には回復性試験群（1 群雌雄各 5 例）を設定し，投薬期間終了後 4 週間休薬して回復性を検討した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

本試験において投薬に関連した死亡は認められず，眼科学的検査，尿検査及び剖検において投薬に関連した変化はみられなかった。

一般状態観察において，50 mg/kg/日以上の投与群で糞便減少及び下腹部の汚れがみられた。また，200→100 mg/kg/日群の雌において，主に減量前に易刺激性，異常発声，脱水，被毛の汚れ及び粗毛がみられた。また，50 mg/kg/日以上の投与群の雌において体重増加量の減少がみられた。200 及び 200→100 mg/kg/日群で体重及び体重増加量の減少がみられたが，雌では用量減量後に体重または体重増加量への影響は認められなかった。50 mg/kg/日以上の投与群において摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg 以上の投与群でリンパ球数，好酸球数（雄のみ），好塩基球数及び大型非染色細胞（large unstained cell，LUC）数の減少がみられた。200 及び 200→100 mg/kg/日群では血小板数の増加，200→100 mg/kg/日群で網赤血球数の増加がみられた。血液生化学的検査において，200 及び 200→100 mg/kg/日群でカリウム及び無機リンの増加がみられた。

器官重量測定において，10 mg/kg/日以上の投与群では脾臓及び下垂体重量の減少，肝臓及び副腎重量の増加，同群の雌において胸腺及び心臓重量の増加がみられた。また，200→100 mg/kg/日群で子宮重量の減少がみられた。病理組織学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群の胸腺に髄質拡大，脾臓に PALS のリンパ組織萎縮，気管支リンパ節，下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節に組織球症，腸間膜リンパ節にリンパ洞のリンパ球枯渇がみられた。同群の雄では，腎臓の近位尿細管内に硝子滴がみられた。50 mg/kg/日以上の投与群では肝臓に小葉中心性肝細胞肥大，同群の雌の肺に肺胞炎及び泡沫マクロファージ集簇が認められた。200 mg/kg/日群では肺に泡沫マクロファージ集簇及び細気管支炎，200→100 mg/kg/日群では子宮の萎縮及び膣上皮の粘液産生がみられた。

投与期間中に認められた変化は，雄の腎臓の硝子滴を除き，休薬による回復または回復傾向がみられた。リンパ球数の減少及びリンパ系組織の病理組織学的変化には，完全な回復はみられなかったが回復傾向が認められた。雌で認められた子宮の萎縮及び膣上皮の粘液産生は，一般状態の悪化を伴う用量のみで認められたことから，ホルモンの異常に伴う二次的変化と考えられた。副腎重量の増加は，軽度（最大 24%）かつ回復性が認められ，関連する病理組織学的変化を伴わなかったことから，毒性学的意義の低い変化と判断された。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-4）。また，脳，心臓及び肺の組織中濃度を測定した結果，これらの組織における本薬の曝露が確認された。

以上，50 mg/kg/日以上の投与群において，一般状態，体重及び摂餌量への影響，並びに肺の病理組織学的変化がみられた。本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

Table 3-4 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	10	1410	2700	19500	52100
	50	6360	12100	93300	204000
	200	9430	18300	134000	367000
試験 4 週	10	1900	5670	21700	107000
	50	6640	21500	86300	404000
	200 or 200→100[a]	21600	30200	365000	603000

Source: Table2.6.7.7B-0670037

a = 雌は投与 13 日に 100 mg/kg/日に減量した

3.5 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

［記載箇所：4.2.3.2-5］

本試験[Table2.6.7.7C-0770059]は，シポニモドをラットに 26 週間経口投与したときの毒性，及び 8 週間の休薬による回復性についての検討を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 20 例）に雄では 0（対照），15，50 及び 150 mg/kg/日，雌では 0（対照），5，15 及び 50 mg/kg の用量で 26 週間経口投与した。対照群及び高用量群には回復性試験群（1 群雌雄各 10 例）を設定し，投薬期間終了後 8 週間休薬して回復性を検討した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

本試験において投薬に関連した死亡は認められず，一般状態観察，眼科学的検査，尿検査及び剖検において投薬に関連した変化はみられなかった。

150 mg/kg/日群の雄及び 15 mg/kg/日以上の投与群の雌において，試験 1 週に体重増加量の減少がみられた。50 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 50 mg/kg/日群の雌において，試験 26 週の体重減少がみられた。摂餌量の変化として，50 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 5 mg/kg/日以上の投与群の雌では試験 1 週に摂餌量減少がみられ，50 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 50 mg/kg/日群の雌では試験 5 週以降には増加が認められた。

血液学的検査において，15 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 5 mg/kg/日以上の投与群の雌で白血球数，リンパ球数，単球数，好酸球数，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少がみられた。血液生化学的検査において，15 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 5 mg/kg/日以上の投与群の雌で，総タンパク，アルブミン及びグロブリンの減少がみられた。50 mg/kg/日群の雄及び 15 mg/kg/日以上の投与群の雌で，無機リンの増加がみられた。

器官重量測定において，15 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 5 mg/kg/日以上の投与群の雌で脾臓重量の減少及び肝臓重量の増加がみられた。150 mg/kg/日群の雄で甲状腺重量の増加，50 mg/kg/日群の雌で胸腺及び副腎重量の増加，並びに下垂体重量の減少がみられた。病理組織学的検査に

おいて，15 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 5 mg/kg/日以上の投与群の雌で胸腺に髄質縮小，脾臓に PALS のリンパ組織萎縮及び辺縁帯のリンパ組織過形成，15 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 50 mg/kg/日群の雌で甲状腺に濾胞上皮細胞肥大，50 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 50 mg/kg/日群の雌の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大，気管支リンパ節及び腸間膜リンパ節にリンパ組織萎縮がみられた。副腎重量の増加は軽度（最大+23%）かつ回復性が認められ，関連する病理組織学的変化を伴わないことから，毒性学的意義の低い変化と判断された。

投与期間中に認められた変化には，休薬による回復または回復傾向がみられた。リンパ球の減少並びに胸腺髄質の縮小には，完全な回復はみられなかったが，回復傾向が認められた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-5）。

以上，雄の 150 mg/kg/日及び雌の 50 mg/kg/日群では体重減少及び複数のリンパ系組織で変化がみられたことから，NOAEL は雄で 50 mg/kg/日，雌で 15 mg/kg/日と判断された。

Table 3-5　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 4 週	5	NA	4140	NA	70200
	15	2250	7830	31400	150000
	50	6520	17500	93600	320000
	150	13500	NA	185000	NA
試験 22 週	5	NA	3820	NA	77000
	15	3330	9680	48200	191000
	50	7060	19400	106000	372000
	150	13300	NA	198000	NA

Source: Table 2.6.7.7C-0770059
NA = not applicable

3.6　　カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.2-6］

本試験[Table2.6.7.6-0570040]は，シポニモドをカニクイザルに 2 週間経口投与したときの毒性の検討及び反復投与毒性試験の用量設定を目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 群雌雄各 1 例，高用量群は雌雄各 2 例）に 0（対照），10，30 及び 100 mg/kg の用量で 2 週間経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，体重測定，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査において投薬に関連した変化はみられなかった。

一般状態観察において，100 mg/kg/日群の雄で軟便，下痢及び粘液便がみられた。30 mg/kg/日以上の投与群の雌において，一過性かつ軽度の摂餌量減少がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で白血球数及びリンパ球数の減少がみられた。血液生化学的検査において，100 mg/kg/日群の雌 1 例において総タンパク，アルブミン及び血中尿素窒素の減少がみられた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-6）。

以上，100 mg/kg/日群で糞便異常及び血液生化学的検査値の変化がみられたことから，NOAEL は 30 mg/kg/日と判断された。

Table 3-6　　カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	10	4980	3380	79400	55100
	30	15100	8290	223000	140000
	100	26450	23400	427000	360000
試験 2 週	10	6330	4500	116000	78000
	30	13700	12600	192000	226000
	100	17200	17850	331000	348000

Source: Table2.6.7.6-0570040

3.7　　カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

［記載箇所：4.2.3.2-7］

本試験[Table2.6.7.7D-0670007]は，シポニモドをカニクイザルに 4 週間経口投与したときの毒性，及び 4 週間の休薬による回復性についての検討を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 群雌雄各 3 例）に 0（対照），10，50 及び 200→150 mg/kg の用量で 4 週間経口投与した。200 mg/kg/日群では，一般状態の悪化がみられたことから，試験 8 日に用量を 150 mg/kg/日に減量した（以下，200→150 mg/kg/日群と記載）。対照群及び高用量群には回復性試験群（1 群雌雄各 2 例）を設定し，投薬期間終了後 4 週間休薬して回復性を検討した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

200→150 mg/kg/日群の雄 2 例を，顕著な一般状態悪化のため試験 13 日及び 21 日に切迫殺した。これらの個体では，一般状態の変化として間代性痙攣，自発運動の低下，運動失調，接触時冷感，眼瞼下垂，嘔吐（血液を含む），筋攣縮及び横臥がみられ，切迫殺当日には蒼白，異常発声，流涎，散瞳，筋攣縮及び眼球振盪がみられた。剖検及び病理組織学的検査では変化は認められず，一般状態悪化の原因は不明であった。

体重測定，眼科学的検査，心電図検査，血液生化学的検査及び尿検査において，投薬に関連した変化はみられなかった。

生存例の一般状態観察において，50 mg/kg/日以上の投与群で軟便及び下痢がみられた。200→150 mg/kg/日群で減量前に運動失調，自発運動の減少，間代性痙攣，振戦及び眼瞼下垂がみられ，減量後にはタール状便，並びに餌，血液または被験物質を含む嘔吐がみられた。摂餌量の変化として，50 mg/kg/日以上の投与群で摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で白血球数及びリンパ球数の減少がみられた。

器官重量測定及び剖検において，200→150 mg/kg/日群で胸腺重量の減少及び胸腺の小型化が認められた。病理組織学的検査において，200→150 mg/kg/日群で胸腺にリンパ球枯渇が認められた。

投与期間中に認められた変化には，休薬による回復または回復傾向がみられた。リンパ球数の減少には完全な回復はみられなかったが，回復傾向が認められた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-7）。また，脳，心臓及び肺の組織中濃度を測定した結果，これらの組織における本薬の曝露が確認された。

以上，50 mg/kg/日以上の投与群で糞便異常及び摂餌量の減少がみられた。本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

Table 3-7　　カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	10	4330	5030	70500	78600
	50	19900	16500	318000	266000
	200→150[a]	47400	40300	812000	718000
試験 4 週	10	5170	5860	95600	106000
	50	27200	20500	475000	346000
	200→150[a]	59000	66500	1110000	1190000

Source: Table2.6.7.7D-0670007
a = 投与 8 日に 150 mg/kg/日に減量した

3.8　　カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験

［記載箇所：4.2.3.2-8］

本試験[Table2.6.7.7E-0770061]は，シポニモドをカニクイザルに 26 週間反復経口投与したときの毒性，及び 12 週間の休薬による回復性についての検討を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 群雌雄各 4 例）に 0（対照），10，50 及び 100 mg/kg の用量で 26 週間経口投与した。対照群及び高用量群には回復性試験群（1 群雌雄各 2 例）を設定し，投薬期間終了後 12 週間休薬して回復性を検討した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），免疫毒性試験［リンパ球フェノタイピング，T 細

胞依存性抗体産生（T-cell dependent antibody response，TDAR）検査及び NK 細胞活性検査]，病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

50 mg/kg/日群の雄 1 例及び 100 mg/kg/日群の雌 1 例を，それぞれ試験 104 日及び 173 日に切迫殺した。50 mg/kg/日群の雄 1 例では，一般状態の変化として軟便／水様便及び腹部膨満，前肢，後肢及び下腹部の浮腫及び軟化，食欲減退がみられた。剖検では十二指腸，空腸及び回腸の硬化，十二指腸に壁の肥厚，管腔内液体貯留及び結腸との癒着，病理組織学的検査では十二指腸，空腸，回腸または盲腸に血管障害，漿膜炎，粘膜下浮腫及び杯細胞の増加が認められ，腹膜炎と考えられた。皮膚に血管障害及び皮下組織の浮腫が認められた。100 mg/kg/日群の雌 1 例では，一般状態の変化として食欲不振，軟便／水様便，努力呼吸，口腔の蒼白，半眼及び衰弱，剖検において胸腺及び心嚢の腫大，並びに胸腔内の液体貯留，病理組織学的検査において心嚢に浮腫及び好酸球浸潤が認められた。いずれの動物においても，一般状態の悪化の原因は不明であった。

生存例の一般状態観察において，100 mg/kg/日群で水様便，被毛の汚れ（褐色），背骨の突出，腹部膨満，削痩，過敏反応及び振戦がみられた。また，100 mg/kg/日群の雄において体重減少が認められた。摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査において，投薬に関連した変化はみられなかった。

血液学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で白血球数及びリンパ球数の減少が認められた。100 mg/kg/日群では赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が，同群の雌では血小板数，赤血球容積粒度分布幅（red cell distribution width，RDW）及び網赤血球数の増加がみられた。血液生化学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で総タンパク及びアルブミンの減少，100 mg/kg/日群でアルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase，ALP）の減少がみられた。尿検査において，投薬に関連した変化はみられなかった。

リンパ球フェノタイピングにおいて，10 mg/kg/日以上の投与群で末梢血中の T 細胞数，B 細胞数及び NK 細胞数の減少がみられた。TDAR 検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で抗スカシガイヘモシアニン（keyhole limpet hemocyanin，KLH）IgM 抗体価及び抗 KLH IgG 抗体価の低下が認められた。NK 細胞活性検査には，投薬に関連した変化はみられなかった。

剖検において，100 mg/kg/日群で十二指腸，空腸及び回腸の壁の肥厚，同群の雌で胸腺及び脾臓の小型化がみられた。器官重量測定において，10 mg/kg/日以上の投与群で胸腺及び脾臓重量の減少，50 mg/kg/日群で肝臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で脾臓に PALS のリンパ組織萎縮，複数臓器（胃，十二指腸，空腸，盲腸，結腸，皮膚/皮下組織，腎臓）に血管障害，同群の雌で消化管（十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸及び直腸）に陰窩の過形成，びらん及び杯細胞の増加を伴う炎症がみられた。50 mg/kg/日以上の投与群で，腸間膜リンパ節に傍皮質のリンパ組織萎縮，胸腺にリンパ組織萎縮，雄の消化管に雌動物と同様の変化がみられた。

投与期間中に認められた変化には，休薬による回復または回復傾向がみられた。体重減少，リンパ球数の減少を含む血液学的検査及び血液生化学的検査値の変化，リンパ球フェノタイピング

及び TDAR 検査の変化，脾臓及び消化管の病理組織学的変化には，完全な回復はみられなかったが，回復傾向が認められた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-8）。

以上，雄では 50 mg/kg/日群で死亡及び消化管の炎症が認められたことから，NOAEL は 10 mg/kg/日と考えられた。雌ではすべての投薬群で消化管の炎症がみられたことから，NOAEL は規定されなかった。

Table 3-8　　カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	10	4690	4830	83500	84100
	50	13900	15900	254000	298000
	100	21600	23100	401000	446000
試験 22 週	10	6690	7890	132000	140000
	50	31700	32600	580000	619000
	100	41800	54800	843000	1040000

Source: Table2.6.7.7E-0770061

3.9　カニクイザルを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

［記載箇所：4.2.3.2-9］

本試験[Table2.6.7.7F-0770339]は，シポニモドをカニクイザルに 52 週間経口投与したときの毒性，及び 8 週間の休薬による回復性についての検討を目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 群雌雄各 4 例）に 0（対照），10，30 及び 100 mg/kg の用量で経鼻胃管により 52 週間経口投与した。対照群及び高用量群には回復性試験群（1 群雌雄各 2 例）を設定し，投薬期間終了後 8 週間休薬して回復性を検討した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），リンパ球フェノタイピング，病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

100 mg/kg/日群の雄 1 例が試験 99 日に死亡し，同群の雄 2 例をそれぞれ試験 208 日及び 396 日に一般状態の悪化のため切迫殺した。死亡例では水様便，皮膚緊張の低下（脱水），皮膚の乾燥，粗毛，円背位，体重減少，食欲不振及び嘔吐がみられ，試験 99 日に死亡した。試験 208 日に切迫殺した例では，水様便，腹部膨満，円背位，摂餌量の減少及び脱水が認められ，補助飼料による改善はみられなかったことから切迫殺を実施した。試験 396 日に切迫殺した例では持続的な体重減少，水様便，自発運動の低下，嘔吐及び円背位が認められ，補助飼料による改善がみられなかったことから切迫殺を実施した。この動物では痙攣，歯肉炎，皮膚の乾燥及び粗毛がみられた。臨床検査では生存例と同様，リンパ球減少等の変化がみられた。病理組織学的検査では，胸腺皮

質，脾臓及びリンパ節にリンパ球枯渇，毛包の萎縮，腎臓に尿細管の両染性沈着物が認められた。腎臓，肝臓，骨髄，膵臓，口腔，消化管に変化がみられ，口腔及び盲腸にみられた炎症はリンパ球枯渇に関連した二次的変化と考えられた。

眼科学的検査，心電図検査及び尿検査において，投薬に関連した変化はみられなかった。

生存例の一般状態観察において，100 mg/kg/日群では振戦，痙攣（雄のみ），水様便，摂餌量の減少，腹部膨満（雄のみ）及び嘔吐がみられた。また，100 mg/kg/日群の雄では体重減少がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で白血球数，リンパ球数，好塩基球数及び LUC 数の減少，並びに RDW の増加がみられた。血液生化学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群でグロブリン，アルブミン，総タンパク及び ALP（雄のみ）の減少がみられた。

リンパ球フェノタイピングにおいて，10 mg/kg/日以上の投与群で末梢血中 B 細胞，T 細胞，ヘルパーT 細胞及び細胞傷害性 T 細胞の減少がみられた。

器官重量測定において，10 mg/kg/日以上の投与群で脾臓重量の減少，100 mg/kg/日群の雌で胸腺重量の減少がみられた。剖検において，100 mg/kg/日群で胸腺の小型化がみられた。30 及び 100 mg/kg/日群の雄の各 1 例で皮膚に色素沈着及び過角化症が，30 mg/kg/日群の雄 1 例で陰嚢に膿瘍がみられた。病理組織学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群で胸腺に皮質の細胞密度の減少及び髄質の細胞密度の増加，脾臓に胚中心の減少，リンパ節に髄外造血の増加，胚中心の減少及び傍皮質の細胞密度の減少，腸管関連リンパ組織に胚中心の減少，骨髄に骨髄球系細胞の過形成並びにリンパ濾胞またはリンパ球集簇，骨格筋（大腿二頭筋）の変性／再生，皮膚に毛包の萎縮がみられた。骨格筋の変性／再生には用量依存的な重篤化がみられ，30 mg/kg/日群の雄 1 例及び 100 mg/kg/日群の雌 1 例ではびまん性又は多巣性の骨格筋の変性／再生が中等度に認められた。30 mg/kg/日群の雄 1 例において，陰嚢（潰瘍部近傍）の皮膚に皮膚癌が認められた。100 mg/kg/日群の雄 1 例において，皮膚の真皮表皮境界部に皮膚炎がみられた。皮膚でみられた変化は，シポニモドの免疫調節による二次的影響である可能性は否定できなかったが，陰嚢の皮膚癌は中間用量の 1 例のみでみられた変化であることから，投薬と関連した変化である可能性は低いと考えられた。

投与期間中に認められた変化には，皮膚の毛包萎縮を除き，休薬による回復または回復傾向がみられた。体重減少，臨床検査値の変化，リンパ球フェノタイピングの変化，リンパ節及び胸腺の病理組織学的変化には，8 週間の休薬による完全な回復はみられなかったが，回復傾向が認められた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 3-9）。

以上，30 mg/kg/日以上の投与群で中等度の骨格筋の変性がみられたことから，本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

Table 3-9　　カニクイザルを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 1 日	10	4040	3200	67400	51900
	30	11000	9380	198000	157000
	100	19100	16800	339000	293000
試験 51 週	10	5440	6620	95400	124000
	30	18000	12100	331000	215000
	100	46000	31000	884000	565000

Source: Table2.6.7.7F-0770339

4　遺伝毒性試験

4.1　ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験

［記載箇所：4.2.3.3.1-1］

本試験[Table2.6.7.8A-0612011]は，ネズミチフス菌株（TA97a，TA98，TA100，TA102 及び TA1535）を用い，シポニモドの遺伝子突然変異誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドの適用濃度は，実験 1（プレート法）では 8，40，200，1000 及び 5000 µg/plate，実験 2（プレインキュベーション法）では 312.5，625，1250，2500 及び 5000 µg/plate とし，いずれの実験も代謝活性化系存在下及び非存在下で実施した。実験 3（プレート法）では TA1535 株の代謝活性化系存在下において 8，40，200，1000 及び 5000 µg/plate，実験 4（プレインキュベーション法）では，TA100 及び TA102 の代謝活性化系非存在下において 19.531，39.063，78.125，156.25，312.5 µg/plate，TA102 の代謝活性化系存在下において 312.5，625，1250，2500，5000 µg/plate，実験 5（プレインキュベーション法）では TA100 の代謝活性化系非存在下において 2.344，4.688，9.375，18.75，37.5，75，150，300 µg/plate と設定した。

プレート法（実験 1 及び 3）では，析出または生育阻害のいずれも認められなかった。プレインキュベーション法では，5000 µg/plate の濃度で析出がみられた。また，代謝活性化非存在下では TA100 の 37.5 µg/plate 以上，TA102 の 156.25 µg/plate 以上，TA98 の 2500 µg/plate 以上の適用濃度で生育阻害がみられた。いずれの菌株においても，シポニモド処理による復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上，本試験条件下においてシポニモドは遺伝子突然変異誘発性を示さなかった。

4.2　ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞を用いた小核試験

［記載箇所：4.2.3.3.1-2］

本試験[Table2.6.7.8B-0414047]は，ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞を用い，シポニモドの小核誘発性を評価することを目的として GLP 非適用で実施した。

シポニモドの適用濃度は，代謝活性化系存在下で 37.5，75，150，300 µg/mL（3 時間処理+24 時間回復），代謝活性化系非存在下で 18.8，37.5，75，150 µg/mL（20 時間処理+48 時間回復）と設定した。

いずれの実験においても，シポニモド処理による小核を有する細胞数の増加は認められなかった。

以上，本試験条件下においてシポニモドは小核誘発性を示さなかった。

4.3 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［記載箇所：4.2.3.3.1-3］

本試験[Table2.6.7.8C-0612109]は，ヒト末梢血リンパ球を用い，シポニモドの染色体異常誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドの処理濃度は，代謝活性化系非存在下では 32.5，54.2，90.4 µg/mL（20 時間処理）または 49.3，66.6，90.0 µg/mL（3 時間処理+17 時間回復），代謝活性化系存在下では 26.5，43.1，70.1 µg/mL（3 時間処理+17 時間回復）または 27.0，49.3，66.6 µg/mL（3 時間処理+17 時間回復）と設定した。

いずれの実験においても，シポニモド処理による染色体構造異常を有する細胞数及び倍数性細胞数の増加はみられなかった。

以上，本試験条件下においてシポニモドは染色体異常誘発性を示さなかった。

4.4 マウスを用いた小核試験

［記載箇所：4.2.3.3.2-1］

本試験[Table2.6.7.9A-1470042]は，マウスの骨髄を用い，シポニモドの小核誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドを雄マウス（CD1，1 群 6 例）に実験 1 では 0（対照），250，500 及び 1000 mg/kg/日，実験 2 では 0（対照）及び 125 mg/kg/日の用量で，試験 1 日及び 2 日（初回投与 24 時間後）に経口投与した。媒体として 0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液を使用した。陽性対照群として雄 3 例にシクロホスファミドを 40 mg/kg の用量で単回経口投与した。試験 3 日（初回投与 48 時間後）に剖検して骨髄塗抹標本を作製した。1000 mg/kg/日群では，一般状態の悪化がみられたことから 2 例を切迫殺し，小核出現頻度の解析は実施しなかった。

一般状態観察において，500 mg/kg/日群では試験 2 日の投与後に立毛，試験 3 日に頭部傾斜がみられた。1000 mg/kg/日群では試験 2 日の投与後に立毛及び半眼が，試験 3 日にはさらに振戦，頭部傾斜，筋攣縮，接触時冷感及び痙攣がみられた。

いずれの投薬群においても，シポニモド投与に関連した小核を有する多染性赤血球数の増加はみられなかった。また，投薬群の多染性赤血球出現頻度は対照群と同等であった。

以上，本試験条件下においてシポニモドは小核誘発性を示さなかった。

4.5 ラットを用いた小核試験

［記載箇所：4.2.3.3.2-2］

本試験[Table 2.6.7.9B-0770326]は，ラットの骨髄を用い，シポニモドの小核誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，雄ラット（Wistar Hannover，1 群 7 例）に 0（媒体），125，395 及び 1250 mg/kg の用量で試験 1 日及び 2 日（初回投与 24 時間後）に経口投与した。陽性対照群として雄 3 例にシクロホスファミドを 10 mg/kg の用量で試験 1 日及び 2 日（初回投与 24 時間後）に経口投与した。試験 3 日（初回投与 48 時間後）に剖検して骨髄塗抹標本を作製した。

いずれの投薬群においても，シポニモド投与に関連した小核を有する多染性赤血球数の増加はみられなかった。また，多染性赤血球の出現頻度は対照群と投薬群で同程度であった。

以上，本試験条件下においてシポニモドは小核誘発性を示さなかった。

5 がん原性試験

5.1 マウスを用いた 104 週間がん原性試験

［記載箇所：4.2.3.4.1-1］

本試験[Table 2.6.7.10A-0870139]は，マウスを用いてシポニモドのがん原性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，マウス（CD1，1 群雌雄各 70 例）に 0，2，8 及び 25 mg/kg/日の用量で 91～104 週間経口投与した。生存率が 20/70 例まで低下したことから，8 及び 25 mg/kg/日群の雄では試験 91 週，同投与群の雌では試験 92 週，2 mg/kg/日群の雌では試験 97 週に投与を中止した。生存率が 15/70 例まで低下したことから，8 mg/kg/日群の雄では試験 93 週，25 mg/kg/日群の雌では試験 95 週，25 mg/kg/日群の雄では試験 96 週，8 mg/kg/日群の雌では試験 98 週，2 mg/kg/日群の雌では試験 101 週に剖検した。一般状態観察（触診による腫瘤観察を含む），体重測定，摂餌量測定，病理検査（剖検及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

いずれの投薬群においても，摂餌量及び触知可能な腫瘤（触診）発現率に変化は認められなかった。

2 mg/kg/日以上の投与群で生存率の低下が認められた。投薬に関連した死因として，2 mg/kg/日以上の投与群でみられた血管肉腫及び悪性リンパ腫（雌のみ）の増加，並びに肺の変化（肺胞マクロファージの増加及び肺胞内の好酸性物質）が考えられた。

一般状態の変化として，2 mg/kg/日以上の投与群で皮膚の硬化，膨張及び色調の変化（青色，黒色及び紫色）が認められた。25 mg/kg/日群の雌では，深呼吸，浅呼吸，腹部膨満及び腹部に硬い構造物が認められた。体重の変化として，2 mg/kg/日以上の投与群で体重減少が認められた。

投薬に関連した腫瘍性病変の発現頻度をTable 5-1に示す。2 mg/kg/日以上の投与群で血管腫/血管肉腫の発現頻度の増加がみられた。また，腫瘍の発現時期は，投薬群では対照群と比較して早期であった。同群の雌では，2 mg/kg/日以上の投与群で悪性リンパ腫の発現頻度の増加がみられた。なお，25 mg/kg/日投与群の雄で認められた腎尿細管腺腫の発生頻度の増加傾向については，統計学的有意差はみられず，腎尿細管癌の発生頻度の増加も認められないことから，投薬との関連性のない偶発的変化と考えられた。

投薬に関連した非腫瘍性病変として，2 mg/kg/日以上の投与群で複数の組織／器官（脂肪組織，大腿骨及び胸骨骨髄，卵巣，子宮，膵臓及び皮下組織）に血管拡張，心臓に血管腫様過形成，肺に肺胞マクロファージの増加，肺胞内の好酸性物質，線維化を伴う慢性炎症，涙腺に腺房細胞の変性／萎縮，肝臓に肝細胞肥大及び色素沈着，皮下組織の浮腫，腺胃の過形成及びびらん／潰瘍，腎臓に尿細管の核内封入体を伴う巨大核がみられた。

TK 試験の結果，本薬による曝露が確認された（Table 5-2）。

以上，本試験では，すべての投薬群の雌雄で血管腫／血管肉腫，すべての投薬群の雌で悪性リンパ腫の発現頻度の増加がみられた。

Table 5-1　　マウスを用いた 104 週間がん原性試験における腫瘍性病変の発現頻度

	雄				雌			
用量（mg/kg/日）	0	2	8	25	0	2	8	25
評価動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
悪性リンパ腫 [a]	16	25	21	20	26	42	38	40
血管肉腫/血管腫 [b]	10	47	49	48	9	37	34	39

Source: Table2.6.7.10A-0870139

a = 網内系組織に悪性リンパ腫がみられた個体数を示す

b = いずれかの臓器に血管肉腫/血管腫がみられた個体数を示す

Table 5-2　　マウスを用いた 104 週間がん原性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	投与 3 時間後の血中濃度(ng/mL)		投与 6 時間後の血中濃度(ng/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 26 週	2	1500	1470	1440	994
	8	4370	4630	6100	3900
	25	12600	9040	14800	8350

Source: Table2.6.7.10A-0870139

5.2　　ラットを用いた 104 週間がん原性試験

［記載箇所：4.2.3.4.1-2］

本試験[Table 2.6.7.10B-0870138]は，ラットを用いてシポニモドのがん原性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 50 例）に雄では 0（対照），10，30 及び 90 mg/kg/日，雌では 0（対照），3，10 及び 30 mg/kg の用量で 104 週間経口投与した。一般状態観察（触診による腫瘤観察を含む），体重測定，摂餌量測定，病理検査（剖検及び病理組織学的検査）及び TK 試験を実施した。

投与期間終了時の生存率は対照群を含むすべての投与群で 52～60%（雄）及び 40～70%（雌）であり，本薬投与に関連した生存率への影響は認められなかった。

いずれの投薬群においても，摂餌量及び触知可能な腫瘤（触診）の発現率に変化は認められなかった。

一般状態の変化として，10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で眼球の蒼白化，損傷，腫大及び混濁，半眼及び眼脂，立毛，脱水及び流涎がみられた。同群の雄では努力呼吸及び呼吸音異常，雌では膣分泌物，腹部膨満，腹部硬結，切歯の透明化がみられた。体重の変化として，10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で体重減少が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では，投薬に関連した腫瘍性病変として，30 mg/kg/日以上の投与群の雄で甲状腺に濾胞上皮細胞癌の発現頻度の増加がみられた。雄の甲状腺では，増殖性変化として 10 mg/kg/日以上の投与群で濾胞上皮細胞腺腫，90 mg/kg/日群で濾胞上皮細胞の過形成が認められた。

投薬に関連した非腫瘍性病変として，10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で肝臓に好酸性細胞巣，胆管過形成，及び小葉中心性肝細胞肥大がみられた。10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で，胸腺に髄質の拡大及びリンパ節に類洞の拡張，90 mg/kg/日群の雄では脾臓にリンパ球枯渇が認められ，シポニモドの薬理作用に関連した変化と考えられた。同群では複数の臓器［［脳，子宮，精巣，胸腺，腎臓，心臓，副腎，陰核腺／包皮腺，乳腺，唾液腺（耳下腺，顎下腺及び舌下腺），喉頭，肝臓，消化管（舌，胃，十二指腸，空腸，盲腸，大腸，直腸），骨格筋，子宮頚部，卵巣，卵管，膵臓，皮膚，気管，膀胱，膣，血管，動脈，腹腔，胸腔，坐骨神経，精巣上体，ハーダー腺，涙腺，前立腺及び精嚢］に血管炎がみられ，これに関連した二次的変化として脳に出血，腎臓に慢性進行性腎症，肺に胸膜の線維化，骨髄に細胞密度の増加，精巣に精細管変性がみられた。10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で角膜に炎症，同群の雌で子宮に拡張，脈管組織の肥大/過形成，炎症，潰瘍，出血及び子宮内膜過形成，10 及び 30 mg/kg/日群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で回腸に単核球浸潤がみられた。

TK 試験の結果，本薬による曝露が確認された（Table 5-3）。

以上，本試験では雄の甲状腺に，10 mg/kg/日以上の投与群で濾胞上皮細胞腺腫，30 mg/kg/日以上の投与群で甲状腺濾胞上皮癌，90 mg/kg/日群で濾胞上皮細胞の過形成が認められた。

Table 5-3 ラットを用いた 104 週間がん原性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	投与 3 時間後の血中濃度(ng/mL)		投与 6 時間後の血中濃度(ng/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 26 週	3	NA	2590	NA	1610
	10	2220	7030	1230	7630
	30	4140	13600	3970	16100
	90	5770	NA	11600	NA

Source: Table2.6.7.10B-0870138
NA = not applicable

6 生殖発生毒性試験

6.1 雄ラットの授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

［記載箇所：4.2.3.5.1-1］

本試験[Table 2.6.7.12A-0970446]は，シポニモドを雄ラットに投与したときの授胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，雄ラット（Wistar Hannover，1 群 25 例）に 0（対照），2，20 及び 200 mg/kg/日の用量で交配前 28 日間，交配期間中及び剖検前日まで経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，性周期検査，生殖能検査（交配所要日数，交尾率，受胎率及び妊娠率），病理検査（剖検及び器官重量測定）及び精子検査を実施した。母動物を妊娠 13 日に帝王切開して剖検，黄体数の計測及び子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存胎児数，着床前及び着床後死亡率）を実施した。

本試験において死亡は認められず，剖検において投薬に関連した変化はみられなかった。

200 mg/kg/日群で，一般状態の変化として糞量の減少，並びに体重及び摂餌量の減少が認められた。2 mg/kg/日以上の投与群では，試験 1 日から 8 日に一過性の摂餌量減少が認められた。剖検では，200 mg/kg/日群で精巣上体重量の減少が認められ，体重減少に関連した変化と考えられた。精子検査及び生殖能検査には変化はみられなかった。子宮パラメータ検査において，200 mg/kg/日群で黄体数，着床数及び生存胎児数の減少並びに着床前死亡率の増加がみられた。雌動物は無処置であることから，黄体数の減少は投薬に関連した変化ではなく生理的変動と考えられ，着床数，生存胎児数及び着床前死亡率の減少は，黄体数の低値に関連した変化と考えられた。

以上，200 mg/kg/日群で体重及び摂餌量の減少がみられたことから，本試験における雄動物の一般毒性に関する NOAEL は 20 mg/kg/日，授胎能及び初期胚発生に関する NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。

6.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

［記載箇所：4.2.3.5.1-2］

本試験[Table 2.6.7.12B-1070054]は，シポニモドを雌性ラットに投与したときの受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，雌性ラット（Wistar Hannover，1 群 24 例）に 0（対照），0.1，0.3 及び 1.0 mg/kg/日の用量で交配前 14 日間，交配期間中及び妊娠 6 日まで経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，性周期検査，生殖能検査（交配所要日数，交尾率，受胎率及び妊娠率）及び TK 試験を実施した。妊娠 13 日に帝王切開して剖検，黄体数の計測及び子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存胎児数，着床前及び着床後死亡率）を実施した。

本試験において投薬に関連した死亡は認められず，一般状態観察，体重測定，性周期検査，生殖能検査，子宮パラメータ検査及び剖検において投薬に関連した変化はみられなかった。

摂餌量の変化として，0.3 mg/kg/日以上の投与群で交配前期間に摂餌量減少が認められた。

TK 試験の結果，本薬による曝露が確認された（Table 6-1）。

以上，0.3 mg/kg/日以上の投与群で摂餌量への影響がみられたことから，本試験における雌動物の一般毒性に関する NOAEL は 0.1 mg/kg/日と考えられた。また，いずれの投薬群においても受胎能への影響がみられなかったことから，雌受胎能及び初期胚発生に関する NOAEL は 1.0 mg/kg/日と考えられた。

Table 6-1　雌性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試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng*h/mL)
試験 0 日	0.1	17.4	317
	0.3	46.1	915
	1.0	236	4410
試験 10 日	0.1	46.4	841
	0.3	103	2100
	1.0	468	9030

Source: Table2.6.7.12B-1070054

6.3　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

［記載箇所：4.2.3.5.2-1］

本試験[Table 2.6.7.13A-0770653]は，シポニモドを妊娠ラットに投与したときの胚・胎児発生に対する影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，妊娠ラット（Wistar Hannover，1 群 25 例）に 0（対照），1，5 及び 40 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日に経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定及び TK 試験を実施した。妊娠 21 日に帝王切開し，剖検，黄体数の計測，子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存

胎児数，着床前及び着床後胚死亡率，胎児性別判定及び胎児体重測定）及び胎児検査（外表，内臓及び骨格検査）を実施した。

本試験において投薬に関連した死亡は認められず，剖検では投薬に関連した変化はみられなかった。

40 mg/kg/日群において，一般状態の変化として糞量の減少，自発運動の増加及び下腹部の汚れがみられた。1 mg/kg/日以上の投与群において妊娠 18 から 21 日の体重増加量の減少及び妊娠 21 日の体重減少が，5 mg/kg/日以上の投与群において妊娠 15 から 18 日の体重増加量の減少がみられた。40 mg/kg/日群では，投与期間を通して体重増加量の減少（妊娠 6 から 18 日の体重増加量が対照群と比較して約 40%減少）及び摂餌量の減少がみられた。1 及び 5 mg/kg/日群では，妊娠 6 から 9 日に一過性の摂餌量の減少がみられた。40 mg/kg/日群でみられた体重及び摂餌量への影響は，投薬に関連した変化である可能性が考えられた。1 mg/kg/日以上の投与群において妊娠子宮重量の減少がみられたことから，妊娠後期にみられた体重への影響は吸収胚数の増加との関連が考えられた。

子宮パラメータ検査において，1 mg/kg/日以上の投与群で早期吸収胚数及び着床後胚死亡率の増加，並びに生存胎児数の減少がみられ，5 mg/kg/日以上の投与群ではすべての母動物で全胚吸収が認められた。生存胎児が得られた 1 mg/kg/日群では，胎児体重及び胎児の性比に変化はみられなかった。

胎児検査では，1 mg/kg/日群で投薬に関連した外表異常（異常回転肢及び口蓋裂），内臓異常（巨心）及び骨格異常（鎖骨形態異常及び口蓋裂）が認められた。また，投薬に関連した外表変異（全身性浮腫）及び骨格変異（頭頂間骨の不完全骨化，指節骨及び趾節骨の未骨化，胸骨分節の形態異常及び不完全骨化，頸肋）の発現頻度の増加がみられた。

TK 試験の結果，本薬による曝露が確認された（Table 6-2）。

以上，40 mg/kg/日群の母動物で体重及び摂餌量の減少が認められたことから，母動物の一般毒性に対する NOAEL は 5 mg/kg/日と判断された。1 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加，並びに胎児の外表，内臓及び骨格検査において異常が認められたことから，母動物の生殖能及び胚・胎児に関する NOAEL は規定されなかった。シポニモドはラットに対して催奇形性を示した。

Table 6-2　　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng*h/mL)
妊娠 17 日	1	498	10300
	5	2870	57900
	40	14800	316000

Source: Table2.6.7.13A-0770653

6.4　　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

［記載箇所：4.2.3.5.2-2］

本試験[Table 2.6.7.11-0770060]は，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定を目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，妊娠ウサギ（New Zealand White，1 群 3 または 6 例）に 0（対照），5，10，50，100 及び 150 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 20 日に経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施した。妊娠 29 日に帝王切開し，剖検，黄体数の計測，子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存胎児数，着床前及び着床後胚死亡率，胎児体重測定）及び胎児の外表検査を実施した。

150 mg/kg/日群の 3 例中 3 例を，体重減少，食欲低下及び一般状態の悪化のため妊娠 13 日に切迫殺した。これらの例では，他群でみられた一般状態の変化に加えて自発運動の増加，運動失調及び振戦が，剖検において胆嚢の拡張が認められた。また，5，10，50 及び 100 mg/kg/日群のそれぞれ 1/6，3/6，3/3 及び 2/3 例を流産のため安楽殺した。

5 mg/kg/日以上の投与群において，投薬に関連した流産がみられた。また，妊娠 17 から 24 日に体重減少がみられ，吸収胚数の増加に関連した変化と考えられた。50 mg/kg/日以上の投与群では，糞量減少及び軟便，並びに摂餌量の減少が認められた。子宮パラメータ検査において，5 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加及び生存胎児数の減少がみられ，50 及び 100 mg/kg/日群ではすべての母動物で流産または全胚吸収が認められた。5 及び 10 mg/kg/日群では，胎児体重及び外表検査に変化はみられなかった。

以上，5 mg/kg/日以上の投与群で母動物及び胚・胎児への影響が認められたことから，本試験における母動物及び胚・胎児発生の NOAEL は規定されなかった。

6.5 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

［記載箇所：4.2.3.5.2-3］

本試験[Table 2.6.7.13B-0770652]は，シポニモドを妊娠ウサギに投与したときの胚・胎児発生に対する影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，妊娠ウサギ（New Zealand White，1 群 20 例）に 0（対照），0.1，1 及び 5 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 20 日に経口投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施した。妊娠 29 日に帝王切開し，剖検，黄体数の計測，子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存胎児数，着床前及び着床後胚死亡率，胎児性別判定及び胎児体重測定）及び胎児検査（外表，内臓及び骨格検査）を実施した。

5 mg/kg/日群の 4 例を，投薬に関連した流産がみられたため安楽殺した。

いずれの投薬群においても，摂餌量及び剖検に投薬に関連した変化はみられなかった。

一般状態の変化として，5 mg/kg/日群で流産が認められた。また，妊娠 17 から 24 日の体重増加量の減少及び剖検時に妊娠子宮重量の減少が認められ，吸収胚数の増加に関連した変化と考えられた。

子宮パラメータ検査において，1 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加が，5 mg/kg/日群では早期及び後期吸収胚数の増加，並びに生存胎児数の減少が認められた。いずれの投与群においても，胎児体重及び胎児の性比に変化はみられなかった。

胎児検査において，投薬に関連した異常の発現頻度の増加は認められなかった。内臓検査において，5 mg/kg/日群で内臓変異（小型胆嚢）の発現頻度の増加がみられた。骨格検査において，骨格変異の発現頻度の増加が 1 mg/kg/日以上の投与群（舌骨の不完全骨化及び湾曲，胸骨分節の癒合及び形態異常）及び 5 mg/kg/日群（指節骨の不完全骨化及び未骨化，距骨の骨化遅延，趾節骨の不完全骨化及び未骨化）でみられた。

TK 試験の結果，本薬による曝露が確認された（Table 6-3）。

以上，5 mg/kg/日群の母動物で流産が認められたことから，本試験における母動物の一般毒性及び生殖機能に対する NOAEL は 1 mg/kg/日と判断された。1 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数及び骨格変異の増加が認められたことから，胚・胎児発生の NOAEL は 0.1 mg/kg/日と判断された。

Table 6-3　　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)	AUC0-24h (ng*h/mL)
妊娠 20 日	0.1	6.52	NR
	1	66.4	958
	5	426	5510

Source: Table 2.6.7.13B-0770652
NR: Not reported

6.6　ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

［記載箇所：4.2.3.5.3-1］

本試験[Table 2.6.7.14-0970449]は，シポニモドを妊娠期及び授乳期のラットに投与したときの母動物及び出生児の発達への影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液）に懸濁し，妊娠ラット（Wistar Hannover，1 群 24 例）に 0（対照），0.05，0.15 及び 0.5 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から分娩後 20，21 または 22 日まで経口投与した。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を実施し，出生児の離乳後（分娩後 21，22 または 23 日）に剖検した。出生児について，生存率，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，身体発達検査（耳介開展，眼瞼開裂，膣開口及び包皮分離），感覚検査（立ち直り反応，聴覚性驚愕反射，瞳孔反射及び視覚性置き直し反応），行動発達に関する検査（聴覚性驚愕馴化，自発運動量測定及び水迷路試験），血液学的検査，免疫毒性検査（TDAR 検査及びリンパ球フェノタイピング），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査），外表及び内臓検査を実施した。出生児同士を交配し，性周期検査，生殖能

検査（交配所要日数，交尾率，受胎率及び妊娠率），黄体数の計測及び子宮パラメータ検査（着床数，吸収胚数及び死亡胎児数，生存胎児数，着床前及び着床後死亡率）を実施した。0.5 mg/kg/日群では生存児数の減少により全個体を生殖能／行動発達に関する検査に割り当てたため，免疫毒性検査は実施しなかった。

母動物において，0.5 mg/kg/日群の 1 例で難産がみられたため，妊娠 22 日に安楽殺した。また，同群の 1 例で分娩がみられなかったため，妊娠 26 日に安楽殺した。

いずれの投薬群の母動物においても，一般状態及び剖検に投薬に関連した変化は認められなかった。0.15 mg/kg/日以上の投与群で妊娠 6 から 9 日に体重増加量の減少，0.5 mg/kg/日群では妊娠期及び授乳期に体重及び体重増加量の減少がみられた。0.05 mg/kg/日以上の投与群の妊娠期及び 0.15 mg/kg/日以上の投与群の授乳期に，摂餌量の減少がみられた。0.15 mg/kg/日以上の投与群で妊娠期間の延長が，0.5 mg/kg/日群で出産率，生存児数及び出生率の減少並びに死亡児数の増加がみられた。

出生児では，0.15 mg/kg/日以上の投与群で 4 日生存率の減少，0.5 mg/kg/日群で 7 日及び 14 日生存率並びに離乳率の減少が認められた。0.15 mg/kg/日以上の投与群で生後 21 日における腹子数の減少が認められた。一般状態観察において，0.15 mg/kg/日以上の投与群で脱水，空腹，削痩，虚弱，自発運動の低下，接触時冷感，後肢屈曲異常，曲尾，頭蓋の平坦化，切歯の不正咬合が認められた。これらの変化の多くは生後 0 から 4 日を中心に認められたが，平坦な頭蓋及び切歯の不正咬合は生後 4 日以降にみられた。体重の変化として，0.5 mg/kg/日群で生後 4，7 及び 14 日に体重減少が認められた。離乳前の身体発達及び感覚検査において，0.15 mg/kg/日以上の投与群の雌及び 0.5 mg/kg/日群の雄で眼瞼開裂の早期化，0.5 mg/kg/日群で聴覚性驚愕反射の遅延が認められた。これらの変化は，体重減少に関連した変化である可能性が考えられた。耳介開展及び立ち直り反応には変化はみられなかった。生後 0 から 7 日に死亡した出生児の外表検査及び内臓検査において，0.15 mg/kg/日以上の投与群で異常及び変異（口蓋裂，舌裂，総動脈幹，全身性浮腫，鎖肛，遺残肝葉，肥大脾，肥大腎，局所性浮腫／血腫，頭蓋の膨化・軟化，肛門生殖突起間短縮，肝尾状葉肥大）の発現頻度の増加がみられた。雄では精巣とともに子宮角様組織（卵巣を欠く）がみられたが，病理組織学的検査では関連する変化はみられず，詳細は不明であった。外表異常（四肢屈曲異常，曲尾，頭蓋の形態異常）がみられた個体について骨格検査を実施した結果，異常は認められなかった。なお，シポニモドのラットを用いた胚・胎児発生試験（試験番号：0770653）において催奇形性が認められている。

出生児の離乳後の検査において，投薬に関連した死亡は認められなかった。一般状態の変化として，0.05 mg/kg/日以上の投与群で切歯の不正咬合が，0.5 mg/kg/日群で頭蓋の平坦化が認められた。体重及び摂餌量の変化は離乳後早期に認められ，0.05 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 0.5 mg/kg/日群の雌で体重増加量の減少，0.5 mg/kg/日群の雌雄で摂餌量の減少がみられた。身体発達及び感覚検査において，0.5 mg/kg/日群で瞳孔反射を示す個体数の減少，並びに膣開口及び包皮分離の軽度の遅延が認められた。視覚性置き直し反応には変化は認められなかった。行動発

達に関する検査（聴覚性驚愕馴化，自発運動量測定及び水迷路試験），性周期検査，生殖能及び子宮パラメータ検査において，変化は認められなかった。剖検では，0.05 mg/kg/日以上の投与群で切歯の不正咬合が認められた。病理組織学的検査において，下顎切歯の形態異常，軽度の出血及び歯髄腔の壊死がみられたが，基質（象牙前質，象牙質及びエナメル質）には投薬に関連した変化は認められなかった。0.05 及び 0.15 mg/kg/日群の免疫毒性検査では，血液学的検査，病理検査（胸腺及び脾臓）及び TDAR 検査において，投薬に関連した変化は認められなかった。リンパ球フェノタイピングでは，0.15 mg/kg/日群で末梢血中リンパ球サブセットの変化（総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数及び細胞障害性 T 細胞数の増加並びにナチュラルキラー細胞数の減少），0.05 mg/kg/日以上の投与群で脾臓のリンパ球サブセットの変化（総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞障害性 T 細胞数及び B 細胞数の増加）が認められた。いずれの投薬群においても，胸腺のリンパ球サブセットに変化はみられなかった。

以上，母動物では 0.15 mg/kg/日以上の投与群で体重増加量及び摂餌量の減少，並びに妊娠期間の延長が認められたことから，本試験における母動物の一般毒性及び生殖毒性の NOAEL は 0.05 mg/kg/日と判断された。出生児では，0.15 mg/kg/日以上の投与群で生存率の減少及び一般状態の変化，異常及び変異の発現頻度の増加がみられたことから，NOAEL は 0.05 mg/kg/日と判断された。

7 局所刺激性試験

7.1 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

［記載箇所：4.2.3.6-1］

本試験[Table 2.6.7.16-0970033]は，シポニモドをウサギの皮膚に適用したときの皮膚一次刺激性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドの 0.5 g を 0.5 mL の媒体（50%エタノール水溶液）に浸漬し，雄ウサギ（New Zealand White，3 例）の背部皮膚に 2×3 cm のパッチを用いて塗布した。パッチを通気性テープで固定し，半閉塞条件下で 4 時間適用した。適用部位の近隣の無処置皮膚を対照とした。パッチ除去後約 1，24，48 及び 72 時間後に皮膚反応を評価した。

いずれの動物においても，紅斑及び浮腫は認められなかった。

以上，本試験条件下でシポニモドは皮膚刺激性を示さなかった。

7.2 ウサギを用いた眼一次刺激性試験

［記載箇所：4.2.3.6-2］

本試験[Table 2.6.7.16-0970034]は，ウサギの眼を用いてシポニモドの眼への刺激性を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドの 0.1 mL（23.8 mg に相当する）を雄ウサギ（New Zealand White，3 例）の片眼の結膜嚢内に適用した。反対側の無処置眼を対照とした。適用から 1，24，48，72 時間及び 7 日後に眼刺激性検査を実施した。

全例の結膜に発赤，浮腫及び分泌物（スコア 1 または 2）が認められた。これらの変化は適用の 1 時間後から 72 時間後にかけて認められ，適用の 7 日後に消失した。また，適用の 1 時間後に虹彩に刺激性（明瞭に深化した皺，鬱血，腫脹，中等度の角膜周辺充血；または充血；虹彩は光に反応；スコア 1）が認められ，適用の 24 時間後に回復した。2 例で適用の 1 時間後に被験物質の残渣が認められた。角膜の混濁及び損傷，並びに眼及び眼周囲の着色は認められなかった。

以上，本試験条件下でシポニモドの重篤な眼刺激性は示唆されなかった。

7.3 ウサギを用いた静脈内，動脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性試験

［記載箇所：4.2.3.6-3］

本試験[Table 2.6.7.16-1270404]は，シポニモドをウサギに静脈内，動脈内及び静脈周囲投与したときの局所刺激性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（注射用生理食塩水）に溶解して 0.005 mg/mL の溶液を調製し，雄ウサギ（New Zealand White，1 群 3 例，静脈内投与の対照群は 2 例）に 0（対照）及び 0.015 mg/kg の用量で単回静脈内投与，0.00125 mg/kg の用量で単回動脈内投与，0.0005 mg の用量で単回静脈周囲投与した。静脈内投与の対照群及び投薬群では，大腿静脈に留置カテーテルを設置して 5 時間の輸注を実施した。動脈内投与群（留置カテーテル設置，15 分間の輸注）及び静脈周囲投与群（ボーラス投与）では，左耳に投与液を，右耳に対照として生理食塩水を投与した。一般状態観察，体重測定及び局所刺激性検査を実施し，試験 5 日に剖検して投与部位の病理組織学的検査を実施した。

静脈内投与群の 3 例中 1 例において，食欲不振，無便，自発運動の低下，背骨の突出，半眼が認められた。動脈内投与及び静脈周囲投与群では，局所刺激性検査を含むいずれの検査においても投薬に関連した変化は認められなかった。

以上，本試験条件下でシポニモドは静脈内投与，動脈内投与及び静脈周囲投与時に局所刺激性を示さなかった。

8 その他の毒性試験

8.1 免疫毒性試験

8.1.1 ラットを用いた 4 週間経口投与免疫毒性試験

［記載箇所：4.2.3.7.2-1］

本試験[Table2.6.7.17A-0770500]は，ラットを用いて免疫毒性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 10 例）に 0（媒体），0.3（雌）または 1.5（雄），10 及び 50 mg/kg/日の用量で 4 週間経口投与し，試験 11 及び 19 日に KLH の皮下投与により免疫した（以下+KLH と記す）。また，1 群雌雄各 10 例のラットに 0（媒体）及び 50 mg/kg/日の用量で同様に投与した（以下−KLH と記す）。これらの−KLH 群には回復性試験群（1 群雌雄各 6 例）を設定し，投薬期間終了後に 8 週間の休薬期間をおき，回復性試験 41 及び 50 日に KLH により免疫した。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，免疫毒性試験（リンパ球フェノタイピング及び TDAR 検査）及び病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査）を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態観察において投薬に関連した変化は認められなかった。0.3 及び 1.5 mg/kg/日以上の投与群（±KLH）において，体重，体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。

血液学的検査では，リンパ球数，白血球数，単球数，好酸球数，好塩基球数及び LUC 数の減少が認められた。リンパ球フェノタイピングでは，末梢血中の総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞障害性 T 細胞数及び B 細胞数の減少が認められた。脾臓では，リンパ球数，総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞障害性 T 細胞数及び B 細胞数の減少が認められた。胸腺では，リンパ球，総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数及び細胞障害性 T 細胞数の増加が認められた。

TDAR 検査では，0.3 及び 1.5 mg/kg/日以上の投与群（+KLH）において，抗 KLH IgM 抗体及び抗 KLH IgG 抗体の抗体価の低下が認められた。

器官重量測定において，1.5 mg/kg/日以上の投与群の雄（+KLH）で脾臓重量の減少が認められた。病理組織学的検査において，0.3 及び 1.5 mg/kg/日以上の投与群（±KLH）で胸腺に小型リンパ球の増加を伴う髄質の拡大，脾臓の PALS にリンパ球枯渇が認められた。50 mg/kg/日群では，器官重量測定において+KLH 群の雌で脾臓重量の減少が，−KLH 群の雄で胸腺重量の増加がみられた。病理組織学的検査において，±KLH 群の腸間膜リンパ節及び下顎リンパ節の皮質/傍皮質にリンパ球の枯渇が認められた。

回復性試験において，血液学的検査値の変化は 6 週間の休薬による回復性が認められた。体重及び摂餌量測定，リンパ球フェノタイピング，TDAR 検査，器官重量測定，病理組織学的検査においてみられた変化には，8 週間の休薬による回復性が認められた。

以上，本試験ではシポニモドによる免疫系への影響がみられたが，休薬による回復性が認められた。

8.2 毒性発現の機序に関する試験

マウスを用いたがん原性試験（試験番号：0870139）において，すべての投薬群で血管肉腫の増加がみられたが，ラットを用いたがん原性試験（試験番号：0870138）では同様の変化はみら

れなかった。したがって，血管内皮細胞に対するシポニモドの影響の種特異性を検討する目的で，マウス及びラットを用いた毒性発現機序検討試験，並びにマウス，ラット及びヒト血管内皮細胞を用いた *in vitro* 毒性発現機序検討試験を実施した。また，免疫抑制による皮膚腫瘍の発現リスクの増加が知られていることから，マウスを用いてシポニモドの皮膚メラノサイトへの影響を検討した。

8.2.1 マウス，ラット及びヒト血管内皮細胞を用いた *in vitro* 毒性発現機序検討試験

［記載箇所：4.2.3.7.3-1］

本試験[Table2.6.7.17B-1420148]は，マウス，ラット及びヒト血管内皮細胞の細胞増殖及び血管新生因子である胎盤成長因子 2（placental growth factor 2，PLGF2）産生に対するシポニモド及び主要な代謝物である LYS815（M17）の影響を検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。

市販されている初代培養のマウス骨格筋微小血管由来，ラット肺微小血管及び大動脈由来，並びにヒト皮膚及び肺微小血管由来の血管内皮細胞を用いて実験を行った。シポニモド及び LYS815 を 24 時間処理し，細胞数測定，5-ethynyl-2-deoxyuridine（EdU）取り込みを指標とした細胞増殖の評価及び PLGF2 濃度測定を実施した。

マウス血管内皮細胞では，10 nM から 1.25 µM のシポニモド曝露により EdU 取り込みの増加がみられた。また，1 nM 以上の曝露では PLGF2 の増加傾向が認められ，100 nM 以上では約 150%の増加を示した。1.25 µM を上回る曝露では EdU 取り込みは減少し，5 µM を上回る曝露では細胞数の減少（約−20%）がみられた。ラット肺及び大動脈由来血管内皮細胞では，シポニモド曝露による EdU 取り込みの増加はみられず，PLGF2 の明らかな増加も認められなかった。ヒト皮膚由来血管内皮細胞では，10 nM 以上のシポニモド曝露により EdU 取り込みの減少が認められたが，ヒト肺由来の細胞では EdU 取り込みの減少はみられなかった。いずれのヒト由来細胞においても PLGF2 の増加は認められなかった。

LYS815 による細胞増殖または PLGF2 の増加はいずれの細胞においても認められなかった。

以上，本試験ではマウス血管内皮細胞においてシポニモドによる細胞増殖促進及び PLGF2 産生の増加が認められた。ラット及びヒトの血管内皮細胞では，同様の変化は認められなかった。

8.2.2 マウスを用いた毒性発現機序検討試験

［記載箇所：4.2.3.7.3-2］

本試験[Table2.6.7.17B-1370782]は，マウスへの 39 週間反復投与により，シポニモドの血管内皮細胞の増殖及び血管新生因子産生に対する影響を継時的に検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，雄マウス（CD1，1 群 30 例，274 日間投与群のみ 50 例）に 0（媒体），25 及び 75 mg/kg/日の用量で経口投与した。

すべての用量において，1，3，7，14，28，91 及び 274 日間の投与後に剖検を実施した（Table 8-1）。

Table 8-1　　マウスを用いた毒性発現機序検討試験の群構成

	投与期間（日）						
用量（mg/kg/日）	1	3	7	14	28	91	274
0	30	30	30	30	30	30	50
25	30	30	30	30	30	30	50
75	30	30	30	30	30	30	50

Source: Table2.6.7.17B-1370782

一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液及び臓器の採取及び剖検を実施した。マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析，血管新生因子（sALK-1，Amphiregulin，EGF，Endoglin，Endothelin-1，sFASL，FGF-2，Follistatin，G-CSF，HGF，IL-1beta，IL-6，IL-17A，KC/CXCL1，Leptin，MCP-1，MIP-1alpha，PLGF-2，Prolactin，SDF-1，TNFalpha，VEGF-A，VEGF-C，VEGF-D）の血漿中濃度測定，並びに病理組織学的検査（免疫組織化学染色及び *in situ* ハイブリダイゼーションを含む）を実施した。また，血中及び組織中（大腿四頭筋，肝臓，脾臓，腎臓，腸間膜及び下顎リンパ節，涙腺，脳，皮膚／皮下組織）の薬物並びに主要な代謝物である LYS815（M16）及び LYG778（M17）の濃度測定を実施した。

対照群の 230 例中 4 例，25 mg/kg/日群の 230 例中 14 例，75 mg/kg/日群の 230 例中 9 例で死亡または切迫殺を実施した。多くの例では，死因は投与過誤または外傷と判断されたが，投薬と死亡との関連は明らかではなかった。

一般状態，体重及び摂餌量に，投薬に関連した変化は認められなかった。

75 mg/kg/日の 274 日間（39 週間）投与群の 2 例で血管肉腫が認められたが，血管の前がん病変に相当する病理組織学的変化は，いずれの投与期間においても認められなかった。24 種類の血管新生因子を含むパネルを用いた血漿中濃度測定では，試験 1 日から 274 日に血管新生促進作用を有する PLGF2 の増加が認められ，試験 28 日から 274 日に血管新生抑制作用を有するエンドグリンの減少が認められた。遺伝子発現解析の結果，試験 1 日から 274 日に骨格筋で血管内皮細胞の活性化に関連する *CD93*，prion protein gene complex（*Prn*）及び intercellular adhesion molecule 1（*Icam1*）の遺伝子発現の増加が認められた。また，細胞分裂に関連する *Mki67*，cell division cycle 20（*cdc20*）及び histone cluster 1，H2ab（*Hist1h2ab*）の遺伝子発現の増加が試験 3 日から 274 日にかけて認められた。また，血管内皮前駆細胞のマーカーである CD133 の遺伝子発現の増加が試験 3 日から 274 日にみられた。肝臓では，血管内皮細胞の活性化を示唆する遺伝子変化は認められなかった。皮膚では，試験 1 日から 274 日に血管内皮細胞の活性化に関連した遺伝子発現の増加がみられたが，細胞分裂への影響については異なる毛周期の毛包組織が混在したため解析できなかった。免疫組織化学的染色及び *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて骨格筋及び肝における血管内皮細胞マーカーの発現を検討した結果，骨格筋の筋線維間組織の CD93 発現の

増加が試験 3 及び 7 日に認められた。また，Ki67 陽性細胞の増加が試験 3 から 274 日に認められた。CD93 発現及び Ki67 陽性細胞の局在及び形態学的特徴には類似性が認められた。CD31 及び CD105 の発現には変化は認められなかった。

薬物濃度測定の結果，すべての投薬群でシポニモド及び代謝物の曝露が確認された（Table 8-2）。25 mg/kg/日投与時のシポニモドの血中濃度は，先に実施したがん原性試験の 25 mg/kg/日投与時の血中濃度と同程度であった。シポニモドの血中濃度には用量依存性が認められ，蓄積はみられなかった。代謝物である LYS815（M16）及び LYG778（M17）について，LYS815 の血中濃度の用量依存性は明らかではなかったが，蓄積がみられた。シポニモド及び LYS815 の組織中濃度は，血中濃度と比較して高値を示した。LYG778 は血中及び組織中濃度のいずれにおいても低値であった。

以上，マウスに 75 mg/kg/日のシポニモドを 39 週間反復投与した結果，2 例で血管肉腫が認められた。骨格筋における遺伝子発現解析では，血管内皮細胞の活性化及び分裂促進に関連する遺伝子の発現増加が投与期間にわたって認められた。また，血中 PLGF2 の増加が投与期間にわたって認められた。骨格筋における CD133 の発現の増加は，局所の血管内皮前駆細胞の活性化を示唆する変化と考えられた。本試験でみられた持続的な血管内皮細胞の活性化及び細胞分裂促進は，シポニモドによる血管肉腫誘発の発現機序を示唆すると考えられた。

Table 8-2　　マウスを用いた毒性発現機序検討試験における曝露量

用量（mg/kg/日）	測定時期	シポニモド血中濃度（ng/mL）[a]	LYS815 血中濃度（ng/mL）[a]	LYG778 血中濃度（ng/mL）[a]
25	試験 1 日	9380	455	NR
	試験 91 日	13700	5300	NR
	試験 274 日	6970	40600	8.04
75	試験 1 日	26000	627	NR
	試験 91 日	27700	7870	NR
	試験 274 日	18400	74400	18.4

Source: Table2.6.7.17B-1370782

a = 投与 5 時間後，NR = Not reported

8.2.3　　ラットを用いた毒性発現機序検討試験

［記載箇所：4.2.3.7.3-3］

本試験[Table2.6.7.17B-1370783]は，ラットへの 13 週間反復投与により，シポニモドの血管内皮細胞の増殖及び血管新生因子産生に対する影響を継時的に検討すること，並びに先の毒性試験及びがん原性試験で認められた甲状腺濾胞上皮腺腫／腺癌の発現機序を検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，雄ラット（Wistar Hannover，1 群 30 例）に 0（媒体）及び 90 mg/kg/日の用量で経口投与した。すべての用量に対して 1，3，7，14，28 及び 92 日間の投与後に剖検を実施した（Table 8-3）。

Table 8-3　　ラットを用いた毒性発現機序検討試験の群構成

	投与期間（日）					
用量（mg/kg/日）	1	3	7	14	28	92
0	30	30	30	30	30	30
25	30	30	30	30	30	30
75	30	30	30	30	30	30

Source: Table2.6.7.17B-1370783

一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液及び臓器の採取及び剖検を実施した。マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析，血管新生因子（PLGF-2，KC/CXCL1，leptin，TNFα 及び VEGF）及び甲状腺ホルモン血漿中濃度測定，器官重量測定及び病理組織学的検査（免疫組織化学染色及び *in situ* ハイブリダイゼーションを含む）を実施した。また，血中及び組織中（大腿四頭筋，肝臓，皮膚／皮下組織）の薬物並びに主要な代謝物である LYS815（M16）及び LYG778（M17）の濃度測定を実施した。

90 mg/kg/日群の 2 例が試験 4 日に死亡した。一般状態の変化（呼吸困難）及び剖検においてみられた変化（肺の変化）により，死因は投与過誤と考えられた。

90 mg/kg/日群では，体重増加量及び摂餌量の減少が試験 1 週に認められた。血管新生因子を含むパネルを用いた血漿中濃度測定では，血管新生促進作用を有する PLGF2 濃度の一過性の増加が試験 1 日から 7 日にかけてみられた。遺伝子発現解析の結果，骨格筋で血管内皮細胞の活性化に関連する *CD93*，prion protein gene complex（*Prn*）及び intercellular adhesion molecule 1（*IcamI*）の発現の増加が試験 1 日から 92 日にかけて認められた。また，血管内皮前駆細胞のマーカーである CD133 の発現の増加が試験 7 日から 92 日にかけてみられた。細胞分裂に関連した遺伝子である *Mki67*，cyclin A2（*Ccna2*）及び cyclin-dependent kinase 1（*Cdk1*）の発現の増加は，試験 3 日のみに認められた。免疫組織化学的染色及び *in situ* ハイブリダイゼーション法により，骨格筋の筋線維間の Ki67 陽性細胞の増加が試験 3 日に認められ，CD93 との共局在が認められた。皮膚では，血管内皮細胞の活性化に関連した遺伝子の発現の増加が試験 1 日から 92 日にかけて認められた。細胞分裂への影響については，異なる毛周期の毛包組織が混在したため解析できなかった。

28 日間投与後の甲状腺及び肝臓を用いた検査では，甲状腺ホルモン測定において血中甲状腺刺激ホルモン（thyroid stimulating hormone，TSH）濃度の増加が認められた。T3 及び T4 については測定できなかった。肝臓のミクロソームでは T4-UDP-グルクロン酸転移酵素（T4-Thyroxine-UDP-Glucuronosyl transferase，T4-UDP-GT）の活性上昇が認められた。器官重量及び病理組織学的検査において，甲状腺及び肝臓重量の増加，甲状腺で濾胞上皮細胞肥大，肝臓で小葉中心性肝細胞肥大が認められた。したがって，肝細胞肥大及び甲状腺濾胞上皮細胞肥大は，肝細胞の酵素

誘導による甲状腺ホルモンの代謝促進，それに続く TSH 分泌の亢進により甲状腺濾胞上皮が刺激されたことによるものと考えられた。なお，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（試験番号：0770059）及びがん原性試験（試験番号：0870138）においても，肝細胞肥大及び甲状腺濾胞上皮細胞肥大が認められている。

TK 試験の結果，すべての投薬群でシポニモド及び代謝物 LYS815 の曝露が確認された（Table 8-4）。28 日間反復投与時のシポニモドの曝露量は，先に実施したがん原性試験の 90 mg/kg/日群の 5 週または 26 週時点における曝露量と同程度であった。シポニモドの肝臓中濃度は，血漿中，骨格筋または皮膚中濃度と比較して高値を示した。LYS815 の肝臓中濃度は血漿中濃度と同程度であり，骨格筋または皮膚と比較して高値であった。LYG778 は，血漿中及び組織中濃度のいずれにおいても検出されなかった。

以上，ラットに 90 mg/kg/日のシポニモドを最長 13 週間反復投与したところ，血管内皮細胞の持続的な活性化が認められた。骨格筋における遺伝子発現解析では，血管内皮細胞の活性化に関連した遺伝子発現の増加が投与期間にわたって認められた。また，CD133 の発現の増加が同様の期間に認められた。一方，血中 PLGF2 の増加は試験 1 週に，骨格筋における細胞分裂に関連した遺伝子発現の増加及び Ki67 陽性細胞の増加は試験 3 日のみに認められた。本試験でみられたシポニモドによる細胞分裂促進及び PLGF2 産生促進作用は一過性であり，マウスにおける持続的な作用（試験番号：1370782）との相違がみられた。

Table 8-4　　ラットを用いた毒性発現機序検討試験における曝露量

用量（mg/kg/日）	測定時期	シポニモド		LYS815	
		Cmax (ng/mL)	AUC (ng*h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC (ng*h/mL)
90	試験 1 日	11500	167000	143	2230
	試験 28 日	8550	115000	206	4080

Source; Table2.6.7.17B-1370783

8.2.4　　マウスを用いた皮膚に関する検討試験

［記載箇所：4.2.3.7.3-4］

長期の免疫抑制による皮膚腫瘍の発現リスクの増加が知られている。本試験[Table2.6.7.17B-0900680]はマウスを用いてシポニモドの皮膚メラノサイトへの影響を検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。

シポニモドを雌性マウス（C57/Bl6，1 群 7 例）に 0（媒体），0.01，0.3 及び 10 mg/kg/日の用量で 14 日間経口投与し，10 mg/kg/日群には 3 日間及び 7 日間投与群も設定した。媒体として水を使用した。皮膚を採取し，遺伝子発現解析，免疫組織化学及び薬物濃度測定を実施した。

細胞分裂及びメラノサイトに関連した遺伝子発現解析において，異なる毛周期を示唆する遺伝子発現パターンがみられた。いずれの遺伝子発現にも，投薬に関連した変化は認められなかった。

薬物濃度測定において，シポニモドの皮膚中濃度は血中濃度の約 10 分の 1 であることが確認された。

以上，シポニモドはメラノサイトの細胞分裂に関連する遺伝子の発現に影響を示さなかった。また，シポニモドの皮膚中濃度は血中濃度の約 10 分の 1 であった。

8.3 光毒性試験

8.3.1 3T3 細胞を用いた光毒性試験

［記載箇所：4.2.3.7.7-1］

本試験[Table2.6.7.17C-1770654]は，Balb/c 3T3 線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取り込み法によりシポニモドの光毒性を検討することを目的として GLP 非適用で実施した。

シポニモドの処理濃度は，濃度設定試験，本試験ともに 0.316 から 1000 µg/mL までと設定した。Balb/c 3T3 線維芽細胞をシポニモドで 1 時間処理し，紫外線照射群には 5 J/cm^2 の紫外線 A 波を 60 分間照射，紫外線非照射群は暗所に放置した。その後，ニュートラルレッド取り込み法により細胞生存率を算出した。陽性対照としてクロルプロマジンを用いた。

濃度設定試験では，1000 µg/mL の濃度で析出が認められた。316 µg/mL のシポニモドにより紫外線非照射群及び照射群のいずれにおいても細胞生存率の減少がみられ，Photo Irritation Factor（PIF）は 1.2 であった。本試験では，316 及び 1000 µg/mL の濃度で析出が認められた。100 µg/mL のシポニモド処理時の細胞生存率は，紫外線非照射群及び照射群のいずれにおいても 50%を上回っており，IC50 は算出できなかった。PIF は 1.0 と考えられた。

以上，本試験条件下でシポニモドは光毒性を示さなかった。

8.4 皮膚感作性試験

8.4.1 マウスを用いた局所リンパ節試験

［記載箇所：4.2.3.7.7-2］

本試験[Table 2.6.7.17D-0970036]は，マウスを用いた局所リンパ節測定法（LLNA）により皮膚感作性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（DAE433，40%:30%:30%v/v=N,N-Dimethylacetamide:Acetone:Ethanol）と混合し，雌性マウス（BALB/c，1 群 6 例）の両側耳介に 0（対照），0.5，5，50%（w/w）の濃度で 3 日間開放塗付した。陽性対照として 0.5%（w/w）ジニトロベンゼン（1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene）を用いた。最終投与の 24 時間後に安楽殺し，耳介及び耳介リンパ節の肉眼観察及び重量測定，並びに耳介リンパ節の細胞数測定を実施した。

すべてのシポニモド処理群及び陽性対照群において体重増加量の増加がみられたが，一般状態に投薬に関連した変化は認められなかった。

シポニモドの 0.5%以上の処理群，並びに陽性対照群において，耳介に軽度の刺激性が認められた。シポニモドの 50%処理群では，中等度の刺激性，被験物質の残渣，及び耳介重量の増加が

認められ，同群の 1 例で耳介リンパ節の萎縮，別の 1 例で腫大がみられた。すべてのシポニモド投与群において，リンパ節の重量及び細胞数に変化は認められなかった。陽性対照群では多くの個体で耳介リンパ節の腫大がみられ，統計学的に有意なリンパ節重量及び細胞数の増加が認められた。

以上，本試験条件下でシポニモドの皮膚感作性は認められなかった。

8.5 依存性試験

$S1P_1$ 受容体は神経細胞，アストロサイト及びオリゴデンドロサイトに発現する。また，シポニモドはラット，マウス及びサルに反復経口投与した際の中枢移行性が確認されていることから[2.6.4-4.2 項]，ラットを用いた身体依存性試験，薬物弁別法による依存性試験，及び薬物自己投与法による依存性試験を実施した。

8.5.1 ラットを用いた身体依存性試験

［記載箇所：4.2.3.7.4-1］

本試験[Table2.6.7.17E-1570351]は，ラットを用いてシポニモドの身体依存性を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。

シポニモドを媒体（0.5%ヒドロキシメチルセルロース水溶液）を用いて調製し，ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 6 例）に雄は 0（媒体），0.3，1.0，50 及び 150 mg/kg/日の用量で，雌は 0（媒体），0.15，0.5，10 及び 50 mg/kg/日の用量で，4 週間経口投与した。陽性対照として 30 mg/kg/日のジアゼパムを用いた。8 日間の休薬期間を設定し，休薬前後に一般状態観察，体重増加量測定，摂餌量測定，体温測定，立ち上がり運動及び自発運動測定を実施して退薬症候の有無を評価した。さらに，血中薬物濃度測定を実施した。

いずれのシポニモド投薬群においても，休薬期間中に退薬症候を示唆する変化は認められなかった。ジアゼパム投与群では，退薬症候として握力の増加，易刺激性及び恐怖反応が認められたことから，本試験において退薬症候は適切に評価されていることが確認された。

血中薬物濃度測定において，すべての投薬群で投薬期間中に本薬の曝露が確認された（Table 8-5）。休薬により薬物の消失が認められ，休薬 8 日目には雄のすべての投薬群並びに雌の 0.15 及び 0.5 mg/kg/日群の血漿中濃度は定量限界未満であった。雌の 10 mg/kg/日以上の投与群では，薬物の消失は比較的緩やかに認められ，休薬 8 日目においてもシポニモドが定量された。

以上，本試験条件下でシポニモドの身体依存性は認められなかった。

Table 8-5　　ラットを用いた身体依存性試験における血漿中濃度

	血漿中濃度（ng/mL）							
	雄				雌			
用量（mg/kg/日）	0.3	1	50	150	0.15	0.5	10	50
試験 25 日	63	168	3808	9640	67	160	3973	13583
試験 29 日（休薬 1 日）	<5	<7	128	966	35	81	1860	7163
試験 30 日（休薬 2 日）	<5	<5	14	72	22	47	639	3127
試験 31 日（休薬 3 日）	<5	<5	<5	16	8	18	443	1273
試験 32 日（休薬 4 日）	<5	<5	<5	7	9	14	189	597
試験 33 日（休薬 5 日）	<5	<5	<5	<34	<5	6	149	369
試験 36 日（休薬 8 日）	<5	<5	<5	<5	<5	<5	24	94

Source: Table2.6.7.17E-1570351

8.5.2　　ラットを用いた薬物弁別法による依存性試験

［記載箇所：4.2.3.7.4-2］

本試験[Table2.6.7.17E-1270591]は，シポニモドの弁別刺激効果の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

ラット（Lister Hooled 系）を，訓練薬（ミダゾラムまたはアンフェタミン）により訓練した（ミダゾラム訓練群，アンフェタミン訓練群それぞれ雌雄各 9 例）。訓練薬と生理食塩水を弁別してレバー押し行動を行う訓練後ラットを用いて，訓練薬をシポニモドに置き換え，最初の報酬までに押したレバーの種類及び回数，並びに反応率を検討した。シポニモドは媒体（0.5%ヒドロキシメチルセルロース水溶液）に懸濁し，雄には 0（媒体），0.3，1.0，50 及び 150 mg/kg/日の用量で，雌には 0（媒体），0.15，0.5，10 及び 50 mg/kg/日の用量で経口投与した。また，単回投与後の血中濃度測定を実施した。

雄の 1 及び雌の 3 例が試験期間中に死亡または切迫殺に至ったが，いずれも投薬との関連は否定された。弁別刺激効果の評価に用いた動物数は雄 8 例，雌 6 または 7 例となったが，試験の信頼性には影響しないと判断した。

0.3 mg/kg のアンフェタミン，並びに 1.25 mg/kg（雌）または 5 mg/kg（雄）のミダゾラム投与により，80%以上の正反応率が認められた。シポニモドの弁別刺激効果を投与 4.5 時間後に検討した結果，いずれの用量においても弁別刺激効果は認められなかった。

血中濃度測定において，本薬の曝露が確認された（Table 8-6）。血中濃度は概ね投与 4.5 時間後に最大となったことから，弁別刺激効果は適切に評価されていると判断した。

以上，本試験条件下において，シポニモドは弁別刺激効果を示さなかった。

Table 8-6 ラットを用いた薬物弁別法による依存性試験における血漿中濃度

	用量（mg/kg）	各採血時点（hr）における血漿中濃度（ng/mL）							
		1	2	3	4.5	6	12	24	72
雄	0.16	13	16	17	22	19	18	<5	<5
	0.5	40	49	60	63	61	28	10	<5
	50	2655	4015	4370	4710	4100	3310	755	42
	150	4230	6895	6675	7435	7060	4550	7005	244
雌	0.04	<5	<6	7	8	8	6	<6	<5
	0.12	14	18	20	26	21	22	16	<5
	10	984	1565	1770	1945	2345	2150	1650	425
	50	4395	9440	7050	10985	7815	10595	9260	2460

Source: Table2.6.7.17E-1270591

8.5.3 ラットを用いた薬物自己投与法による依存性試験

［記載箇所：4.2.3.7.4-3］

本試験[Table2.6.7.17E-1270590]は，シポニモドの強化効果を検討することを目的として，GLP適用で実施した。

ラット（Lister Hooled 系，1 群雌雄各 7 例）にカテーテルを留置し，コカインを用いた訓練により報酬（コカイン投与）を要求してレバー押し行動を行う自己投与モデルを作製した。その後，薬液を媒体（4.5%クレモホール含有 5%グルコース水溶液）及び 0.01，0.05 及び 0.4 mg/kg/0.2 mL のシポニモド投与液に置き換え，報酬要求回数を測定した。また，サテライト群の動物を用いて単回静脈内投与後の血中濃度測定を実施した。

コカイン投与により，80%以上の正反応率及び持続的な自己投与（30 回以上の報酬の要求）が認められ，強化効果が確認された。シポニモド投与時の報酬要求反応は，媒体投与時と同程度であり，強化効果は認められなかった。

血中濃度測定において，本薬の曝露が確認された（Table 8-7）。

以上，本試験条件下において，シポニモドの強化効果は認められなかった。

Table 8-7 ラットを用いた薬物自己投与法による依存性試験における血漿中濃度

	用量（mg/kg）	各採血時点（min）における血漿中濃度（ng/mL）					
		投与直後	10	30	60	120	24 時間
雄	0.01	48	6	<5	<5	<5	<5
	0.05	185	25	17	14	11	<5
	0.4	1980	230	176	137	118	11
	2.0	16050	1350	956	708	571	28
雌	0.01	31	<6	<5	<5	<5	<5
	0.05	193	26	20	17	14	6
	0.4	354	144	118	107	89	53
	2.0	2175	1053	765	675	575	294

Source: Table2.6.7.17E-1270590

用量（mg/kg）　　各採血時点（min）における血漿中濃度（ng/mL）

8.6　代謝物

ヒト血漿中に 10%以上の割合で認められる代謝物は，コレステロールエステル M17 及びグルクロン酸抱合体 M3 である[2.7.2 項]。M17 のマウスを用いた薬物動態試験（試験番号：DMPK R1550775）及びラットを用いた毒性発現機序検討試験（試験番号：1370783）における M17 の曝露量（AUCtau, ss）は，ヒト臨床用量（2 mg）投与時の曝露量を 660 及び 4.55 倍上回っている。またグルクロン酸抱合体 M3 のカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（試験番号：0770339）及び薬物動態試験（試験番号：DMPK R1000166-01）から算出した曝露量（AUCtau, ss）は，ヒト臨床用量（2 mg）投与時の曝露量を 48.5～63 倍上回った[2.6.4-5.2.1 項]。以上の結果から，代謝物の毒性については既に実施された毒性試験で評価されているものと考えられ，代謝物に関する独立した毒性試験は実施しなかった。

8.7　不純物

シポニモドの予定最高臨床用量は 2 mg/日であることから，ICH Q3A ガイドラインにより，原薬中の不純物について安全性確認が必要な閾値は 0.15%と規定される。また，Q3B ガイドラインにより，製剤中の不純物について安全性確認が必要な閾値は 1.0%と規定される。シポニモドの原薬に含まれる不純物のうち，不純物 010-10 の規格値 [redacted]%以下）が安全性確認の必要な閾値を超えることから，不純物添加バッチを用いたラット 4 週間反復経口投与毒性試験（小核試験を含む）により安全性を評価した。

なお，不純物 010-10 の変異原性については *in silico* 定量的構造活性相関システムを用いて評価した。ToxCheck（v.4.0），DEREK（v.12.0.0）及び MCASE（v.2.3.0.36）を用いた評価の結果，不純物 010-10 に変異原性に関する警告構造は認められなかった。ヒトにおける不純物 010-10 の投与量は規格値から[redacted]μg と算出される。ICH M7 ガイドラインにより，不純物の量が 1 mg 未満の場合は更なる変異原性試験は要求されないと規定されていることから，細菌を用いた変異原性試験は実施しなかった。

また，安全性確認の閾値を超えるものではないが，*in silico* 定量的構造活性相関システムにて変異原性の警告構造がみられた中間体［　不純物A＊　，　不純物B＊　及び　不純物C＊　］並びに不純物（　不純物D＊　，　不純物E＊　，　不純物F＊　，　不純物G＊　，　不純物H＊　，　不純物I＊　及び不純物J＊　）についてネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験を実施した。

8.7.1　不純物：ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験

［記載箇所：4.2.3.7.6-1～4.2.3.7.6-10］

＊ 承認情報提供時に置き換えた

シポニモドの中間体［ 不純物A＊ ， 不純物B＊ 及び 不純物C＊ ］並びに不純物（ 不純物D＊ ， 不純物E＊ 不純物F＊ ， 不純物G＊ ， 不純物H＊ ， 不純物I＊ 及び 不純物J＊ ）について，ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験を実施した[Table2.6.7.17F-0912575]，[Table2.6.7.17F-506537]，[Table2.6.7.17F-1512516]，[Table2.6.7.17F-1112610]，[Table2.6.7.17F-0912573]，[Table2.6.7.17F-1612595]，[Table2.6.7.17F-1612593]，[Table2.6.7.17F-0912574]，[Table2.6.7.17F-0912576]，[Table2.6.7.17F-1612594]。

その結果，不純物A＊ ，不純物B＊ ，不純物C＊ の遺伝子突然変異誘発性が認められた。不純物D＊ ，不純物E＊ ，不純物F＊ ，不純物G＊ ，不純物H＊ ，不純物I＊ 及び 不純物J＊ は遺伝子突然変異誘発性を示さなかった。

8.7.2 不純物：ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

［記載箇所：4.2.3.7.6-11］

本試験[Table2.6.7.17F-1670150]は，シポニモドの不純物を添加したバッチをラットに 4 週間経口投与したときの毒性及び小核誘発性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。

ラット（Wistar Hannover，1 群雌雄各 10 例）に不純物添加バッチ（TOX1/BAF312；010-10，026-09，027-09 を [redacted]%ずつ含有）を 0（対照），15 及び 50 mg/kg/日の用量，無添加バッチを 50 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与した。媒体として 0.5%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液を用いた。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査），病理検査（剖検，器官重量測定及び病理組織学的検査），小核試験及び TK 試験を実施した。

本試験において死亡は認められず，一般状態及び眼科学的検査において投薬に関連した変化はみられなかった。

不純物添加及び無添加の両投与群において，体重及び摂餌量の減少がみられた。また，血液学的検査では，赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリット，白血球数，リンパ球数，単球数，好塩基球数及び LUC 数の減少並びに網赤血球数の増加，血液生化学的検査では，総タンパク，アルブミン及びグロブリンの減少，重炭酸及びカルシウムの増加，尿検査では，pH 及び比重の増加，尿たんぱく及びケトン体が認められた。剖検では，肝腫大，器官重量測定で脾臓，卵巣及び子宮重量の減少及び肝臓重量の増加，病理組織学的検査で脾臓に PALS のリンパ球減少及び髄外造血亢進，胸腺に髄質拡大／皮質の菲薄化，下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節にリンパ球枯渇及びリンパ洞の組織球症，肝臓に小葉中心性肝細胞肥大，甲状腺に濾胞上皮細胞肥大，腎臓に硝子滴（近位尿細管上皮細胞の好酸性細胞質内封入体），子宮に発情周期異常，膣に粘液産生が認められた。

＊ 承認情報提供時に置き換えた

小核試験の結果，不純物添加バッチの 50 mg/kg/日群において小核を有する網赤血球数の増加は認められなかった。陽性対照群（雄 3 例，10 mg/kg/日シクロホスファミド投与群）では小核を有する網赤血球数の有意な増加が認められた。

TK 試験の結果，すべての投薬群で本薬の曝露が確認された（Table 8-8）。曝露量は用量依存的に増加し，不純物添加または無添加バッチ間で明らかな曝露量の差は認められなかった。

以上，不純物添加バッチ及び無添加バッチの投与によりみられた毒性はいずれも既知の毒性変化であり，両バッチ投与群間に毒性プロファイルまたはシポニモドの曝露量に差は認められなかった。また，不純物添加バッチ投与群において小核誘発性はみられなかった。

Table 8-8　　不純物：ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における曝露量

測定時期	用量（mg/kg/日）	Cmax (ng/mL)		AUC0-24h (ng*h/mL)	
		雄	雌	雄	雌
試験 28 日	15（不純物添加）	1420	5190	14900	106000
	50（不純物添加）	4750	12800	48700	260000
	50（不純物無添加）	5170	12900	55700	218000

Source: Table2.6.7.17F-1670150

8.7.3　　不純物の安全性評価

不純物添加バッチ（TOX1/BAF312，不純物 010-10 の含有量は[redacted]%）を被験物質として，ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び小核試験を GLP 適用で実施した。その結果，不純物に関連したシポニモドの毒性プロファイルの変化はみられず，小核誘発性は認められなかった。本試験における不純物 010-10 の用量は，本剤の予定最高臨床用量及び規格値から算出したヒト最大用量を上回ることが確認された（Table 8-9）。以上のことから，不純物 010-10 の規格値までの安全性は確認されているものと判断した。

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異誘発性が認められた　不純物A＊　及び　不純物B＊　については，原薬の規格による管理が予定されており，また，　不純物C＊　は TTC（Threshold of Toxicological concern。毒性学的閾値）未満まで除去されることが確認されている。したがって，不純物の安全性に問題はないものと考えられた。

＊ 承認情報提供時に置き換えた

Table 8-9　　反復投与毒性試験における不純物含有量

用量	不純物 010-10 含有量	不純物 010-10 用量
ラット, 50 mg/kg	[redacted]%	[redacted]mg/kg[a]
ヒト, 2 mg/day	[redacted]%	[redacted]μg/kg[b]
用量比（ラット/ヒト）		4167

Source: Table2.6.7.4

a = 最高用量 50 mg/kg を用いて算出した

b = 予定最高臨床用量 2 mg，010-10 の規格上限値[redacted]%，体重 50 kg として算出した

8.8　　新規添加剤

シポニモドの製剤中に含まれるベヘン酸グリセリル（[redacted]）は，医薬品添加剤としての使用前例がないことから新規添加剤に該当する。ベヘン酸グリセリル（[redacted]）はベヘン酸（炭素数 22 の直鎖飽和脂肪酸）とグリセリンがエステル結合したアシルグリセロールであり，主成分であるジアシルグリセロールの他にモノアシルグリセロール及びトリアシルグリセロールを含む。一方，グリセリン脂肪酸エステルは脂肪酸組成及びエステル化度の異なるアシルグリセロールの総称であり，ベヘン酸グリセリル（[redacted]）は食品添加物公定書第 9 版に規定されたグリセリン脂肪酸エステルに適合することが確認されている。

シポニモドの臨床最大用量は 2 mg/日の経口投与であり，製剤中に含まれるベヘン酸グリセリルの一日最大使用量は[redacted]mg である。[redacted]mg までのベヘン酸グリセリルは，食品添加物として使用されるグリセリン脂肪酸エステルの使用前例の範囲内であることが簡易相談（平成 29 年 11 月 29 日実施，簡整 391）により確認されている。

以上のことから，シポニモドの投与に伴うベヘン酸グリセリルの曝露に安全性上の懸念はないと考えられた。

9　　考察及び結論

シポニモドの非臨床安全性評価を目的として，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験及びその他の毒性試験（免疫毒性試験，毒性発現の機序に関する試験，光毒性試験，皮膚感作性試験，依存性試験，及び不純物の毒性試験）を実施した。

単回投与毒性試験において，概略の致死量はマウスで 200 mg/kg 超，ラットでは 2000 mg/kg 超，カニクイザルでは 60 mg/kg 超であった。

シポニモドの反復投与毒性試験における主な標的器官は，リンパ系組織（マウス，ラット，カニクイザル），中枢神経系（マウス，ラット，カニクイザル），肺（マウス，ラット），腎臓（マウス，ラット），肝臓（マウス，ラット），甲状腺（ラット），涙腺（マウス），消化管（カニクイザル），骨格筋（カニクイザル）及び皮膚（カニクイザル）であった。反復投与毒性試験において認められた主要な変化をTable 9-1に示す。

Table 9-1 反復投与毒性試験において認められた主要な変化

臓器・組織	動物種	変化
リンパ系組織	マウス，ラット，カニクイザル	末梢血リンパ球数の減少，リンパ系組織の萎縮性変化
中枢神経系	マウス，ラット，カニクイザル	痙攣／間代性痙攣，振戦等
肺	マウス，ラット	炎症，線維化，フィブリン／硝子様物質の沈着巣等
腎臓	マウス	尿細管壊死，尿細管拡張，鉱質沈着，硝子円柱等
	ラット	硝子滴
肝臓	マウス，ラット	肝細胞肥大
甲状腺	ラット	濾胞上皮細胞肥大
涙腺	マウス	変性，萎縮
消化管	カニクイザル	下痢／水様便，炎症
骨格筋	カニクイザル	変性／再生
皮膚	カニクイザル	毛包萎縮，皮膚炎

いずれの動物種においてもすべての用量で末梢血中リンパ球数の減少がみられ，さらにリンパ系組織の萎縮性変化（脾臓，リンパ節，及び胸腺のリンパ球枯渇またはリンパ組織萎縮）並びに胸腺の髄質拡大がしばしば認められた。ラット及びカニクイザルで実施したリンパ球フェノタイピングにおいて，末梢血 T 細胞及び B 細胞数の減少がみられた。$S1P_1$ 受容体は，胸腺からの T 細胞の移出，並びに二次リンパ系器官からの T 細胞及び B 細胞の移出において必要とされる（Matloubian et al. 2004）。シポニモドは $S1P_1$ 受容体の内在化を促進することにより，機能的アンタゴニストとして作用する。したがって，末梢血中のリンパ球数減少及びリンパ系組織の萎縮性変化は，シポニモドの薬理作用に関連した変化と考えらる。これらのリンパ組織に対する影響には，休薬による回復傾向が認められた。ラット及びカニクイザルを用いた TDAR 検査の結果，KLH に対する二次応答は対照群と比較して低下が認められたが，一次応答を上回る抗体価を示すことからシポニモドは T 細胞と B 細胞の相互作用には顕著な影響を及ぼさないと考えられた。以上，リンパ系組織の変化は薬理作用に関連した変化であり，休薬による回復傾向が認められ，重度の免疫抑制がみられないことから，毒性変化ではないと判断された。

マウス，ラット及びカニクイザルの高用量群において，中枢神経系への影響を示唆する一般状態の変化がみられた。マウスでは，150 mg/kg/日群で振戦，300 mg/kg/日群で筋緊張の低下，1000 mg/kg/日群では痙攣，振戦及び筋攣縮がみられた。ラットでは，2000 mg/kg の単回投与により身体緊張の低下がみられた。カニクイザルでは，100 mg/kg/日投与により痙攣または振戦，200→150 mg/kg/日群で間代性痙攣，筋攣縮及び振戦が認められた。高用量では痙攣が誘発されたが，MTD を上回る用量でのみ認められたことから，シポニモドの痙攣誘発作用を示すものではないと考えられた。Cmax に基づくと，マウス及びカニクイザルの中枢神経系に関する NOAEL における曝露量は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量のそれぞれ 793 及び 362 倍以上であり，十分な安全域が認められた。また，いずれの動物種においても脳における病理組織学的変化は認められなかった。

マウスを用いた 2 及び 13 週間，並びにラットを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験において，低用量から肺に炎症／線維化，平滑筋の肥大／過形成，フィブリン／硝子様物質の沈着巣，及び肺胞マクロファージ集簇等が認められた。マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験における変化はいずれも重度であり，13 週間反復投与試験では中等度の炎症／線維化が認められた。ラットを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験でみられた炎症，平滑筋の肥大／過形成及び肺胞マクロファージ集簇は軽度かつ回復性のある変化であり，同等の用量を投与した 26 週間反復投与試験では肺の変化は認められなかった。肺における変化の発現機序の詳細は不明であるが，$S1P_1$ 受容体アゴニストの持続的曝露は血管内皮細胞上の受容体発現を低下させ，肺の血管透過性及び線維化を促進すると報告されていることから（Shea et al. 2010），薬理作用に関連した変化である可能性が考えられた。AUC に基づくと，肺の毒性発現用量におけるマウスの曝露量は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 72 倍以上，ラットを用いた 4 週間試験の NOAEL における曝露量は 39 倍であることから，肺の変化が臨床用量付近で発現する可能性は低いと考えられた。

マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日以上の投与群で腎臓に尿細管壊死，鉱質沈着，尿細管拡張，硝子円柱または好塩基性尿細管が認められた。これらの腎臓の変化は，死亡例での死因と考えられた。AUC に基づくと，同変化の NOAEL におけるマウスの曝露量は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 677 倍であることから，マウスの腎臓でみられた変化が臨床用量付近で発現する可能性は低いと考えられる。ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では，雄の 10 mg/kg/日以上の投与群でのみ，腎臓の近位尿細管に硝子滴が認められた。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験では，同等の用量においても同変化は認められなかった。シポニモドにはトリフルオロメチルベンゼン部分が存在するが，同部位は α2 マイクログロブリンと結合してリソソームによる消化を阻害し，雄ラット特異的に α2 マイクログロブリンの近位曲尿細管への蓄積を誘発することが知られている（Jameson and Yuan 1992，Hard et al. 1993）。また，カニクイザルでは腎臓への影響は認められていない。したがって，雄ラットでみられた硝子滴は α2 マイクログロブリンに関連した種特異的変化であり，ヒトへの外挿性のない変化と考えられた。

マウス及びラットを用いた反復投与毒性試験において，肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。また，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験では，甲状腺に濾胞上皮細胞肥大がみられた。これらの病理組織学的変化は，休薬により完全に回復した。ラットを用いた機序検討試験において，血中 TSH の増加及び肝 T4-UDP-GT 活性上昇が認められたことから，ラットで認められた肝細胞肥大及び甲状腺の濾胞上皮細胞の増殖性変化は肝細胞の酵素誘導による甲状腺ホルモンの代謝促進，それに続く TSH 分泌の亢進により甲状腺濾胞上皮細胞が刺激されたことによる変化と考えられた。これらの変化はげっ歯類特異的であり，ヒトへの外挿性はないと考えられている。マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日以上の投与群で肝細胞壊死及び炎症がみられた。マウスを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，80 mg/kg/日までの用量では同様の変化は認められなかった。AUC に基づくと，同変化の NOAEL における曝露量は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 502 倍であることから，マウスでみられた肝細胞壊死及び炎症が

臨床用量付近で発現する可能性はないと考えられた。カニクイザルの用量漸増投与毒性試験では，肝臓に肝細胞細胞質内封入体が認められた。カニクイザルでは免疫抑制による種々の感染症の再燃が報告されていることから（Sasseville and Mansfield 2010），肝臓の変化がシポニモドの免疫調節に伴う感染の再燃である可能性は否定できなかった。

マウスを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，涙腺に変性及び萎縮がみられた。ラット及びカニクイザルでは，涙腺に変化は認められなかった。同変化の発現機序の詳細は不明であるが，マウスの涙腺では高い薬物曝露がみられたことから[2.6.5-5.5A 項]，シポニモドに関連する変化である可能性は否定できない。しかし，AUC に基づくと，同変化の NOAEL における曝露量は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 72 倍以上の曝露量であることから，マウスでみられた涙腺の変化が臨床用量付近で発現する可能性は低いと考えられた。

カニクイザルを用いたすべての試験で下痢／水様便が認められ，26 週間反復投与毒性試験では消化管に陰窩の過形成及びびらんを伴う炎症が認められた。消化管でみられた病理組織学的変化には，休薬による回復傾向が認められた。マウス及びラットでは，消化管への影響はみられなかった。消化管における変化の発現機序は不明であるが，カニクイザルでは免疫抑制に伴う種々の感染症の再燃が報告されていることから，感染の再燃が関連している可能性は否定できなかった。AUC に基づくと，これらの変化は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 251 倍以上の曝露量でみられた。

カニクイザルを用いた 52 週間反復投与毒性試験では，骨格筋及び皮膚に変化がみられた。骨格筋では用量依存的な骨格筋変性／再生がみられ，30 及び 100 mg/kg/日群の各 1 例に中等度の変性／再生が認められたが，8 週間の休薬により完全に回復した。また，同試験では 10 mg/kg/日以上の群で皮膚に軽微から中等度の毛包萎縮，100 mg/kg/日群の 1 例で表皮真皮境界部に皮膚炎がみられた。皮膚の変化は，シポニモドの免疫調節作用と関連した変化の可能性は否定できなかった。AUC に基づくと，骨格筋及び皮膚における変化は臨床用量（2 mg）投与時のヒト曝露量の 171 倍以上の曝露量でみられていることから，これらの変化が臨床用量付近で発現する可能性は低いと考えられた。また，中用量である 30 mg/kg/日群の 1 例で陰嚢（潰瘍部近傍）に皮膚癌がみられた。本変化には用量依存性はみられず，マウス及びラットを用いたがん原性試験では皮膚癌の発現頻度の増加は認められていない。また，カニクイザルにおいて皮膚癌は自然発生性に認められる腫瘍であることから（Miller et al. 2012），皮膚癌が投薬と関連した変化である可能性は低いと考えられた。なお，マウスを用いた毒性発現機序検討試験においても，皮膚メラノサイトへの影響は認められていない。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，遺伝毒性を示唆する反応は認められなかった。

マウスを用いたがん原性試験において，すべての投薬群で血管肉腫／血管腫の発現頻度の増加が認められた。マウスを用いた機序検討試験では，血管内皮細胞の活性化，細胞分裂及び血管新生因子である PLGF2 濃度の増加が投与期間を通して持続的に認められ，血管新生の亢進が考えられた。したがって，マウスではシポニモドの長期投与により持続的な血管新生が誘発され，最

終的に血管肉腫が発現した可能性が考えられる。一方，ラットを用いた毒性発現機序検討試験では，血管内皮細胞の活性化は認められたが，細胞分裂及び PLGF2 濃度の増加は投与初期に一過性に認められたのみであった。*In vitro* 毒性発現機序検討試験では，マウス血管内皮細胞において細胞分裂促進及び PLGF2 産生の増加が認められたが，ラット及びヒト血管内皮細胞では同様の変化は認められなかった。マウス及びラット血管内皮細胞の *in vitro* における変化は，それぞれの動物種の *in vivo* での変化を反映するものであった。ヒト血管内皮細胞でみられた変化はラットと類似していたことから，臨床では血管肉腫の誘発はみられないと考えられた。さらに血管肉腫の自然発生率には種差が知られており，マウスでは 2～5%，ヒトでは 0.001%以下と報告されている（Cohen et al. 2009）。また，薬剤誘発性血管肉腫に関してもマウス特異的な発現機序が報告されている（Pegg et al. 2012，Criswell et al. 2012，Kakiuchi-Kiyota et al. 2009）。以上のことから，シポニモド投与による血管肉腫の誘発はマウスにおける感受性の高さを反映した変化であり，ヒトで投薬に関連した血管肉腫が発現する可能性は低いと考えられた。マウスを用いたがん原性試験では，雌マウスにおいて悪性リンパ腫の発現頻度の増加が認められた。雄マウス及びラットでは，同様の変化は認められなかった。雌マウスは自然発生性のリンパ腫の発現頻度が高いことから（Son and Gopinath 2004），本変化はシポニモドの薬理作用である免疫調節作用に関連して自然発生性の悪性リンパ腫が増加した可能性が考えられた。

ラットを用いたがん原性試験では，甲状腺に腫瘍性病変として濾胞上皮腺腫／腺癌，非腫瘍性病変として濾胞上皮細胞肥大及び過形成が認められた。これらの変化は，肝細胞の酵素誘導による甲状腺ホルモンの代謝促進，それに続く TSH 分泌の亢進により甲状腺濾胞上皮細胞が刺激されたことに関連するものと考えられた。また，非腫瘍性病変として脳，腎臓，子宮及び精巣に血管炎，角膜に炎症が認められた。26 週までの反復投与毒性試験では血管系または角膜への影響は認められず，マウス及びカニクイザルではこれらの変化は認められなかった。ラットでは，自然発生性の血管炎が認められる（Louden and Bratt 2013）ことから，シポニモドの薬理作用により自然発生性の血管炎が悪化したものと考えられた。

雄ラットを用いた授胎能に関する試験では，200 mg/kg/日までの用量で精子検査及び生殖能検査において変化はみられなかった。200 mg/kg/日群では精巣上体重量の減少が認められ，体重減少に伴う二次的変化と考えられた。雌ラットの受胎能試験では，1 mg/kg/日までの用量で受胎能及び初期胚発生に影響はみられなかった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，両動物種で胚・胎児毒性，ラットでは催奇形性がみられた。ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験では，母動物において妊娠期間の延長，死亡児数及び異常児数の増加，並びに体重減少，出生児において生存率の減少，並びに外表及び内臓異常の増加がみられた。個体発生において $S1P_1$ 受容体は血管形成に関与し，四肢形成に重要な役割を担っていることから（Chae et al. 2004，Kono et al. 2004，Xiong et al. 2014），シポニモドによる胚・胎児発生への影響は，母動物を介した曝露による血管形成への影響によると考えられた。

ウサギを用いた局所刺激性試験の結果，シポニモドは皮膚及び眼，並びに静脈内投与，動脈内投与及び静脈周囲投与時に重篤な刺激性を示さなかった。マウスを用いた局所リンパ節試験において，シポニモドの皮膚感作性は認められなかった。*In vitro* 光毒性試験において，シポニモドは光毒性を示さなかった。

シポニモドの依存性について，Lister Hooled 系ラットを用いた身体依存性試験，薬物弁別試験及び自己投与法試験を実施した。シポニモドは休薬時の退薬症候，強化効果または陽性対照薬と同等の薬物弁別作用を示さなかったことから，依存性はないものと判断された。

原薬中の不純物 010-10 が安全性確認の必要な閾値を超えることから，*in silico* 変異原性評価，不純物添加バッチを被験物質としたラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び小核試験を実施した。その結果，不純物 010-10 の変異原性に関する警告構造，不純物に関連したシポニモドの毒性プロファイルの変化及び小核誘発性のいずれも認められず，不純物 010-10 の規格値までの安全性は確認されているものと判断した。

臨床用量である 2 mg 投与時の定常状態におけるヒト曝露量は，Cmax は 30.4 ng/mL，AUCtau は 558 ng*h/mL である。反復投与毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験の NOAEL または LOAEL（最小毒性量）における曝露量と臨床用量投与時のヒト曝露量との比をTable 9-2に示す。

Table 9-2　　毒性試験に用いた動物種とヒトの全身曝露量の比較

試験の種類（試験番号）	用量 (mg/kg/日)	性	Cmax (ng/mL)	AUC0-24 (ng*h/mL)	曝露量比 [a]	
					Cmax 比	AUC 比
マウス，13 週間	LOAEL，5	雄	2730	44700	90	80
(0770649)	LOAEL，5	雌	2570	40100	85	72
ラット，26 週間	NOAEL，50	雄	7060	106000	232	190
(0770059)	NOAEL，15	雌	9680	191000	318	342
カニクイザル，52 週間	NOAEL，10	雄	5440	95400	179	171
(0770339)	NOAEL，10	雌	6620	124000	218	222
ラット，雌受胎能 (1070054)	受胎能，NOAEL，1	雌	468	9030	15	16
ラット，胚・胎児発生 (0770653)	胚・胎児，LOAEL，1	雌	498	10300	16	19
ウサギ，胚・胎児発生 (0770652)	胚・胎児，NOAEL，0.1	雌	7	96 [b]	0.2	0.2

a =臨床用量（2 mg）投与時の定常状態における Cmax=30.4 ng/mL，AUCtau=558 ng*h/mL を用いて算出した
b = 1 mg/kg/日群の曝露量（958 ng*h/mL）から推定した

AUC に基づいてヒト臨床用量投与時の曝露量と比較した結果，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量は 190～342 倍，カニクイザルを用いた 52 週間反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量は 171～222 倍であった。ラットで胚・胎児毒性が認められた

用量またはウサギ胚・胎児毒性の NOAEL における曝露量は，臨床用量である 2 mg 投与時のヒト曝露量と比較してそれぞれ 19 倍及び 1 倍未満であった。

以上，毒性試験で確認されたシポニモドの毒性プロファイルは，添付文書に規定した用法・用量に従った二次性進行性多発性硬化症患者の治療を支持するものと考えられた。

10 参考文献

[Chae SS, Paik JH, Allende ML, et al. (2004)] Regulation of limb development by the sphingosine 1-phosphate receptor S1p1/EDG-1 occurs via the hypoxia/VEGF axis. Dev Biol; 268(2):441-7.

[Cohen SM, Storer RD, Criswell KA, et al. (2009)] Hemangiosarcoma in rodents: mode-of-action evaluation and human relevance. Toxicol Sci; 111(1):4-18.

[Criswell KA, Wojcinski Z, Pegg D, et al. (2012)] Key components of the mode of action for hemangiosarcoma induction in pregabalin-treated mice: evidence of increased bicarbonate, dysregulated erythropoiesis, macrophage activation, and increased angiogenic growth factors in mice but not in rats. Toxicol Sci;128(1):22-41.

[Hard GC, Rodgers IS, Baetcke KP, et al. (1993)] Hazard evaluation of chemicals that cause accumulation of α2μ globulin, hyaline droplet nephropathy, and tubule neoplasia in the kidneys of male rats. Environ Health Perspect; 99: 313-49.

[Jameson CW and Yuan J (1992)] NTP technical report on toxicity studies of para-chloro-alpha,alpha,alpha trifluorotoluene (CAS No.: 98-56-6) administered in corn oil and alpha-cyclodextrin to F344/N rats and B6C3F1 mice in 14-day comparative gavage studies. Toxic Rep Ser; 14: 1-C2.

[Kakiuchi-Kiyota S, Vetro JA, Suzuki S, et al. (2009)] Effects of the PPARgamma agonist troglitazone on endothelial cells *in vivo* and *in vitro*: differences between human and mouse. Toxicol Appl Pharmacol; 237(1):83-90.

[Kono M, Mi Y, Liu Y, et al (2004)] The sphingosine-1-phosphate receptors S1P1, S1P2, and S1P3 function coordinately during embryonic angiogenesis. J Biol Chem; 279:29367-73.

[Louden C and Brott D (2013)] Cardiovascular System. Toxicologic Pathology. 1st ed; Boca Raton, CRC Press, p. 589-653.

[Matloubian M, Lo CG, Cinamon G, et al. (2004)] Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. Nature; 427(6972):355-60.

[Miller AD (2012)] Neoplasia and proliferative disorders of nonhuman primates. Nonhuman Primates in Biomedical Research. 2nd ed; London, Elsevier, p. 325-6.

[Pegg D, Bleavins M, Herman J, et al. (2012)] Hemangiosarcoma in mice administered pregabalin: analysis of genotoxicity, tumor incidence, and tumor genetics. Toxicol Sci; 128(1):9-21.

[Sasseville VG and Mansfield KG (2010)] Overview of known non-human primate pathogens with potential to affect colonies used for toxicity testing. J Immunotoxicol; 7(2):79-92.

[Shea BS, Brooks SF, Fontaine BA, et al. (2010)] Prolonged exposure to sphingosine 1- phosphate receptor-1 agonists exacerbates vascular leak, fibrosis and mortality after lung injury. Am J Respir Cell Mol Biol; 43:662-73.

[Son WC and Gopinath C (2004)] Early occurrence of spontaneous tumors in CD-1 mice and Sprague-Dawley rats. Toxicol. Pathol; 32(4):371-4.

[Xiong Y, Yang P, Proia RL et al. (2014)] Erythrocyte-derived sphingosine 1-phosphate is essential for vascular development. J Clin Invest; 124(11): 4823-8.

2.6.7 毒性試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.7.1 毒性試験一覧 4
2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験一覧表 9
2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表 10
2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物 14
2.6.7.5 単回投与毒性試験 17
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 18
2.6.7.7A 反復投与毒性試験 20
2.6.7.7B 反復投与毒性試験 25
2.6.7.7C 反復投与毒性試験 31
2.6.7.7D 反復投与毒性試験 36
2.6.7.7E 反復投与毒性試験 39
2.6.7.7F 反復投与毒性試験 46
2.6.7.8A *In vitro* 遺伝毒性試験 55
2.6.7.8B *In vitro* 遺伝毒性試験 59
2.6.7.8C *In vitro* 遺伝毒性試験 60
2.6.7.9A *In vivo* 遺伝毒性試験 62
2.6.7.9B *In vivo* 遺伝毒性試験 63
2.6.7.10A がん原性試験 64
2.6.7.10B がん原性試験 90
2.6.7.11 生殖発生試験（重要な試験以外の試験） 113
2.6.7.12A 生殖発生毒性試験 114
2.6.7.12B 生殖発生毒性試験 116
2.6.7.13A 生殖発生毒性試験 118
2.6.7.13B 生殖発生毒性試験 121
2.6.7.14 生殖発生毒性試験 124
2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する試験 131
2.6.7.16 局所刺激性試験 132
2.6.7.17A その他の毒性試験：免疫毒性試験 133
2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現の機序に関する試験 134
2.6.7.17C その他の毒性試験：光毒性試験 136
2.6.7.17D その他の毒性試験：皮膚感作性試験 137
2.6.7.17E その他の毒性試験：依存性試験 138
2.6.7.17F その他の毒性試験：不純物の試験 139

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
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
aPTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	the area under the drug concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
BLQ	below limit of quantification	定量限界未満
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
Cmax	maximum drug concentration	最高薬物濃度
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F	female	雌
GD	gestation day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HBSS	Hank’s balanced salt solution	ハンクス平衡塩溶液
HPbCD	hydroxypropyl-betacyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC	ion chromatography	イオンクロマトグラフィー
i.a.	intra-arterial	動脈内
i.v.	intravenous	静脈内
KLH	keyhole limpet hemocyanin	スカシガイヘモシアニン
LD	lactation day	哺育日数
M	male	雄
MN	micronuclei	小核
NA	not applicable	該当なし
NS	no sample	サンプルなし
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no adverse effect level	無作用量
PALS	periarteriolar lymphoid sheath	動脈周囲鞘
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
SD	standard deviation	標準偏差
TDAR	T cell dependent antibody reaction	T 細胞依存性抗体産生検査
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
VEC	Vascular endothelial cells	血管内皮細胞

2.6.7.1 毒性試験一覧

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Single-dose toxicity:	Mouse, CD1(ICR)	i.v.	Single dose	0, 50, 100, 150, 200	Yes	[redacted] US	[0670303]	4.2.3.1-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	Single dose	0, 250, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted] US	[0670304]	4.2.3.1-2
	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	Single dose	10, 30, 60	No	Novartis, US	[0470204]	4.2.3.1-3
Repeated-dose toxicity:	Mouse, CD1(ICR)	Oral gavage	2 weeks	0, 50, 150, 300	No	Novartis, Switzerland	[0770648]	4.2.3.2-1
	Mouse, CD1(ICR)	Oral gavage	13 weeks	0, 5, 15, 35, 80	Yes	[redacted] Canada	[0770649]	4.2.3.2-2
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	2 weeks	0, 10, 30, 100	No	Novartis, Switzerland	[0410113]	4.2.3.2-3
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	4 weeks + 4 weeks recovery	M: 0, 10, 50, 200 F: 0, 10, 50, 200 → 100[b]	Yes	Novartis, US	[0670037]	4.2.3.2-4
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	26 weeks + 8 weeks recovery	M: 0, 15, 50, 150 F: 0, 5, 15, 50	Yes	[redacted] Canada	[0770059]	4.2.3.2-5
	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	2 weeks	0, 10, 30, 100	No	Novartis, US	[0570040]	4.2.3.2-6
	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	4 weeks + 4 weeks recovery	0, 10, 50, 200 → 150[c]	Yes	Novartis, US	[0670007]	4.2.3.2-7
	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	26 weeks + 12 weeks recovery	0, 10, 50, 100	Yes	[redacted] Canada	[0770061]	4.2.3.2-8
	Monkey, Cynomolgus	Oral gavage	52 weeks + 8 weeks recovery	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted] US	[0770339]	4.2.3.2-9

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Genotoxicity:	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	Plate incorporation; 8 – 5000 µg/plate (+S9/-S9) Preincubation; 2.344 –5000 µg/plate (-S9) 312.5 –5000 µg/plate (+S9)	Yes	Novartis, Switzerland	[0612011]	4.2.3.3.1-1
	TK6 cells	*In vitro*	NA	37.5 – 300 µg/mL (+S9) 18.8 – 150 µg/mL (-S9)	No	Novartis, Switzerland	[0414047]	4.2.3.3.1-2
	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	NA	32.5 – 90.4 µg/mL (-S9) 26.5 – 70.1 µg/mL (+S9)	Yes	Novartis, Switzerland	[0612109]	4.2.3.3.1-3
	Mouse, CD1(ICR)	Oral gavage	2 days	Experiment 1: 0, 250, 500 Experiment 2: 0, 125	Yes	[redacted] UK	[1470042]	4.2.3.3.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	2 days	0, 125, 395, 1250	Yes	Novartis, Switzerland	[0770326]	4.2.3.3.2-2
Carcinogenicity:	Mouse, CD1(ICR)	Oral gavage	104 weeks	0, 2, 8, 25	Yes	[redacted] Canada	[0870139]	4.2.3.4.1-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	104 weeks	M: 0, 10, 30, 90 F: 0, 3, 10, 30	Yes	[redacted] Canada	[0870138]	4.2.3.4.1-2
Reproductive and development toxicity:	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	M: 4 weeks prior to mating until necropsy	M: 0, 2, 20, 200	Yes	Novartis, US	[0970446]	4.2.3.5.1-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	F: 2 weeks prior to mating until GD6	F: 0, 0.1, 0.3, 1	Yes	[redacted] Canada	[1070054]	4.2.3.5.1-2
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	GD 6-17	0, 1, 5, 40	Yes	Novartis, US	[0770653]	4.2.3.5.2-1
	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	GD 7-20	0, 5, 10, 50, 100, 150	No	Novartis, US	[0770060]	4.2.3.5.2-2
	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	GD 7-20	0, 0.1, 1, 5	Yes	Novartis, US	[0770652]	4.2.3.5.2-3

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Reproductive and development toxicity (cont.):	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	GD 6 - LD 20, 21 or 22	0, 0.05, 0.15, 0.5	Yes	[redacted] Canada	[0970449]	4.2.3.5.3-1
Local tolerance:	Rabbit, New Zealand White	Dermal application	Single dose	0.5 g/animal	Yes	[redacted] Netherlands	[0970033]	4.2.3.6-1
	Rabbit, New Zealand White	Occular application	Single dose	24 mg/animal	Yes	[redacted] Netherlands	[0970034]	4.2.3.6-2
	Rabbit, New Zealand White	i.v., i.a., perivenous	Single dose	0.015 mg/kg (i.v.), 0.00125 mg/kg (i.a.), 0.0005 mg (perivenous)	Yes	[redacted] Canada	[1270404]	4.2.3.6-3
Other toxicity studies: Immuno-toxicity	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	4 weeks	M : 0, 1.5, 10, 50 F : 0, 0.3, 10, 50	Yes	Novartis, US	[0770500]	4.2.3.7.2-1
Other toxicity studies: Mechanistic studies	Vascular endothelial cells (VEC) from mice, rats and humans	*In vitro*	NA	BAF312: 0.001 to 30000 nM for mice VEC, 0.001 to 10000 nM for rats and humans VEC LYS815: 0.0005 to 5000 nM for mice, rats and humans VEC	No	Novartis, US	[1420148]	4.2.3.7.3-1
	Mouse, CD1(ICR)	Oral gavage	1, 3, 7, 14, 28, 91 or 274 days	0, 25, 75	No	[redacted] France	[1370782]	4.2.3.7.3-2
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	1, 3, 7, 14, 28 or 92 days	0, 90	No	[redacted] France	[1370783]	4.2.3.7.3-3
	Mouse, C57/BL6	Oral gavage	14 days	0, 0.01, 0.3, 10	No	Novartis, Switzerland	[0900680]	4.2.3.7.3-4
Other toxicity studies: phototoxicity	3T3 mouse fibroblast cells	*in vitro*	NA	0.316, 1.0, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 316 and 1000 µg/mL	Yes	[redacted] UK	[1770654]	4.2.3.7.7-1

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Other toxicity studies: skin sensitization	Mouse, Balb/c	Epidermal application	3 days	0.5, 5, 50% (25 µL/ear)	Yes	[redacted] Netherlands	[0970036]	4.2.3.7.7-2
Other toxicity studies: Dependence	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	4 weeks + 8 days recovery	M: 0, 0.3, 1, 50, 150 F: 0, 0.15, 0.5, 10, 50	Yes	[redacted] UK	[1570351]	4.2.3.7.4-1
	Rat, Lister Hooded	Oral gavage	2 times/week	M: 0, 0.3, 1, 50, 150 F: 0, 0.15, 0.5, 10, 50	Yes	[redacted] UK	[1270591]	4.2.3.7.4-2
	Rat, Lister Hooded	i.v. (self-administration)	5 days	0, 0.01, 0.05, 0.4 mg/kg/infusion	Yes	[redacted] UK	[1270590]	4.2.3.7.4-3
Other toxicity studies: Impurities	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物A * 12.71 – 4237.29 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[0912575]	4.2.3.7.6-1
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物B * 1.7 – 5000 µg/plate	Yes	[redacted] Netherlands	[506537]	4.2.3.7.6-2
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物C * 16 – 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1512516]	4.2.3.7.6-3
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物D * 1.6 – 5000 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[1112610]	4.2.3.7.6-4
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物E * 6.25 – 5000 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[0912573]	4.2.3.7.6-5
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物F * 16 – 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1612595]	4.2.3.7.6-6
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物G * 16 – 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1612593]	4.2.3.7.6-7

＊ 承認情報提供時に置き換えた

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物H * 15 – 5000 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[0912574]	4.2.3.7.6-8
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物I * 15 – 5000 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[0912576]	4.2.3.7.6-9
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	不純物J * 16 – 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1612594]	4.2.3.7.6-10
	Rat, Wistar Hannover	Oral gavage	28 days	0, 15, 50 (spiked) 50 (pure)	Yes	[redacted] UK	[1670150]	4.2.3.7.6-11

For repeated-dose toxicity, the highest NOAEL is underlined. NA= not applicable.

a = Unless otherwise specified. b = Dose for females was reduced from 200 to 100 mg/kg/day on day 13. c = Dose was reduced from 200 to 150 mg/kg/day on day 8.

＊ 承認情報提供時に置き換えた

2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験一覧表

Study type	Species	Strain	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Repeated-dose toxicity: 2-week	Mouse	CD1(ICR)	Oral gavage	0, 50, 150, 300	No	[0770648]	4.2.3.2-1
Repeated-dose toxicity: 13-week	Mouse	CD1(ICR)	Oral gavage	0, 5, 15, 35, 80	Yes	[0770649]	4.2.3.2-2
Carcinogenicity study: 104-week	Mouse	CD1(ICR)	Oral gavage	0, 2, 8, 25	Yes	[0870139]	4.2.3.4.1-1
Repeated-dose toxicity: 2-week	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	0, 10, 30,100	No	[0410113]	4.2.3.2-3
Repeated-dose toxicity: 4-week	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	M: 0, 10, 50, 200 F: 0, 10, 50, 200 → 100[a]	Yes	[0670037]	4.2.3.2-4
Repeated-dose toxicity: 26-week	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	M: 0, 15, 50, 150 F: 0, 5, 15, 50	Yes	[0770059]	4.2.3.2-5
Carcinogenicity study: 104-week	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	M: 0, 10, 30, 90 F: 0, 3, 10, 30	Yes	[0870138]	4.2.3.4.1-2
Fertility and early embryonic development	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	F: 0, 0.1, 0.3, 1	Yes	[1070054]	4.2.3.5.1-2
Embryo-fetal development	Rat	Wistar Hannover	Oral gavage	0, 1, 5, 40	Yes	[0770653]	4.2.3.5.2-1
Embryo-fetal development	Rabbit	New Zealand White	Oral gavage	0, 0.1, 1, 5	Yes	[0770652]	4.2.3.5.2-3
Repeated-dose toxicity: 2-week	Monkey	Cynomolgus	Oral gavage	0, 10, 30,100	No	[0570040]	4.2.3.2-6
Repeated-dose toxicity: 4-week	Monkey	Cynomolgus	Oral gavage	0, 10, 50, 200 → 150[b]	Yes	[0670007]	4.2.3.2-7
Repeated-dose toxicity: 26-week	Monkey	Cynomolgus	Oral gavage	0, 10, 50,100	Yes	[0770061]	4.2.3.2-8
Repeated-dose toxicity: 52-week	Monkey	Cynomolgus	Oral gavage	0, 10, 30,100	Yes	[0770339]	4.2.3.2-9

a = Dose for females was reduced from 200 to 100 mg/kg/day on day 13. b = Dose was reduced from 200 to 150 mg/kg/day on day 8.

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表

AUC0-24h (ng.h/mL) at steady state

Daily dose (mg/kg)	Mice male	Mice female	Rats male	Rats female	Rabbits female	Monkeys male	Monkeys female	Study number	Location in CTD
0.1				841				1070054	4.2.3.5.1-2
0.1					NR			0770652	4.2.3.5.2-3
0.3				2100				1070054	4.2.3.5.1-2
1				9030				1070054	4.2.3.5.1-2
1				10300				0770653	4.2.3.5.2-1
1					958			0770652	4.2.3.5.2-3
5	44700	40100						0770649	4.2.3.2-2
5				57900				0770653	4.2.3.5.2-1
5				77000				0770059	4.2.3.2-5
5					5510			0770652	4.2.3.5.2-3
10			12700					0410113	4.2.3.2-3
10			21700	107000				0670037	4.2.3.2-4
10						11600	78000	0570040	4.2.3.2-6
10						95600	106000	0670007	4.2.3.2-7
10						132000	140000	0770061	4.2.3.2-8
10						95400	124000	0770339	4.2.3.2-9
15	155000	62600						0770649	4.2.3.2-2
15			48200	191000				0770059	4.2.3.2-5
30			37400					0410113	4.2.3.2-3
30						192000	226000	0570040	4.2.3.2-6
30						331000	215000	0770339	4.2.3.2-9
35	195000	139000						0770649	4.2.3.2-2
40				316000				0770653	4.2.3.5.2-1

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

AUC0-24h (ng.h/mL) at steady state

Daily dose (mg/kg)	Mice male	Mice female	Rats male	Rats female	Rabbits female	Monkeys male	Monkeys female	Study number	Location in CTD
50	378000	280000						0770648	4.2.3.2-1
50			86300	404000				0670037	4.2.3.2-4
50			106000	372000				0770059	4.2.3.2-5
50						475000	346000	0670007	4.2.3.2-7
50						580000	619000	0770061	4.2.3.2-8
80	355000	229000						0770649	4.2.3.2-2
100			120000					0410113	4.2.3.2-3
100				603000[a]				0670037	4.2.3.2-4
100						331000	348000	0570040	4.2.3.2-6
100						843000	1040000	0770061	4.2.3.2-8
100						884000	565000	0770339	4.2.3.2-9
150	491000	512000						0770648	4.2.3.2-1
150			198000					0770059	4.2.3.2-5
150						1110000[b]	1190000[b]	0670007	4.2.3.2-7
200			365000					0670037	4.2.3.2-4
300	965000	647000						0770648	4.2.3.2-1

NR = AUC (0-24h) value was not reported due to insufficient data point in the TK profile, a = Dose for females was reduced from 200 to 100 mg/kg/day on day 13, b = Dose was reduced from 200 to 150 mg/kg/day on day 8.

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

Cmax (ng/mL) at steady state

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Rabbits	Monkeys		Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	female	male	female		
0.1				46.4				1070054	4.2.3.5.1-2
0.1					6.52			0770652	4.2.3.5.2-3
0.3				103				1070054	4.2.3.5.1-2
1				468				1070054	4.2.3.5.1-2
1				498				0770653	4.2.3.5.2-1
1					66.4			0770652	4.2.3.5.2-3
2	1440[a]	994[a]						0870139	4.2.3.4.1-1
3				1610[a]				0870138	4.2.3.4.1-2
5	2730	2570						0770649	4.2.3.2-2
5				3820				0770059	4.2.3.2-5
5				2870				0770653	4.2.3.5.2-1
5					426			0770652	4.2.3.5.2-3
8	6100[a]	3900[a]						0870139	4.2.3.4.1-1
10			1170					0410113	4.2.3.2-3
10			1900	5670				0670037	4.2.3.2-4
10			1230[a]	7630[a]				0870138	4.2.3.4.1-2
10						6330	4500	0570040	4.2.3.2-6
10						5170	5860	0670007	4.2.3.2-7
10						6690	7890	0770061	4.2.3.2-8
10						5440	6620	0770339	4.2.3.2-9
15	8860	3590						0770649	4.2.3.2-2
15			3330	9680				0770059	4.2.3.2-5
25	14800[a]	8350[a]						0870139	4.2.3.4.1-1

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

Cmax (ng/mL) at steady state

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Rabbits	Monkeys		Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	female	male	female		
30			4510					0410113	4.2.3.2-3
30			3970[a]	16100[a]				0870138	4.2.3.4.1-2
30						13700	12600	0570040	4.2.3.2-6
30						18000	12100	0770339	4.2.3.2-9
35	12200	7940						0770649	4.2.3.2-2
40				14800				0770653	4.2.3.5.2-1
50	24100	16100						0770648	4.2.3.2-1
50			6640	21500				0670037	4.2.3.2-4
50			7060	19400				0770059	4.2.3.2-5
50						27200	20500	0670007	4.2.3.2-7
50						31700	32600	0770061	4.2.3.2-8
80	20300	14600						0770649	4.2.3.2-2
90			11600[a]					0870138	4.2.3.4.1-2
100			8750					0410113	4.2.3.2-3
100				30200[b]				0670037	4.2.3.2-4
100						17200	17850	0570040	4.2.3.2-6
100						41800	54800	0770061	4.2.3.2-8
100						46000	31000	0770339	4.2.3.2-9
150	28300	30600						0770648	4.2.3.2-1
150			13300					0770059	4.2.3.2-5
150						59000[c]	66500[c]	0670007	4.2.3.2-7
200			21600					0670037	4.2.3.2-4
300	61200	40500						0770648	4.2.3.2-1

a = At 6 hours postdose, b = Dose for females was reduced from 200 to 100 mg/kg/day on day 13, c = Dose was reduced from 200 to 150 mg/kg/day on day 8.

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物

Batch no.	Purity (%)[a]	Specified impurities (%)[a]	Study type	Study number	Location in CTD
0651001	[redacted]	[redacted]	Single dose, mouse	0670303	4.2.3.1-1
		Sum of impurities: [redacted]	Single dose, rat	0670304	4.2.3.1-2
			4-week, rat	0670037	4.2.3.2-4
			26-week, rat	0770059	4.2.3.2-5
			4-week, monkey	0670007	4.2.3.2-7
			26-week, monkey	0770061	4.2.3.2-8
			Ames test	0612011	4.2.3.3.1-1
			Chromosomal aberration test	0612109	4.2.3.3.1-3
			Micronucleus test, rat	0770326	4.2.3.3.2-2
			Embryo-fetal development, rat	0770653	4.2.3.5.2-1
			Embryo-fetal development dose range finding, rabbit	0770060	4.2.3.5.2-2
			Embryo-fetal development, rabbit	0770652	4.2.3.5.2-3
0651002	[redacted]	[redacted]	2-week, mouse	0770648	4.2.3.2-1
		Sum of impurities: [redacted]	13-week, mouse	0770649	4.2.3.2-2
			26-week, rat	0770059	4.2.3.2-5
			52-week, monkey	0770339	4.2.3.2-9
0822007	[redacted]	544-08: [redacted]	Immunotoxicity, rat	0770500	4.2.3.7.2-1
		520-08[b]: [redacted]	Investigative study, mouse	0900680	4.2.3.7.3-4
		[redacted]			
		Sum of impurities: [redacted]			
0822008	[redacted]%	544-08: [redacted]	Fertility and early embryonic development, male rat	0970446	4.2.3.5.1-1
		520-08[b]: [redacted]	Skin irritation, rabbit	0970033	4.2.3.6-1
		[redacted]	Eye irritation, rabbit	0970034	4.2.3.6-2
		Sum of impurities: [redacted]	Local lymph node assay, mouse	0970036	4.2.3.7.7-2

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

Batch no.	Purity (%)[a]	Specified impurities (%)[a]	Study type	Study number	Location in CTD
1113015	[redacted]	010-10: [redacted] 520-08[b]: [redacted] [redacted] Sum of impurities: [redacted]	Fertility and early embryonic development, female rat	1070054	4.2.3.5.1-2
1113020	[redacted]	010-10: [redacted] 026-09: [redacted] 027-09: [redacted] 520-08[b]: [redacted] [redacted] Sum of impurities: [redacted]	Micronucleus test, mouse Carcinogenicity, mouse Carcinogenicity, rat Pre and postnatal development, rat Mechanistic study, mouse Mechanistic study, rat	1470042 0870139 0870138 0970449 1370782 1370783	4.2.3.3.2-1 4.2.3.4.1-1 4.2.3.4.1-2 4.2.3.5.3-1 4.2.3.7.3-2 4.2.3.7.3-3
NX-4	[redacted]	NR	2-week, rat Single dose, monkey 2-week, monkey	0410113 0470204 0570040	4.2.3.2-3 4.2.3.1-3 4.2.3.2-6
AA-2	NR	NR	Micronucleus test, TK6 cells	0414047	4.2.3.3.1-2
Y028 0213	[redacted]	[redacted]	Local tolerance, rabbit	1270404	4.2.3.6-3
1010010893	[redacted]	010-10: [redacted] 026-09: [redacted] 027-09: [redacted] 504-16: [redacted] 505-16: [redacted] 520-08[b]: [redacted] [redacted] Sum of impurities: [redacted]	Self-administration study, rat Drug discrimination study, rat Physical dependence study, rat Impurity, rat 3T3 NRU photoxicity	1270590 1270591 1570351 1670150 1770654	4.2.3.7.4-3 4.2.3.7.4-2 4.2.3.7.4-1 4.2.3.7.6-11 4.2.3.7.7-1

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

Batch no.	Purity (%)[a]	Specified impurities (%)[a]	Study type	Study number	Location in CTD
16/1 (spiked batch)	[redacted]	010-10: [redacted] 026-09: [redacted] 027-09: [redacted] Sum of impurities: [redacted]	Impurity, rat	1670150	4.2.3.7.6-11

The results presented are the ones valid at the time of the assessment of the corresponding batch. NR = Not reported, a = The values by HPLC; b = The values by [redacted]

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Observed maximum non-lethal dose (mg/kg)	Observed minimum lethal dose (mg/kg)	Noteworthy findings:	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Mouse/CD1 (ICR)	i.v. (Cremophor EL in 5% Glucose)	0, 50, 100, 150, 200	3M/3F	200	NA	There were no test article-related findings reported.	Yes	[0670303]	4.2.3.1-1
Rat/Wistar Hannover	Oral gavage (0.5% hydroxypropyl-cellulose)	0, 250, 500, 1000, 2000	3 to 5M/ 3 to 5F	2000	NA	2000 mg/kg (F): piloerection, poor grooming, ↓ body tone, abnormal gait and stance on days 8 to 11	Yes	[0670304]	4.2.3.1-2
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage (0.5% sodium carboxymethyl-cellulose)	10, 30, 60 (escalating doses on days 1, 3, 5)	2M	60	NA	Day 7: ↓ lymphocyte counts, ↑ aPTT, cytoplasmic inclusions in hepatocytes in one animal	No	[0470204]	4.2.3.1-3

F = Female; M = Male; NA = not applicable; ↓ = decrease; ↑ = increase

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Mouse/ CD1(ICR)	Oral gavage (0.5% hydroxypropyl-cellulose)	2 weeks	0, 50, 150, 300	6M/6F	Not established	Mortality: 3 males at 300 mg/kg; cause of death: probably nephrotoxicity. ≥ 50 mg/kg: ↓↓ lymphocyte counts, ↑ neutrophils, ↑ ALT (F), ↓ cholesterol ↓ globulin concentrations, ↑ A/G ratio, ↑ liver weight, Lung: foci with fibrin/hyaline material with inflammatory reaction, fibrosis and smooth muscle hyperplasia, ↑ incidence of diffuse or multifocal alveolar macrophages; Lymph nodes: ↓ germinal center development, lymphoid depletion; Spleen: lymphoid atrophy, ↑ hemopoiesis; Thymus: enlargement of the medullary area (at 50 mg/kg only); Liver: centrilobular hepatocellular hypertrophy with karyomegaly; Bone marrow: myeloid hyperplasia ≥ 150 mg/kg: trembling (M), ↓ motor activity (M), Kidney (M): tubular basophilia often with karyomegaly, inflammatory cell infiltration; Liver: ↑ incidence of inflammatory foci, focal or single cell necrosis; Lymph nodes and thymus: lymphocytolysis 300 mg/kg: ↓ muscle tone (M), hunched posture (M), pale appearance (M), recumbency (M), ↓ body weight gain (M), ↓ food intake (M), ↓ triglycerides (M), ↓ thymus weight, Thymus: cortical or diffuse atrophy; Kidney (M): tubular necrosis, mineralization, tubular dilatation, hyaline casts; Liver: cytoplasmic vacuolation of hepatocytes (M); Testes: tubular degeneration; Epididymides: cellular debris; Bone marrow: hypocellularity	[0770648]	4.2.3.2-1

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Rat/ Wistar Hannover	Oral gavage (1% carboxymethyl-cellulose)	2 weeks	0, 10, 30, 100	5M	Not established	≥10 mg/kg: ↓ food intake, ↓white blood cell counts, ↓ lymphocyte counts, ↑triglyceride, Lung: broncho-alveolar smooth muscle hypertrophy/hyperplasia, ↑ alveolar macrophages; Thymus: cortical atrophy, medullary enlargement; Spleen: lymphoid atrophy, absence of germinal center development, ↑hemopoiesis; Lymph nodes: histiocytosis, lymphoid depletion ≥30 mg/kg: ↑reticulocyte counts, ↓platelet counts, Thymus: cortical atrophy 100 mg/kg: ↓total protein, ↓albumin, ↓sodium, ↓spleen weight, ↑liver weitht	[0410113]	4.2.3.2-3
Monkey/ Cyno-molgus	Oral gavage (0.5% sodium carboxymethyl-cellulose)	2 weeks	0, 10, 30, 100	1M/1F for groups 1, 2, 3 2M/2F for group 4	30	≥ 10 mg/kg: ↓white blood cell counts, ↓ lymphocyte counts ≥ 30 mg/kg: ↓ food consumption (F) 100 mg/kg: fecal changes (soft, diarrhea, mucoid) (M), ↓ Total protein, albumin and BUN (F)	[0570040]	4.2.3.2-6

F = female; M = male; NOAEL = no observable adverse effect level; ↓ = decrease; ↑ = increase

2.6.7.7A 反復投与毒性試験

Report title: A 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse
Study no.: [0770649]
Test article: BAF312
Location in CTD: 4.2.3.2-2
Species/strain: Mouse/CD1 (ICR)
Duration of dosing: 13 weeks
GLP compliance: Yes
Initial age: 6 weeks at start of treatment
Duration of postdose: NA
Date of first dose: [redacted]20[redacted]
Method of administration: Oral gavage
Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: None
No Observed Adverse-Effect Level: Not established

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control – Group 1)		5 (Group 2)		15 (Group 3)		35 (Group 4)		80 (Group 5)	
Number of animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics										
Day 1										
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	33400	25200	98900	77600	259000	180000	542000	414000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	2000	1600	5770	4190	15100	10500	30100	23900
Day 91										
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	44700	40100	155000	62600	195000	139000	355000	229000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	2730	2570	8860	3590	12200	7940	20300	14600
Noteworthy findings										
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%[a]) - Week 6	36.36 g	27.07 g	+5	+9**	+8	+7*	+7	+7*	+10*	+8**
- Week 13	38.30 g	29.30 g	+5	+8	+7	+9*	+8	+9*	+8	+12**
Body weight gains (%[a])										
- Week -1 to 13	7.79 g	6.97 g	+23	+38*	+35	+48**	+48	+52***	+43	+56***

2.6.7.7A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse										Study no.: 0770649
Daily dose (mg/kg/day):	0 (Control – Group 1)		5 (Group 2)		15 (Group 3)		35 (Group 4)		80 (Group 5)	
Number of animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Food consumption (%[a])										
- Week 8	5.1 g	-	+10	-	+25$	-	+22$$	-	+18$	-
- Week 13	5.5 g	-	+5	-	+15	-	+18*	-	+13	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology - Week 14										
White Blood Cell count (10^3/µL)	3.015	3.358	0.856	0.836***	0.545$$	0.698***	0.836	0.804***	0.910	1.080**
Lymphocyte count (10^3/µL)	2.235	2.758	0.292$	0.306$	0.230$	0.272$$	0.338	0.294$	0.328	0.398
Clinical biochemistry - Week 14										
Total Protein (g/dL)	5.28	5.23	4.76**	4.85	4.66***	4.70	4.65***	4.82	4.70***	4.64
Albumin (g/dL)	3.54	3.68	3.20	3.50	3.00$$	3.38	3.04$	3.40	2.98$$	3.24
ALT (U/L)	19.6	23.8	-	-	-	-	-	-	115[b]	157[b]
Organ weights (%[c]) - Week 14										
Liver/gallbladder	1.2709 g	1.0609 g	+14	+7	+26***	+11	+40***	+20**	+51***	+38***
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology - Week 14										
Lung - Fibrosis/ Inflammation										
Minimal	0	0	6	4	6	6	4	7	3	4
Slight	0	0	0	1	2	2	1	2	2	2
Moderate	0	0	0	0	0	1	2	0	2	0
Lung - Fibrin/hyaline foci										
Minimal	0	0	9	9	9	9	8	8	6	9
Slight	0	0	1	1	1	1	2	2	4	1

2.6.7.7A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse Study no.: 0770649

Daily dose (mg/kg/day):	0 (Control – Group 1)		5 (Group 2)		15 (Group 3)		35 (Group 4)		80 (Group 5)	
Number of animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Lung - Macrophage accumulation										
Minimal	0	0	2	1	6	6	4	4	5	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lung - Increased alveolar macrophages										
Minimal	0	0	4	5	7	4	7	6	4	6
Slight	0	0	0	0	2	1	1	1	2	1
Liver - Centrilobular hypertrophy										
Minimal	0	0	0	0	0	1	7	3	5	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Liver - Histiocytosis										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver - Inflammation										
Minimal	3	2	0	0	1	0	1	2	2	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Lacrimal gland - Vacuolar degeneration										
Minimal	0	0	0	0	4	3	10	8	10	6
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

2.6.7.7A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse Study no.: 0770649

Daily dose (mg/kg/day):	0 (Control – Group 1)		5 (Group 2)		15 (Group 3)		35 (Group 4)		80 (Group 5)	
Number of animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Lacrimal gland - Atrophy										
Minimal	0	1	0	0	0	0	0	2	0	3
Slight	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lacrimal gland - Reduced cytoplasmic eosinophilia										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
Spleen - Lymphoid atrophy										
Minimal	0	0	10	9	10	9	7	10	9	10
Spleen - Lymphoid hyperplasia										
Minimal	0	0	10	5	5	3	6	4	8	2
Slight	0	0	0	2	1	1	1	3	1	2
Spleen - Increased extramedullary hematopoiesis										
Minimal	0	0	1	2	0	3	2	4	1	3
Thymus - Lymphoid hyperplasia										
Minimal	0	0	10	8	9	7	7	7	5	5
Slight	0	0	0	2	1	2	3	2	5	4
Mesenteric Lymph Node-Medullary hystiocytosis										
Minimal	0	0	5	0	3	6	9	7	6	5
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7A 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse										Study no.: 0770649
Daily dose (mg/kg/day):	0 (Control – Group 1)		5 (Group 2)		15 (Group 3)		35 (Group 4)		80 (Group 5)	
Number of animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Mandibular Lymph Node-Lymphoid Hyperplasia										
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0	2	0

- = no noteworthy findings, NA= not applicable, Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001, Dunn test: $ p≤0.05, $$ p≤0.01, $$$ p≤0.001

a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b = Individual values of 1 male and 1 female at 80 mg/kg/day that had an increase in ALT. c = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7B 反復投与毒性試験

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period Study no.: [0670037]

Test article: BAF312

Species/strain: Rat/Wistar Hannover Duration of dosing: 4 weeks Location in CTD: 4.2.3.2-4

Initial age: Approx. 8 weeks at start of treatment Duration of postdose: 4 weeks GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] Method of administration: Oral gavage Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose

Special features: Dose for high dose females reduced from 200 mg/kg/day to 100 mg/kg/day beginning on study day 13 due to poor condition of many high dose females. Dosing of high dose females was suspended for study days 11 and 12. Satellite animals were used to obtain samples of brain, heart, lung and blood for BAF312 concentration analysis.

No Observed Adverse-Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics								
Day 1								
AUC0-24h (ng.hr/mL)	NA	NA	19500	52100	93300	204000	134000	367000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	1410	2700	6360	12100	9430	18300
Day 29								
AUC0-24h (ng.hr/mL)	NA	NA	21700	107000	86300	404000	365000	603000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	1900	5670	6640	21500	21600	30200
Mean BAF312 tissue/plasma concentration ratio - Week 4								
Brain/plasma	NA	NA	10.8	6.0	10.8	5.3	10.0	7.8
Heart/plasma	NA	NA	5.4	5.6	5.3	4.8	5.9	5.9
Lung/plasma	NA	NA	4.4	5.6	5.6	4.8	6.2	5.6

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period								Study no. 0670037
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Mean BAF312 tissue and plasma concentration - Week 8								
Brain (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	111	472
Heart (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	92.6	498
Lung (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	110	480
Plasma (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.00	24.6
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	2[a]	0	1[a]	0	1[a]
Clinical observations								
Number examined	16	16	13	13	13	13	20	20
Reduced feces	0	0	0	0	0	8	12	19
Perineal staining	0	0	0	0	0	2	4	15
Hypersensitivity to touch	0	0	0	0	0	0	0	6
Vocalization	0	0	0	0	0	0	0	6
Dehydration	0	0	0	0	0	0	0	5
Staining of fur	0	0	0	0	0	1	1	7
Unkempt coat	0	0	0	0	0	0	0	3
Body weight (%[b]) - Day 8	252.1 g	181.2 g	-2	0.2	-2	-2	-7	-9
- Day 29	322.7 g	208.0 g	-0.8	1	-1	0.1	-6*	-0.5
Body weight gains (%[b])								
- Day 1 to 8	28.4 g	10.1 g	-8	-12	-12	-44[#]	-51[##]	-157[##]
Food consumption (%[b]) - Day 8	24.2 g	17.5 g	-5	-6	-10[##]	-22[##]	-29[##]	-45[##]

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period							Study no. 0670037	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
- Day 15	24.1 g	18.6 g	4	-2	-5	-8	-7[#]	-16**
- Day 29	25.0 g	17.6 g	-2	+1	-0.4	-3	-2	+6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology - Week 4								
Lymphocyte count (10^3/µL)	7.14	5.69	1.02**	0.55**	0.81**	0.68**	0.97**	0.67**
Eosinophils count (10^3/µL)	0.10	-	0.07**	-	0.07**	-	0.06**	-
Basophils count (10^3/µL)	0.19	0.15	0.03**	0.01**	0.01**	0.01**	0.03**	0.02**
Large unstained cells count (10^3/µL)	0.05	0.04	0.01**	0.00**	0.01**	0.00**	0.01**	0.00**
Platelets count (10^3/µL)	729.6	777.4	767.7	790.3	820.5	867.3	980.0**	927.1**
Reticulocytes (10^3/µL)	-	151.1	-	176.6	-	167.9	-	216.8**
Clinical biochemistry - Week 4								
Potassium (mEq/L)	5.5	4.8	5.2	4.6	5.5	4.8	6.0	5.5
Phosphorus (mg/dL)	6.9	5.7	6.7	5.4	7.3	5.6	8.2**	7.2**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%[c])								
Spleen	0.61437 g	0.48727 g	-9	-12	-16	-13	-28[$$]	-21**
Liver	8.10 g	5.00 g	3	11*	9	24**	32[$$]	38**
Thymus	-	0.39719 g	-	25	-	41**	-	35*
Uterus	NA	0.44352 g	NA	6	NA	-5	NA	-47[$$]
Adrenals	0.06659 g	0.06773 g	0.3	18*	-2	13	13	24**
Heart	-	0.72363 g	-	11*	-	10	-	11*

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period							Study no. 0670037	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Pituitary	0.00983 g	0.01043 g	-11	5	-24[$$]	-7	-25[$$]	-20*
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney - Hyaline droplets	0	0	2	0	2	0	9	0
Liver - Centrilobular hypertrophy	0	0	0	0	9	8	10	9
Lungs - Alveolitis	0	0	0	0	0	1	5	8
Lungs - Bronchiolitis	0	0	0	0	0	0	2	0
Lungs - Foam cell aggregates	0	0	0	0	0	2	5	6
Bronchial lymph nodes - Histiocytosis	1	0	6	8	4	9	5	7
Mandibular lymph nodes - Histiocytosis	0	0	3	8	5	7	8	7
Mesenteric lymph nodes - Histiocytosis	1	0	6	8	4	10	9	8
Mesenteric lymph nodes - Sinusoidal lymphoid depletion	0	0	4	3	3	3	5	5
Spleen - lymphoid atrophy	0	0	3	3	9	8	6	7
Thymus - Medullary enlargement	0	0	9	7	9	8	10	7
Uterus - Atrophy	NA	0	NA	0	NA	0	NA	7
Vagina - Epithelial mucification	NA	0	NA	0	NA	0	NA	8
Postdose Evaluation								

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period							Study no. 0670037	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Number examined	5	5	0	0	0	0	5	5
Hematology								
White Blood Cell count (10^3/µL)	-	6.4	NA	NA	NA	NA	-	1.5**
Lymphocyte count (10^3/µL)	-	5.48	NA	NA	NA	NA	-	0.79**
Large unstained cells count (10^3/µL)	-	0.04	NA	NA	NA	NA	-	0.00**
Organ weights (%[c])								
Spleen	-	0.45826 g	NA	NA	NA	NA	-	-7
Liver	8.02 g	4.97 g	NA	NA	NA	NA	12	11
Uterus	NA	0.57518 g	NA	NA	NA	NA	NA	-45
Adrenal	-	0.06482 g	NA	NA	NA	NA	-	6
Heart	-	0.73508 g	NA	NA	NA	NA	-	7
Pituitary	0.00890 g	0.01282 g	NA	NA	NA	NA	-10	-23
Histopathology								
Number examined	5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Kidney - Hyaline droplets	0	0	NA	NA	NA	NA	4	0
Lungs - Foam cell aggregates	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Bronchial lymph nodes - Histiocytosis	0	1	NA	NA	NA	NA	2	4
Mandibular lymph nodes - Histiocytosis	0	1	NA	NA	NA	NA	2	4
Mesenteric lymph nodes - Histiocytosis	2	1	NA	NA	NA	NA	1	5

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period							Study no. 0670037	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200 (M), 200 →100 (F) (Group 4)	
Number of animals main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Satellite	M: 1	F: 1	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery satellite	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Spleen - lymphoid atrophy	0	0	NA	NA	NA	NA	0	5
Thymus - Medullary enlargement	0	0	NA	NA	NA	NA	0	5
Uterus - Atrophy	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	2
Vagina - Epithelial mucification	NA	2	NA	NA	NA	NA	NA	1

- = no noteworthy findings, NA= not applicable, Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, Dunn test: $ p≤0.05, $$ p≤0.01, Modified T test: # p≤0.05, ## p≤0.01
a = Animals were found dead due to bleeding procedures for clinical pathology or toxicokinetics. b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). c = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7C 反復投与毒性試験

Report title: BAF312: A 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period Study no.: [0770059]
Test article: BAF312
Species/strain: Rat/Wistar Hannover Duration of dosing: 26 weeks Location in CTD: 4.2.3.2-5
Initial age: 8 weeks at start of treatment Duration of postdose: 8 weeks GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted] Method of administration: Oral Gavage Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: None
No Observed Adverse-Effect Level: 50 mg/kg/day (M) and 15 mg/kg/day (F)

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		15 (Group 2)	5 (Group 5)	50 (Group 3)	15 (Group 6)	150 (Group 4)	50 (Group 7)
Number of animals								
main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Toxicokinetics								
Day 26								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	31400	70200	93600	150000	185000	320000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	2250	4140	6520	7830	13500	17500
Day 152								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	48200	77000	106000	191000	198000	372000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	3330	3820	7060	9680	13300	19400
Mean BAF312 tissue/plasma concentration ratio – Day 183								
Brain/plasma	NA	NA	14	6	13	8	16	9
Lung/plasma	NA	NA	6	6	6	7	8	7

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period								Study no. 0770059
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		15 (Group 2)	5 (Group 5)	50 (Group 3)	15 (Group 6)	150 (Group 4)	50 (Group 7)
Number of animals main Recovery	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10
Mean BAF312 tissue and plasma concentration –Day 239								
Brain (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ	75.5
Lung (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ	BLQ
Plasma (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ	0.877
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	2[a]	0	0	0	1[b]	1[b]	1[b]
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%[c]) – Week 26	484.6 g	269.8 g	1	3	-3	-1	-7*	-4
Body weight gains (%[c])								
– Week -1 to 1	39.5 g	19.1 g	-4	-10	-12	-30**	-52$$$	-63***
– Week -1 to 26	260.0 g	93.8 g	1	2	-6	-7	-14**	-15*
Food consumption (%[c])								
– Week 1	23.7 g	18.6 g	-5	-8***	-8$	-13***	-24$$$	-18***
– Week 5	23.5 g	18.6 g	-1	-2	0	-4	5*	-2
– Week 7	22.4 g	17.4 g	4	0	23$$	0	14$$$	14$
– Week 26	21.8 g	15.4 g	-3	8	-5	5	2	12***
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology – Week 26								
White Blood cell count (10^3/µL)	4.186	2.227	1.159$$$	0.604$$$	1.114$$$	0.582$$$	1.506$$$	0.757$$$
Lymphocyte count (10^3/µL)	3.090	1.650	0.441$$$	0.201$$$	0.432$$$	0.218 $$$	0.563$$$	0.301$$$
Monocyte count (10^3/µL)	0.106	0.064	0.046$$$	0.029$$$	0.044$$$	0.027$$$	0.056$$$	0.033$$
Eosinophil count (10^3/µL)	0.079	0.051	0.047$	0.035*	0.044$$	0.032*	0.049$$	0.034*

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period								Study no. 0770059
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		15 (Group 2)	5 (Group 5)	50 (Group 3)	15 (Group 6)	150 (Group 4)	50 (Group 7)
Number of animals main Recovery	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10
Red blood cell count (10^6/µL)	9.035	8.347	8.573**	7.658***	8.519**	7.635***	8.642**	7.953*
Hemoglobin (g/dL)	16.74	16.29	15.69$^{\$\$\$}$	15.21***	15.61$^{\$\$\$}$	15.18***	15.46$^{\$\$\$}$	15.41**
Hematocrit (%)	47.08	45.63	44.55$^{\$}$	42.32***	44.24$^{\$\$}$	42.43***	44.79$^{\$}$	43.67*
Clinical biochemistry – Week 26								
Total protein (g/dL)	6.55	7.03	5.92$^{\$\$\$}$	6.41$^{\$\$}$	5.94$^{\$\$\$}$	6.34$^{\$\$\$}$	6.17$^{\$\$}$	6.18$^{\$\$\$}$
Albumin (g/dL)	4.06	4.78	3.79$^{\$\$}$	4.49***	3.75$^{\$\$\$}$	4.35***	3.82$^{\$\$}$	4.09***
Globulin (g/dL)	2.50	2.25	2.13$^{\$\$\$}$	1.92***	2.19$^{\$\$\$}$	1.99***	2.35	2.09*
A/G ratio	1.632	2.146	1.788***	2.360**	1.718	2.198	1.632	1.983*
Phosphorus (mg/dL)	5.521	5.696	5.967	5.848	6.077*	6.193	6.507***	6.413$^{\$}$
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%[d])								
Liver	9.4892 g	5.4615 g	16**	15**	21***	11*	52***	26***
Spleen	0.7186 g	0.4812 g	-13*	-12*	-18***	-20***	-22***	-19***
Thyroids	0.02963 g	-	16	-	13	-	29**	-
Thymus	-	0.18593 g	-	23*	-	12	-	24*
Adrenal	-	0.05792 g	-	10	-	12	-	23
Pituitary	-	0.01705 g	-	-5	-	-11	-	-30
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number examined	20	20	20	20	20	20	21[e]	21[e]
Liver - Centrilobular hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	9	0	11	5
Slight	0	0	0	0	2	0	9	0

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period								Study no. 0770059
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		15 (Group 2)	5 (Group 5)	50 (Group 3)	15 (Group 6)	150 (Group 4)	50 (Group 7)
Number of animals main Recovery	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 0	F: 20 F: 0	M: 20 M: 10	F: 20 F: 10
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen - Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	0	0	1	0	2	0
Slight	0	0	0	3	0	1	10	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen - Lymphoid hyperplasia								
Minimal	0	0	1	0	0	0	2	0
Slight	0	0	3	2	3	1	7	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus - Diminished medulla								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	1	1	0	1
Moderate	0	0	20	20	19	18	21	19
Thyroid - Follicular cell hypertrophy								
Minimal	0	0	7	0	6	0	5	8
Slight	0	0	3	0	6	0	11	3
Moderate	0	0	0	0	2	0	4	0
Tracheobronchial lymph node – Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	1	1	0	2	2	8
Slight	0	0	0	0	4	1	8	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period Study no. 0770059

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		15 (Group 2)	5 (Group 5)	50 (Group 3)	15 (Group 6)	150 (Group 4)	50 (Group 7)
Number of animals main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Mesenteric lymph node - Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	1	0	3	2	8	8
Slight	0	0	0	3	1	0	6	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
Postdose Evaluation:								
Number examined:	10	10	0	0	0	0	8 or 9	8 or 9
Hematology:								
White Blood Cell count ($10^3/\mu L$)	-	2.020	NA	NA	NA	NA	-	1.470*
Lymphocyte count ($10^3/\mu L$)	-	1.382	NA	NA	NA	NA	-	0.856**
Histopathology:								
Thymus - Diminished medulla								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2

- = no noteworthy findings, BLQ = below the lower limit of quantification, NA = not applicable, Dunnett's test: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, Dunn test: $ $p \leq 0.05$, $$ $p \leq 0.01$, $$$ $p \leq 0.001$

a = Two females in control group were found dead due to bleeding procedures or spontaneous oligodendroglioma. b = One male at 150 mg/kg/day were euthanized on day 187. One female at 15 mg/kg/day and one female at 50 mg/kg/day were found dead on days 95 and 144, respectively. For these animals, the cause of death could not be determined. c = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). d = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). e = Number of animals included animals in the recovery study which were found dead on day 144 or euthanized on day 187.

2.6.7.7D 反復投与毒性試験

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 4-week recovery period Study no.: [0670007]

Test article: BAF312

Species/strain: Monkey/Cynomolgus Duration of dosing: 4 weeks Location in CTD: 4.2.3.2-7

Initial age: Approximately 2 to 4 years at start of treatment Duration of postdose: 4 weeks GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] Method of administration: Oral gavage Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose

Special features: Dosing at the high dose was discontinued on day 6 due to adverse clinical signs and resumed at reduced dose level on day 8.

No Observed Adverse-Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200→150 (Group 4)	
Number of animals main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics								
Day 1								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	70500	78600	318000	266000	812000	718000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	4330	5030	19900	16500	47400	40300
Day 8								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	988000	628000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	54700	37100
Day 28								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	95600	106000	475000	364000	1110000	1190000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	5170	5860	27200	20500	59000	66500
Mean BAF312 tissue/plasma concentration ratio - Week 4								
Brain/plasma	NA	NA	7.2	7.1	6.6	7.6	6.9	7.2
Heart/plasma	NA	NA	4.0	2.9	3.2	2.6	2.4	2.2
Lung/plasma	NA	NA	3.5	1.8	3	2.7	3	2.2

2.6.7.7D 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 4-week recovery period							Study no. 0670007	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200→150 (Group 4)	
Number of animals main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Mean BAF312 tissue and plasma concentration ratio - Week 8								
Brain (ng/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NS	914.5
Plasma (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	182	113
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	2[a]	0
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	D	-	D	D
Clinical observations								
Ataxia	-	-	-	-	-	-	P	P
Decreased locomotor activity	-	-	-	-	-	-	P	P
Clonic convulsions	-	-	-	-	-	-	P	P
Ptosis	-	-	-	-	-	-	P	-
Tremors	-	-	-	-	-	-	P	-
Tarry feces	-	-	-	-	-	-	P	P
Emesis with feed/blood and/or compound	-	-	-	-	-	-	P	P
Soft feces	-	-	-	-	P	P	P	P
Diarrhea	-	-	-	-	P	P	P	P
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology - Week 4								
White blood cell count (10^3/µL)	9.3	10.3	3.2	4.3	3.3	2.6	2.9	4.4
Lymphocyte count (10^3/µL)	4.68	5.79	1.02	1.58	1.35	1.12	1.00	1.02

2.6.7.7D 反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 4-week recovery period							Study no. 0670007	
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		200→150 (Group 4)	
Number of animals main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Clinical biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%[b])								
Thymus	3.85 g	4.38 g	+30	-4	-1	+25	-47	-72
Gross pathology								
Number examined	3	3	3	3	3	3	4[c]	3
Thymus – Small	0	0	0	0	0	0	2	3
Histopathology								
Number examined	3	3	3	3	3	3	4[c]	3
Thymus – Lymphoid depletion								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	3
Postdose Evaluation								
Hematology								
Lymphocyte count ($10^3/\mu L$)	9.95	9.31	NA	NA	NA	NA	2.39	2.35

- = no noteworthy findings, D = decrease, P = present, NA = not applicable, NS = no sample

a = Two males at 200→150 mg/kg/day were euthanized on days 13 and 21, respectively, due to moribund condition. Clinical signs include pale, vocalization, cold to touch, clonic convulsions, salivation, tremors, dilated pupil, emesis with apparent blood, twitching, ataxia, ptosis, nystagmus, recumbency. Clinical chemistry changes in a male that was sacrificed on day 13 included mild to moderate increases in serum glucose, potassium, creatinine and phosphorus concentrations. b = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). c = Number of animals included animals in the recovery study which were euthanized on day 21.

2.6.7.7E 反復投与毒性試験

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period Study no.: [0770061]
Test article: BAF312
Species/strain: Monkey/Cynomolgus Duration of dosing: 26 weeks Location in CTD: 4.2.3.2-8
Initial age: 4 years at start of treatment Duration of postdose: 12 weeks GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted] Method of administration: Oral gavage Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: Immunotoxicity assessments
No Observed Adverse-Effect Level: 10 mg/kg (M) and not determined (F)

Daily dose (mg/kg/dose)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Toxicokinetics								
Day 1								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	83500	84100	254000	298000	401000	446000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	4690	4830	13900	15900	21600	23100
Day 148								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	132000	140000	580000	619000	843000	1040000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	6690	7890	31700	32600	41800	54800
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	1[a]	0	0	1[a]
Clinical observations								
Number examined	6	6	4	4	4	4	6	6
Liquid Feces	5	2	3	4	4	4	6	6
Fur staining, brown	2	0	2	2	4	0	4	5
Backbone, prominent	0	3	0	0	1	1	2	4
Abdominal distension	0	0	0	0	1	0	3	2
Thin	1	4	0	2	0	1	2	5

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period — Study no. 0770061

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Hypersensitivity	0	0	0	0	0	0	3	2
Tremors	0	0	0	0	1	0	3	3
Body weight (%[b]) - Week 26	3.53 kg	-	+16	-	+13	-	-11	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology - Week 26								
White Blood Cell count (10^3/µL)	13.743	10.608	3.020***	4.023***	4.393***	3.698***	3.013***	4.338***
Lymphocyte count (10^3/µL)	9.648	6.025	0.815***	0.875	1.427***	0.890	0.707***	0.618$$
Red Blood Cell count (10^6/µL)	5.880	5.550	5.328*	5.250	5.753	5.050	5.112**	4.954
Hemoglobin (g/dL)	14.63	13.97	13.48*	13.23	13.90	12.40	12.35***	12.26*
Hematocrit (%)	43.82	42.12	40.65	39.50	41.77	38.50	37.92**	38.10
Red Blood Cell Distribution Width (%)	-	12.53	-	13.23	-	13.10	-	14.38**
Reticulocytes (10^9/L)	-	32.58	-	59.23	-	69.85$	-	61.26$
Platelet count (10^3/µL)	-	446.8	-	502.0	-	503.0	-	695.6*
Clinical biochemistry - Week 26								
Total Protein (g/dL)	7.02	7.13	5.83*	6.48	6.37	6.15	5.75**	5.64$
Albumin (g/dL)	4.15	4.17	3.50	3.90	3.80	3.65	3.00$$	2.96
ALP (U/L)	583.7	321.7	600.5	332.0	475.7	296.3	236.2**	236.6
Organ weights (%[c])								
Liver	58.2130 g	45.4128 g	+31	+35	+28	+53**	+20	+51***
Spleen	4.0963 g	2.4673 g	-25	+63	-14	+23	-42	-26
Thymus	3.8428 g	1.7838 g	+7	+47	-14	+17	-59	-6

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period — Study no. 0770061

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Gross pathology								
Number examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Spleen – Small	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus - Small	0	0	0	0	0	0	0	1
Duodenum - Thickening	0	0	0	0	1	0	1	1
Ileum - Thickening	0	0	0	0	0	0	1	1
Jejunum - Thickening	0	0	0	0	0	0	1	1
Histopathology								
Number examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Thymus - Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	2	2	1
Slight	0	0	0	0	2	1	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen- Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	1	1	3	2	1	2
Slight	0	0	0	0	1	1	3	2
Mesenteric lymph node -Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Slight	0	0	0	0	0	1	1	0
Duodenum - Increased goblet cells								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Jejunum - Inflammation								

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period								Study no. 0770061
Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Jejunum - Increased goblet cells								
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	0
Ileum - Inflammation								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Ileum - Increased goblet cells								
Minimal	0	0	0	0	1	0	2	0
Cecum - Inflammation								
Minimal	0	0	0	1	1	1	2	3
Colon - Inflammation								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	1
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Rectum - Inflammation								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
Vascular changes	0	0	1	2	1	1	1	2
Peripheral blood immunophenotyping - Week 27								
Total Lymphocytes (cells/µL)	8132.0	5849.7	393.3	519.5	751.0	476.5	385.2	350.8
Total T Lymphocytes (CD45+/CD3+) (cells/µL)	6204.7	4477.8	194.4	226.8	181.6	26.5	81.4	173.7
Helper T lymphocytes (CD45+/CD3+/CD4+) (cells/µL)	3437.8	2674.2	53.0	23.8	23.5	6.0	7.4	17.0
Cytotoxic T lymphocytes (CD45+/CD3+/CD8+) (cells/µL)	2695.8	1719.9	161.8	208.7	165.1	20.8	74.7	158.8

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period — Study no. 0770061

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Total B lymphocytes (CD45+/CD20+) (cells/µL)	1535.7	1038.5	103.0	169.7	174.1	213.0	180.8	88.4
Natural killer lymphocytes (CD45+/CD3-/CD16+) (cells/µL)	279.3	257.8	88.2	108.0	386.8	229.6	117.1	82.6
Percent Differences in mean anti-KLH IgM antibody levels[d]								
Day 135	NA	NA	-	-76	-	-89	-	-87
Day 140	NA	NA	-67	-84	-38	-88	-57	-92
Day 162	NA	NA	-67	-73	-67	-72	-46	-71
Day 166	NA	NA	-69	-57	-69	-70	-46	-80
Day 170	NA	NA	-86	-57	-80	-77	-70	-82
Day 175	NA	NA	-84	-70	-73	-77	-61	-82
Percent Differences in mean anti-KLH IgG antibody levels[d]								
Day 135	NA	NA	-	-77	-	-92	-	-84
Day 140	NA	NA	-75	-88	-81	-95	-68	-94
Day 148	NA	NA	-73	-92	-80	-94	-74	-94
Day 162	NA	NA	-86	-85	-88	-86	-89	-92
Day 166	NA	NA	-75	-88	-86	-78	-74	-95
Day 170	NA	NA	-93	-91	-93	-88	-90	-98
Day 175	NA	NA	-93	-94	-92	-92	-93	-98
Day 183	NA	NA	-91	-89	-86	-80	-84	-97
Natural killer cell activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose Evaluation								
Number examined	2	2	0	0	0	0	2	2

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period — Study no. 0770061

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Body weight (%[b]) - Week 38	3.80 kg	-	NA	NA	NA	NA	-17	-
Hematology - Week 38								
Lymphocyte count (10^3/µL)	6.015	7.360	NA	NA	NA	NA	3.445	3.780
Red Blood Cell count (10^6/µL)	5.670	5.265	NA	NA	NA	NA	4.775	4.300
Hemoglobin (g/dL)	14.35	12.85	NA	NA	NA	NA	10.95	11.20
Hematocrit (%)	43.70	39.70	NA	NA	NA	NA	34.95	34.40
Reticulocytes (10^9/L)	61.65	39.30	NA	NA	NA	NA	115.30	73.10
Clinical biochemistry - Week 38								
Total Protein (g/dL)	7.30	6.60	NA	NA	NA	NA	6.00	6.35
Albumin (g/dL)	4.45	3.90	NA	NA	NA	NA	3.40	3.60
Histopathology								
Number examined	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
Spleen - Lymphoid atrophy								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Jejunum - Increased goblet cells								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Ileum - Increased goblet cells								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
Peripheral blood immunophenotyping - Week 39								
Total Lymphocytes (cells/µL)	6744.0	6751.5	NA	NA	NA	NA	2528.5	2288.0
Total T Lymphocytes (CD45+/CD3+) (cells/µL)	5084.7	4689.8	NA	NA	NA	NA	1402.9	1264.0
Helper T lymphocytes (CD45+/CD3+/CD4+) (cells/µL)	3305.3	2832.9	NA	NA	NA	NA	670.8	525.3

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（続き）

Report title: A 26-Week oral gavage toxicity and immunotoxicity assessment study in monkeys with a 12-week recovery period — Study no. 0770061

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		50 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Cytotoxic T lymphocytes (CD45+/CD3+/CD8+) (cells/µL)	1830.9	1693.0	NA	NA	NA	NA	725.8	706.5
Total B lymphocytes (CD45+/CD20+) (cells/µL)	1162.1	1520.8	NA	NA	NA	NA	779.0	540.3
Natural killer lymphocytes (CD45+/CD3-/CD16+) (cells/µL)	459.1	460.1	NA	NA	NA	NA	328.4	469.5
Percent Differences in mean anti-KLH IgM antibody levels[d]								
Day 254	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-73
Day 259	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-56
Percent Differences in mean anti-KLH IgG antibody levels[d]								
Day 254	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-85	-85
Day 259	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-56	-77
Day 267	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-61	-78

- = no noteworthy findings, NA = not applicable, Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001, Dunn test: $ p≤0.05, $$ p≤0.01
a = One male at 50 mg/kg/day and one female at 100 mg/kg/day were sacrificed on days 104 and 173, respectively. The cause of moribundity for animal was undetermined. b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). c = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
d = Mean percent differences from controls

2.6.7.7F 反復投与毒性試験

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period

Study no.: [0770339]

Test article: BAF312

Species/strain: Monkey/Cynomolgus

Duration of dosing: 52 weeks (once daily)

Location in CTD: 4.2.3.2-9

Initial age: 2.1 - 3.7 years at start of treatment

Duration of postdose: 8 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose

Special features: Immunotoxicity assessments

No Observed Adverse-Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/dose)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Toxicokinetics								
Day 1								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	67400	51900	198000	157000	339000	293000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	4040	3200	11000	9380	19100	16800
Day 357								
AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	95400	124000	331000	215000	884000	565000
Cmax (ng/mL)	NA	NA	5440	6620	18000	12100	46000	31000
Mean BAF312 tissue/plasma concentration ratio - Day 366								
Brain/plasma	NA	NA	9.55	9.50	8.58	9.43	11.1	12.4
Lung/plasma	NA	NA	2.43	1.93	1.73	1.83	1.75	3.60
Mean BAF312 tissue/plasma concentration ratio - Day 421								
Brain/plasma	NA	NA	NA	NA	NA	NA	93.1	116
Lung/plasma	NA	NA	NA	NA	NA	NA	20.8	63.6

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	3[a]	0
Clinical observations								
Watery feces	-	-	-	-	-	-	↑	↑
Reduced food consumption	-	-	-	-	-	-	P	P
Distended abdomen	-	-	-	-	-	-	P	-
Emesis	P	-	-	-	P	-	P	P
Tremors	-	-	-	-	-	-	P	P
Convulsions	-	-	-	-	-	-	P	-
Body Weight (%[b]) - Week 52	4.12 kg	-	-8	-	±0	-	-30	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology - Week 52								
White Blood Cell count ($10^3/\mu L$)	14.43	17.17	4.93*	7.13	3.60*	3.20*	5.15*	4.67*
Lymphocyte count ($10^3/\mu L$)	11.145	9.714	1.353*	1.422	1.154*	0.822*	1.098*	1.142*
Basophils count ($10^3/\mu L$)	0.0733	0.0885	0.014*	0.0183	0.013*	0.088*	0.0198*	0.0168*
Unclassified cell count ($10^3/\mu L$)	0.1678	0.1488	0.119	0.1343	0.0533	0.0398*	0.1035	0.044*
Red Cell Distribution Width (%)	13.00	13.15	13.45	13.98	13.70	13.83	14.30*	14.43*
Clinical biochemistry – Week 52								
Globulin (g/dL)	3.75	4.02	3.03*	3.53*	3.35	3.08*	3.08*	3.33*
Albumin (g/dL)	3.20	2.85	2.55*	2.35*	2.90	2.50	2.30*	2.42*
Total Protein (g/dL)	6.95	6.87	5.58*	5.88*	6.25	5.58*	5.38*	5.75*
ALP (U/L)	551.3	-	370.3	-	321.8*	-	268.0*	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Peripheral blood mononuclear cell populations – Day 365								
Total B lymphocytes (CD20+) (/mL)	2166	1425	145*	139*	135*	104*	116*	284*
Total T Lymphocytes (CD3+) (/mL)	7788	7292	338*	542	224*	163*	594*	240*
Helper T Lymphocytes (CD3+/CD4+) (/mL)	3828	3946	30*	46*	19*	7*	126*	31*
Cytotoxic/suppressor T Lymphocytes (CD3+/CD8+) (/mL)	3980	3355	314*	504*	210*	155*	572*	221*
Organ weights (%[c])								
Spleen	5.2128 g	3.6103 g	-53*	-29*	-45*	-48*	-50	-35*
Thymus	4.2538 g	3.5398 g	-5	-32	-29	-20	-47	-63
Gross pathology								
Number examined	4	4	4	4	4	4	2	4
Thymus - Decreased size	1	0	0	1	0	0	1	4
Skin - Hyperpigmentation	0	0	0	0	1	0	1	0
Skin - Hyperkeratosis	0	0	0	0	1	0	1	0
Skin - Scrotal abscess	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology								
Number examined	4	4	4	4	4	4	2	4
Thymus – Hypocellular cortex								
Minimal	2	1	2	1	2	2	1	3
Mild	0	0	2	3	1	2	1	1
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Thymus – Hypercellular medulla								
Minimal	0	0	0	1	0	1	1	1

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Mild	0	0	2	2	3	3	1	3
Moderate	0	0	2	1	1	0	0	0
Spleen - Reduced germinal center size								
Minimal	1	1	0	0	1	1	0	1
Mild	0	0	1	1	3	1	0	1
Moderate	0	1	2	1	0	1	1	2
Marked	0	0	0	1	0	0	1	0
Mandibular lymph node – Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	2	1	1	0	1	2	1	0
Mild	0	0	1	2	1	1	0	2
Mandibular lymph node – Reduced germinal center size								
Minimal	0	1	3	2	1	1	2	2
Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0
Mandibular lymph node –Hypocellular paracortex								
Minimal	2	0	2	2	2	2	1	2
Mild	0	0	1	1	1	1	1	1
Duodenum – Reduced germinal center size								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mild	1	2	2	1	1	1	0	4
Moderate	1	0	1	0	0	0	1	0
Colon - Reduced germinal center size								

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Minimal	0	1	0	0	0	1	0	0
Mild	0	2	0	1	2	1	0	1
Moderate	1	0	1	1	0	0	0	0
Colon - Lymphoplasmacytic infiltrate								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
Colon - Mononuclear cell infiltrate, serosa								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Colon - Mononuclear cell infiltrate, serosa, adipose tissue								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Colon – Hyperplasia, mucosa								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Ileum - Reduced germinal center size								
Mild	1	0	1	2	2	1	0	2
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	1
Jejunum - Reduced germinal center size								
Mild	0	1	0	0	2	0	1	1
Cecum - Reduced germinal center size								
Minimal	0	0	1	0	1	0	1	0
Mild	0	1	1	0	0	1	0	1
Moderate	0	0	0	0	1	2	0	1
Cecum – Lymphoplasmacytic infiltrate								
Minimal	0	0	1	2	1	0	0	2

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Cecum – Lymphocyte infiltrate, submucosa								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Cecum - Mononuclear cell infiltrate, serosa muscularis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Cecum - Crypt necrosis/crypt infiltrates								
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
Rectum - Reduced germinal center size								
Minimal	1	1	2	0	0	1	0	0
Mild	2	0	1	2	3	1	2	2
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Bone Marrow - Lymphoid follicle, sternum	0	0	1	0	0	1	0	0
Bone Marrow -Myeloid hypercellular, sternum								
Minimal	0	1	1	1	2	1	1	2
Mild	0	0	1	1	0	3	0	0
Skeletal Muscle - Myocyte degeneration/regeneration, femoris biceps, diffuse								
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Skeletal Muscle - Myocyte degeneration/regeneration, femoris biceps, multifocal								
Minimal	0	2	0	2	1	1	1	2
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Skeletal Muscle - Myofiber degeneration, femoris biceps, focal								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	1
Skeletal Muscle - Myofiber degeneration, femoris biceps, multifocal								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin – Reduced size, Hair Follicles (Follicular atrophy)								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	2	0	0	0
Moderate	0	0	0	1	0	1	1	0
Scrotum - Carcinoma	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Postdose evaluation								
Number of Animals Evaluated	2	2	0	0	0	0	1	2
Clinical observations								
Watery Feces	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Body Weight (%[b]) – Week 60	4.60 kg	-	NA	NA	NA	NA	-33	-
Hematology								

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main Recovery	M:4 M:2	F:4 F:2	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:0	F:4 F:0	M:4 M:2	F:4 F:2
White Blood Cell count (10^3/µL)	12.05	13.45	NA	NA	NA	NA	7.40	5.35
Lymphocyte count (10^3/µL)	6.87	8.465	NA	NA	NA	NA	1.813	1.896
Basophils count (10^3/µL)	0.051	0.0475	NA	NA	NA	NA	0.015	0.075
Unclassified Cell count (10^3/µL)	0.087	0.0935	NA	NA	NA	NA	0.074	0.0275
Red Cell Distribution Width (%)	-	12.70	NA	NA	NA	NA	-	13.70
Clinical biochemistry								
Globulin (g/dL)	3.65	3.65	NA	NA	NA	NA	3.00	3.30
Albumin (g/dL)	-	3.75	NA	NA	NA	NA	-	2.90
Peripheral blood immunophenotyping – Day 420								
Total B lymphocytes (CD20+) (/mL)	1683	1242	NA	NA	NA	NA	272	798
Total T Lymphocytes (CD3+) (/mL)	4105	6484	NA	NA	NA	NA	1016	544
Helper T Lymphocytes (CD3+/CD4+) (/mL)	1980	3239	NA	NA	NA	NA	139	174
Cytotoxic/suppressor T Lymphocytes (CD3+/CD8+) (/mL)	2192	3222	NA	NA	NA	NA	941	405
Histopathology								
Number examined	2	2	0	0	0	0	1	2
Thymus – Hypercellular medulla								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Mandibular lymph node –Hypocellular paracortex								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（続き）

Report title: BAF312: A 52-week toxicity study of BAF312 administered orally via nasal gavage to cynomolgus monkeys, with an 8-week recovery period Study no. 0770339

Daily dose (mg/kg):	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)		30 (Group 3)		100 (Group 4)	
Number of animals main	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Mesenteric lymph node –Hypocellular paracortex								
Minimal	1	0	NA	NA	NA	NA	0	2
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Tracheobronchial lymph node – Hypocellular paracortex								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
Skin – Reduced size, Hair Follicles (Follicular atrophy)								
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0

- = no noteworthy findings, NA = not applicable, ↑ = increase, P = present, Dunnett's or Dunn test: * $p \leq 0.05$.

a = One male at 100 mg/kg/day died on day 99, and two males at 100 mg/kg/day were euthanized on days 208 and 396 due to their deteriorating physical condition. b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). c = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.8A *In vitro* 遺伝毒性試験

Report title: Mutagenicity test using Salmonella typhimurium
Study no.: [0612011]
Test for induction of: Reverse gene mutations
Location in CTD: 4.2.3.3.1-1
No. of independent assays: 5
GLP compliance: Yes
Strains: *S.typhimurium* TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102
Test article: BAF312
Metabolizing system: Aroclor-induced rat liver S9, 50 µl/plate
No. of replicate cultures: 3
Vehicles: For Test article: DMSO For Positive controls: DMSO
Date of treatment: [redacted]
Treatment: Plate incorporation or preincubation (20 min at 37°C) followed by 3 days incubation
Cytotoxic effects: In experiments 1 and 3, no bacteriotoxic effect of BAF312 was observed. In experiment 2, bacteriotoxicity was seen at ≥ 312.5 µg/plate in TA100 (-S9) and TA102 (-S9) and at ≥ 2500 µg/plate in TA98 (-S9). In experiment 4, TA100 (-S9) and TA102 (-S9) showed signs of bacteriotoxicity at ≥ 39.063 µg/plate and ≥ 156.25 µg/plate, respectively, In experiment 5, bacteriotoxicity was seen at ≥ 37.5 µg/plate in TA100 (-S9).
Genotoxic effects: None

Results (numbers represent mean colony numbers per dose group):

Experiment 1 (plate incorporation):

Strain:		TA1535		TA97a		TA98		TA100		TA102	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (µg/plate):	0	21	20	170	181	37	52	135	131	341	399*
	8	20	npb	158	182	39	52	137	133	328	412
	40	25	npb	168	194	42	53	122	152	318	446
	200	24	npb	157	173	35	57	122	145	352	410
	1000	23	22	175	168	47	54	125	131	377	419
	5000	22	16	181	161	43	57	138	124	409	432

npb: no bacteria plated, *: value above historical negative control ranges
Positive controls: Without S9: Sodium azide (3 µg/plate), 9-Aminoacridine (100 µg/plate), 2-Nitrofluorene (2 µg/plate), Mitomycin C (0.5 µg/plate). With S9: 2-Aminoanthracene (3 or 10 µg/plate), Benzo(a)pyrene (3 µg/plate).
Effects of positive controls: Genotoxic

2.6.7.8A *In vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: Mutagenicity test using Salmonella typhimurium Study no. 0612011

Experiment 2 (preincubation):

Strain:		TA1535		TA97a		TA98		TA100		TA102	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (µg/plate):	0	15	17	182	198	31	60	169	144	380	431
	312.5	14	17	201	195	38	60	118t	152	t	439
	625	11	17	211	204	37	61	108t	147	326t	436
	1250	13	12	220	192	26	70	140t	136	393t	443
	2500	14	13	203	194	29t	69	127t	150	409t	388
	5000	16p	15p	202p	195p	27pt	69p	160pt	155p	429pt	449p

p: precipitation, t: bacteriotoxicity
Positive controls: Without S9: Sodium azide (3 µg/plate), 9-Aminoacridine (100 µg/plate), 2-Nitrofluorene (2 µg/plate), Mitomycin C (0.5 µg/plate). With S9: 2-Aminoanthracene (3 or 10 µg/plate), Benzo(a)pyrene (3 µg/plate)
Effects of positive controls: Genotoxic

Experiment 3 (plate incorporation)

Strain:		TA1535
S9:		+
Dose (µg/plate):	0	17
	8	21
	40	17
	200	17
	1000	17
	5000	14

Positive controls: With S9: 2-Aminoanthracene (3 µg/plate).
Effects of positive controls: Genotoxic

2.6.7.8A *In vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: Mutagenicity test using Salmonella typhimurium Study no. 0612011

Experiment 4 (preincubation)

Strain:		TA100	TA102	TA102
S9:		-	-	+
Dose (µg/plate):	0	152	326	347
	19.531	142	342	nd
	39.063	87t	335	nd
	78.125	89t	345	nd
	156.25	81t	285t	nd
	312.5	105t	335t	432
	625	nd	nd	423
	1250	nd	nd	394
	2500	nd	nd	424
	5000	nd	nd	448p

nd: not done, p: precipitation, t: bacteriotoxicity
Positive control: Without S9: Sodium azide (3 µg/plate), Mitomycin C (0.5 µg/plate). With S9: 2-Aminoanthracene (10 µg/plate)
Effects of positive control: Genotoxic

2.6.7.8A *In vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: Mutagenicity test using Salmonella typhimurium Study no. 0612011

Experiment 5 (preincubation)

Strain:		TA100
S9:		-
Dose (µg/plate):	0	145
	2.344	153
	4.688	139
	9.375	145
	18.75	145
	37.5	132t
	75	137t
	150	122t
	300	149t

t: bacteriotoxicity
Positive control: Without S9: Sodium azide (3 µg/plate)
Effects of positive control: Genotoxic

2.6.7.8B *In vitro* 遺伝毒性試験

Report title: Micronucleus test *in vitro* using TK6 cells
Study no.: [0414047]
Test for induction of: Micronuclei
Location in CTD: 4.2.3.3.1-2
No. of independent assays:2
GLP Compliance: No
Cell type: TK6 cells
Test article: BAF312 hydrochloride
Metabolizing system: Aroclor-induced rat liver S9, 2%
No. of replicate cultures: 2
Vehicles: For test article: DMSO For positive controls: -
No. of cells analyzed/culture: 2000
Treatment: Treatment for 20 hours followed by a 28 hours recovery period without S9; treatment for 3 hours followed by a 21 hours recovery period with S9
Cytotoxic effects: Not applicable
Genotoxic effects: None

Metabolic Activation	Test article	Concentration (µg/mL)	Cell growth (%)[a]	Cells with MN (%)
With Activation 3h +S9	DMSO	0	100.0	1.10
	BAF312	37.5	97.4	1.00
		75.0	92.1	1.05
		150.0*	71.1	1.00
		300.0*	52.6	1.25
	Cyclophosphamid	30 µM	65.8	3.25
Without Activation 20h -S9	DMSO	0	100.0	0.95
	BAF312	18.8	100.0	0.95
		37.5	100.0	0.60
		75.0	78.0	0.85
		150.0*	36.6	1.35
	Ethyl methanesulphonate	200 µM	46.3	5.80

MN: Micronuclei, *: precipitation, a = Relative cell count in comparison with the concurrent negative control for measuring cytotoxicity

2.6.7.8C *In vitro* 遺伝毒性試験

Report title: Chromosome aberration test with cultured human peripheral blood lymphocytes

Study no.: [0612109]

Test for induction of: Chromosome aberration

Location in CTD: 4.2.3.3.1-3

No. of independent assays: 2

GLP Compliance: Yes

Cell type: human peripheral blood lymphocytes

Test article: BAF312

Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9, 10%

No. of replicate cultures: 2

Vehicles: For test article: DMSO

For positive controls: PBS (for ethyl methanesulphonate); 0.9% NaCl solution (for cyclophosphamid)

No. of cells analyzed/culture: 100

Treatment: Continuous treatment for 20 hours without S9; pulse treatment for 3 hours followed by a 17 hours recovery period with and without S9

Date of treatment: [redacted]

Cytotoxic effects: BAF312 produced a concentration dependent decrease in the mitotic index.

Genotoxic effects: None

Experiment A

Metabolic Activation	Test article	Concentration (µg/mL)	Mitotic Index (%)	Aberrant cells (%)	Cells with exchanges (%)	Polyploid cells (%)
Without Activation	DMSO	0.0	1.7*	0.0	0.0	0.0
20h -S9		32.5	105.9**	0.5	0.0	1.5
		54.2	47.1**	1.8	0.0	1.2
		90.4	35.3**	2.2	0.0	2.1
	Ethyl methanesulphonate	5.0 mM	88.2**	20.0	0.0	0.0
With Activation	DMSO	0.0	5.8*	0.5	0.0	0.5
3h +S9		26.5	67.2**	1.5	0.0	2.0
		43.1	84.5**	3.0	0.0	0.5
		70.1	55.2**	2.5	0.0	0.0
	Cyclophosphamid	55.0 µM	20.7**	16.0	0.0	0.0

Aberrant cells (%): exclusive gaps

* Mitotic indices as % of mitotic cells within the total population of mitotic and non-mitotic cells.

** Mitotic indices as % of the controls.

2.6.7.8C *In vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: Chromosome aberration test with cultured human peripheral blood lymphocytes Study no. 0612109

Experiment B

Metabolic Activation	Test article	Concentration (µg/mL)	Mitotic Index (%)	Aberrant cells (%)	Cells with exchanges (%)	Polyploid cells (%)
Without Activation 3h -S9	DMSO	0.0	3.2*	1.0	0.0	1.0
	BAF312	49.3	93.8**	1.0	0.0	1.5
		66.6	40.6**	0.5	0.0	0.5
		90.0	34.4**	0.0	0.0	0.6
	Ethyl methanesulphonate	9.7 mM	31.2**	22.0	4.0	0.0
With Activation 3h +S9	DMSO	0.0	5.0*	0.5	0.0	1.0
	BAF312	27.0	92.0**	0.0	0.0	0.5
		49.3	62.0**	0.5	0.0	0.5
		66.6	48.0**	1.5	0.0	0.5
	Cyclophosphamid	55.0 µM	66.0**	12.5	0.0	0.0

* Mitotic indices as % of mitotic cells within the total population of mitotic and non-mitotic cells.

** Mitotic indices as % of the controls.

2.6.7.9A *In vivo* 遺伝毒性試験

Report title: Induction of micronuclei in the bone marrow of treated mice
Study no.: [1470042]
Test for induction of: Micronuclei
Location in CTD: 4.2.3.3.2-1
Treatment schedule: Two administrations at 0 and 24 hours
GLP compliance: Yes
Species/strain: Mouse/CD1(ICR)
Test article: BAF312
Age: Approx. 6-7 weeks at start of treatment
Sampling time: 24 hours after the last dose administration
Cells evaluated: Bone marrow
Method of administration: Oral gavage
No. of cells analyzed per animal: 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)
Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: None
Date of experimental work initiation: [redacted]

Toxic/cytotoxic effects: At 1000 mg/kg/day, severe clinical signs of toxicity were noted and two animals were killed in extremis. At 500 mg/kg/day, piloerection and head tilt was noted. 500 mg/kg was considered to be the maximum tolerated dose.

Genotoxic Effects: None

Evidence of exposure: Not evaluated in this study. Based on a 2-week oral dose-range finding study in mice (study no. 0770648) at 300 mg/kg/day, Cmax was 61200 ng/mL in males and 40500 ng/mL in females. AUC was 965000 ng.h/mL in males and 647000 ng.h/mL in females.

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of animals	Mean % MN-PCEs (±SD)	Mean % PCEs
Experiment 1				
Vehicle	0	6M	0.09 ± 0.07	45.40
BAF312	250	6M	0.13 ± 0.11	47.10
	500	6M	0.07 ± 0.06	40.07
Cyclophosphamide	40	3M	0.95 ± 0.98***	58.33
Experiment 2				
Vehicle	0	6M	0.07 ± 0.03	35.87
BAF312	125	6M	0.06 ± 0.06	39.50
Cyclophosphamide	40	3M	1.05 ± 0.10***	41.13

M = male, MN-PCE: micronucleated polychromatic erythrocytes, PCE: polychromatic erythrocytes, Chi-square test: *** $p<0.001$

2.6.7.9B *In vivo* 遺伝毒性試験

Report title: Rat bone marrow micronucleus test after oral administration
Study no.: [0770326]
Test for induction of: Micronuclei
Location in CTD: 4.2.3.3.2-2
Treatment schedule: Two administrations at 0 and 24 hours
GLP compliance: Yes
Species/strain: Rat/Wistar Hannover
Test article: BAF312
Age: Approx. 8 weeks at start of treatment
Sampling time: 24 hours after the last dose administration
Cells evaluated: Bone marrow
Method of administration: Oral gavage
No. of cells analyzed per animal: 4000 polychromatic erythrocytes (PCE)
Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: None
Date of experimental work initiation: [redacted]
Toxic/cytotoxic effects: Clinical signs (reduced motor activity, piloerection, hunched posture, tremor and dyspnea) observed at 1250 mg/kg/day in the dose finding study; 1250 mg/kg was considered to be the maximum tolerated dose.
Genotoxic Effects: None
Evidence of exposure: Not evaluated

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of animals	Mean % MN-PCEs (±SD)	Mean % PCEs (±SD)
Negative control (vehicle)	0	7M	0.11 ± 0.08	31.2 ± 5.3
BAF312	125	7M	0.13 ± 0.05	27.6 ± 5.9
	395	7M	0.14 ± 0.03	25.1 ± 3.5
	1250	7M	0.11 ± 0.06	27.0 ± 5.3
Cyclophosphamide	10	3M	3.39 ± 2.04	32.1 ± 2.2

M = male, MN-PCE: micronucleated polychromatic erythrocytes, PCE: polychromatic erythrocytes

2.6.7.10A　がん原性試験

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice　Study no.: [0870139]

Species/strain: Mouse/CD1(ICR)　Duration of dosing: 104 weeks　Location in CTD: 4.2.3.4.1-1

Initial age: At least 6 weeks at start of treatment　Method of administration: Oral gavage　GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]　Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose　Treatment of controls: 0.5% Hydroxypropylcellulose

Special features: Eight animals/sex/group served as toxicokinetic animals. Dosing was discontinued on day 633 for mid and high dose males, on day 643 for mid and high dose females and on day 678 for low dose and control females due to significantly lowered survival rate.

Basis for high-dose selection: Based on a 2-week oral dose-range finding study in mice and a 13-week oral gavage dose range-finding toxicity study in the mouse (study no. 0770648 and 0770649, respectively).

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Toxicokinetics								
BAF312 concentrations (ng/mL)								
Week 5								
3 hours postdose	NA	NA	1260	959	5620	4020	17000	8850
6 hours postdose	NA	NA	1290	1170	5800	3130	15700	9070
Week 26								
3 hours postdose	NA	NA	1500	1470	4370	4630	12600	9040
6 hours postdose	NA	NA	1440	994	6100	3900	14800	8350
Noteworthy findings:								
Number of animals:								
Died or sacrificed moribund	44	40	52	54^{++}	55^{+++}	54^{+++}	56^{+++}	55^{+++}
Terminal sacrifice	26	30^{a}	18	16^{a}	15^{b}	16^{c}	15^{b}	15^{c}
Survival (%) - Week 96	53	54	41	30	21	26	21	21
- Week 100	46	46	31	24	NA	23	NA	NA
- Week 104	37	43^{a}	26	23^{a}	NA	NA	NA	NA

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Clinical observations								
Abdominal distension	-	19	-	21	-	21	-	24
Abdominal firm inter structure	-	35	-	32	-	33	-	47
Breathing, deep	-	18	-	21	-	24	-	27
Breathing, shallow	-	13	-	11	-	16	-	25
Skin, black	0	3	7	0	6	4	4	7
Skin, blue	29	27	42	40	48	45	47	51
Skin, purple	14	15	31	25	21	24	35	21
Swollen, firm	11	7	25	21	20	10	27	21
Body weight (%[d])								
- Day 644	52.79 g	45.27 g	-8**	-11**	-15***	-13**	-12***	-10*
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of animals with neoplastic lesions								
Adipose tissue								
Number of Animals Evaluated	14	15	24	17	28	26	25	22
Lymphoma, malignant	2	7	5	12	8	10	4	8
Hemangioma	1	1	7	2	8	3	6	0
Hemangiosarcoma	0	0	10	3	11	6	9	8
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Lipoma	1	0	0	0	0	1	0	0
Fibrosarcoma	0	1	0	0	0	1	0	0
Artery, aorta								
Number of Animals Evaluated	70	69	68	68	70	69	69	70

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymphoma, malignant	9	10	8	17	8	18	8	20
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Body cavity, abdominal								
Number of Animals Evaluated	3	6	5	5	2	4	4	7
Lymphoma, malignant	1	3	2	4	0	2	2	5
Hemangiosarcoma	0	0	3	1	2	1	2	2
Histiocytic sarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Body cavity, nasal								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	5	8	11	15	12	13	9	15
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Meningioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Body cavity, pelvic								
Number of Animals Evaluated	2	1	3	0	6	0	3	1
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	1
Bronchioloalveolar carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Body cavity, thoracic								
Number of Animals Evaluated	4	5	1	3	1	3	1	3
Lymphoma, malignant	0	1	0	1	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	1	0	1	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Bone								
Number of Animals Evaluated	1	1	1	0	1	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone, calvarium								
Number of Animals Evaluated	0	0	1	0	0	0	0	0
Osteoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Bone, femur								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	69	70	70
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	1	4	2	10	5	7	3	7
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone, sternum								
Number of Animals Evaluated	70	70	69	69	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	3	7	8	15	9	14	8	8
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	1	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	1	1	0
Unclassifiable tumor, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Bone, vertebra, thoracic								
Number of Animals Evaluated:	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Bone marrow								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	1	0	0	1	0
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone marrow, femur								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	69	70	70
Lymphoma, malignant	8	8	12	27	11	24	11	24
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	2	1	8	5	9	4	4	4
Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	0	1	0	0
Hemangioma	0	0	2	1	6[#]	0	1	1
Bone marrow, sternum								
Number of Animals Evaluated	70	70	69	69	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	8	8	11	26	13	26	13	23
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	1	0	1	1	3	1	1	1
Histiocytic sarcoma	1	1	0	0	0	1	2	0
Brain								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	69	70	70	70
Meningioma, malignant; fibroblastic	2	1	0	0	0	0	0	1
Lymphoma, malignant	4	7	4	7	3	8	5	11
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	0	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Cervix								
Number of Animals Evaluated	NA	69	NA	68	NA	68	NA	64

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymphoma, malignant	NA	8	NA	27	NA	20	NA	21
Leukemia, granulocytic	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Epididymis								
Number of Animals Evaluated	68	NA	69	NA	70	NA	70	NA
Lymphoma, malignant	4	NA	13	NA	12	NA	8	NA
Hemangiosarcoma	1	NA	1	NA	2	NA	1	NA
Leukemia, granulocytic	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Sarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Leiomyosarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Esophagus								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	70	69	70
Lymphoma, malignant	1	5	1	1	0	1	4	3
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Eye								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	3	6	4	10	6	13	4	7
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Unclassifiable tumor, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Gallbladder								
Number of Animals Evaluated	68	67	69	69	64	68	64	67
Lymphoma, malignant	6	8	4	15	6	7	4	10
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	2	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Hemangioma	0	0	0	0	0	0	0	1
Gland, adrenal								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	69	70
Pheochromocytoma, benign	2	1	0	0	1	0	0	0
Cortical adenoma	5	0	5	0	1	0	0	0
Cortical adenoma ; subcapsular cell	6	0	2	4[#]	1	0	1	1
Lymphoma, malignant	8	9	10	19	8	18	8	22
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	1	0
Gland, clitoral								
Number of Animals Evaluated	NA	70	NA	64	NA	66	NA	62
Leukemia, granulocytic	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Lymphoma, malignant	NA	6	NA	8	NA	11	NA	11
Gland, harderian								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Adenoma	6	3	4	5	7	3	2	2
Adenocarcinoma	0	2	0	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	4	5	4	12	6	14	4	11
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	1	0	0	0	0
Gland, lacrimal								
Number of Animals Evaluated	69	68	70	68	70	67	69	68
Lymphoma, malignant	6	7	9	17	16	15	12	26

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Gland, mammary								
Number of Animals Evaluated	15	69	9	67	13	69	13	68
Adenocarcinoma	0	1	0	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	0	7	0	8	1	4	0	7
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Gland, parathyroid								
Number of Animals Evaluated	64	62	60	64	64	59	58	61
Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoma, malignant	2	0	0	0	0	1	0	3
Gland, pituitary								
Number of Animals Evaluated	70	69	67	70	68	69	68	67
Adenoma, pars distalis	0	5	0	1	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	1	2	1	4	3	3	2	5
Meningioma, malignant	2	0	0	0	0	0	0	1
Meningioma, malignant, fibroblastic	0	1	0	0	0	0	0	0
Gland, preputial								
Number of Animals Evaluated	70	NA	69	NA	68	NA	69	NA
Lymphoma, malignant	1	NA	4	NA	6	NA	6	NA
Fibrosarcoma	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Hemangiosarcoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hemangioma	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Leukemia, granulocytic	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Gland, prostate								

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Number of Animals Evaluated	68	NA	70	NA	70	NA	70	NA
Leukemia, granulocytic	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Lymphoma, malignant	10	NA	14	NA	13	NA	12	NA
Hemangiosarcoma	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Granular cell tumor, benign	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Gland, salivary, mandibular								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	69	70	68	70	70
Lymphoma, malignant	7	13	5	11	8	12	10	15
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, salivary, parotid								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	6	11	7	17	4	12	8	12
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Gland, salivary, sublingual								
Number of Animals Evaluated	64	68	66	66	64	66	65	68
Lymphoma, malignant	2	8	4	9	3	4	4	9
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, seminal vesicle								
Number of Animals Evaluated	69	NA	70	NA	70	NA	70	NA
Histiocytic sarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Adenoma	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Leukemia, granulocytic	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Lymphoma, malignant	7	NA	9	NA	12	NA	10	NA

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Gland, thyroid								
Number of Animals Evaluated	70	70	68	70	70	69	69	70
Follicular cell adenoma	0	1	1	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	4	3	2	4	3	7	5	3
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	1	0
Gut-associated lymphoid tissue								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	7	6	9	13	9	12	5	18
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Head								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0
Heart								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	70	70	70
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	6##	10##	9##	11##	7#	10##
Lymphoma, malignant	4	10	11	18	7	19	10	11
Bronchioloalveolar carcinoma	2	1	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Unclassifiable tumor, malignant	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemolymphoreticular tissue								
Number of Animals Evaluated:	70	70	70	70	70	70	70	70

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Histiocytic sarcoma	2	1	0	0	0	1	2	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Lymphoma, malignant	16	26	25[#]	42[##]	21[##]	38[##]	20[#]	40[##]
Joint								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	0	2	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Kidney								
Number of Animals Evaluated:	70	70	70	70	70	70	70	70
Histiocytic sarcoma	1	1	0	0	0	1	2	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	11	16	15	23	13	22	14	28
Tubular cell adenoma	1	0	1	0	1	0	4	0
Tubular cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangioma	0	1	0	1	1	0	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Larynx								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	69	70	70	70
Lymphoma, malignant	4	5	8	17	5	19	7	16
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Large intestine, cecum								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	3	5	5	10	8	14	7	22
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Large intestine, colon								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	1	1	2
Lymphoma, malignant	3	5	3	8	2	9	1	17
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Large intestine, rectum								
Number of Animals Evaluated	70	68	70	69	70	68	69	68
Lymphoma, malignant	1	5	0	9	3	13	1	10
Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	1
Adenocarcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Liver								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Hepatocellular carcinoma	4	0	2	0	2	0	1	0
Hepatocellular adenoma	16	3	7	1	1	0	7	1
Lymphoma, malignant	10	12	12	34	14	27	13	28
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hepatoblastoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Sarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	2	0	23##	11##	22##	10##	24##	11##
Histiocytic sarcoma	2	1	0	0	0	1	2	0
Fibrosarcoma	0	2	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Endometrial stromal sarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Ito cell tumor, benign	0	0	0	0	1	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	1	1
Lung								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70
Hemangioma	0	0	0	1	0	0	1	2
Hemangiosarcoma	0	1	3	0	0	1	1	1
Histiocytic sarcoma	1	1	0	0	0	1	2	0
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	16	7	11	8	10	5	5	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Bronchioloalveolar adenoma	15	16	12	13	14	15	22	15
Lymphoma, malignant	13	20	15	32	15	28	15	31
Unclassifiable tumor, malignant	1	0	1	0	0	0	0	0
Hepatocellular carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosarcoma	0	3	1	0	0	0	1	0
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph node								
Number of Animals Evaluated:	10	23	22	44	23	41	28	42
Lymphoma, malignant	3	7	9	24	9	24	9	24
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	2	1	0	1
Bronchioloalveolar carcinoma	0	1	1	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	0	0	1	0
Fibrosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymph node, mandibular								
Number of Animals Evaluated:	66	67	65	68	68	63	68	68
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Lymphoma, malignant	9	16	16	30	16	28	17	28
Histiocytic sarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	0	1	1	0
Lymph node, mesenteric								
Number of Animals Evaluated:	69	69	68	70	69	66	69	66
Lymphoma, malignant	14	17	20	32	15	30	16	32
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	2	1	1	2	1	1	2	1
Hemangioma	1	0	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	2	1	0	0	0	0	2	0
Meninges								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0
Muscle, diaphragm								
Number of Animals Evaluated	1	0	0	0	0	1	1	0
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Muscle, skeletal								
Number of Animals Evaluated	69	69	70	70	70	70	70	70
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymphoma, malignant	2	6	5	9	4	9	4	14
Hemangiosarcoma	0	1	9[##]	5	10[##]	5	8[##]	6

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	1	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	0	1	0	0
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Nerve, optic								
Number of Animals Evaluated:	60	58	60	50	59	61	54	50
Lymphoma, malignant	0	2	1	1	1	2	2	2
Nerve, sciatic								
Number of Animals Evaluated	66	65	67	67	68	69	68	69
Lymphoma, malignant	0	7	3	8	4	12	5	12
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Ovary								
Number of Animals Evaluated	NA	69	NA	68	NA	67	NA	69
Cystadenoma	NA	3	NA	0	NA	0	NA	2
Lymphoma, malignant	NA	12	NA	29	NA	27	NA	27
Hemangiosarcoma	NA	0	NA	7##	NA	5#	NA	6#
Hemangioma	NA	0	NA	3	NA	2	NA	3
Histiocytic sarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Tubulostromal adenoma	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Fibrosarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Luteoma	NA	1	NA	0	NA	2	NA	0
Sertoli cell tumor, benign	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Oviduct								
Number of Animals Evaluated	NA	65	NA	66	NA	68	NA	69

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymphoma, malignant	NA	8	NA	16	NA	14	NA	17
Leukemia, granulocytic	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Pancreas								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	69	70	70	70	70
Islet cell adenoma	1	1	0	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	9	12	11	22	11	22	10	24
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	1	2	0	1	0
Histiocytic sarcoma	2	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Site, uncertain primary								
Number of Animals Evaluated:	1	0	1	0	0	0	0	0
Unclassifiable tumor, malignant	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
Skin								
Number of Animals Evaluated:	70	70	69	70	70	70	70	69
Papilloma; squamous cell	0	0	0	0	1	0	0	0
Papilloma	0	1	0	0	0	0	0	0
Basal cell tumor, malignant	0	0	0	2	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	1
Lymphoma, malignant	1	3	1	4	3	3	0	7
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	2	0	0
Fibrous histiocytoma, benign	1	0	1	0	0	0	0	1

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Small intestine, duodenum								
Number of Animals Evaluated:	70	70	70	69	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	3	2	2	4	4	4	2	8
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	1	1	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Small intestine, ileum								
Number of Animals Evaluated:	70	70	69	70	70	69	70	70
Lymphoma, malignant	5	5	3	5	3	9	4	8
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Small intestine, jejunum								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	69	69	70	69
Adenoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	2	4[#]	2	2
Lymphoma, malignant	7	4	6	7	6	8	1	12
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangioma	1	0	0	0	0	0	0	0
Spinal cord, cervical								
Number of Animals Evaluated	69	70	70	70	70	70	70	69
Lymphoma, malignant	0	1	1	1	1	0	1	3
Spinal cord, lumbar								
Number of Animals Evaluated	70	70	69	70	70	70	70	70
Lymphoma, malignant	0	1	1	1	1	2	1	6
Spinal cord, thoracic								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymphoma, malignant	0	1	0	2	0	0	1	4
Spleen								
Number of Animals Evaluated	70	70	69	70	70	70	70	70
Hemangioma	0	1	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	2	2	11##	7	10#	6	8#	4
Lymphoma, malignant	14	24	22	37	20	34	19	35
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Histiocytic sarcoma	2	0	0	0	0	1	2	0
Fibrosarcoma	0	1	0	0	0	0	1	0
Stomach								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	69	70	70	70
Adenoma	0	0	0	1	0	0	2	0
Adenocarcinoma	1	0	1	0	0	0	1	0
Lymphoma, malignant	8	8	11	20	12	19	12	24
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	1	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	1	0	0	0
Papilloma	0	1	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Squamous cell carcinoma	1	0	0	1	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	0	0
Subcutis								
Number of Animals Evaluated	13	21	32	26	38	30	36	33
Osteosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	1	15##	8##	19##	11##	16##	11##

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Sarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	2	9	4	15	4	14	6	15
Lipoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	1	1	0
Fibrosarcoma	0	4	2	0	0	2	1	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	1	0	2	1	3[#]	2
Fibroma	2	0	1	0	1	1	0	0
Tail								
Number of Animals Evaluated	0	0	2	3	3	1	7	1
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	1	1	5	1
Papilloma; squamous cell	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangioma	0	0	0	1	1	0	0	0
Testis								
Number of Animals Evaluated:	69	NA	69	NA	70	NA	70	NA
Hemangioma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hemangiosarcoma	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Interstitial (leydig) cell adenoma	1	NA	2	NA	1	NA	0	NA
Lymphoma, malignant	0	NA	3	NA	1	NA	3	NA
Histiocytic sarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus								
Number of Animals Evaluated:	68	69	67	68	63	68	68	69
Lymphoma, malignant	15	22	17	35	14	34	15	30
Hemangiosarcoma	1	0	1	0	0	1	0	0
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Unclassifiable tumor, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	2	0	0	0	0	0	2	0
Bronchioloalveolar carcinoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Tongue								
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	69
Lymphoma, malignant	1	4	2	4	1	3	1	2
Trachea								
Number of Animals Evaluated	66	69	70	69	70	69	68	69
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Leukemia, granulocytic	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	4	8	4	12	6	10	8	14
Ureter								
Number of Animals Evaluated	67	69	69	70	69	69	69	67
Lymphoma, malignant	10	13	9	23	9	19	8	22
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Urinary bladder								
Number of Animals Evaluated	69	67	70	67	69	66	69	66
Lymphoma, malignant	8	14	11	28	10	24	10	31
Leukemia, granulocytic	0	0	1	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Uterus								
Number of Animals Evaluated	NA	69	NA	70	NA	69	NA	69

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Histiocytic sarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Leiomyoma	NA	6	NA	2	NA	3	NA	2
Leiomyosarcoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Endometrial stromal sarcoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Choriocarcinoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Lymphoma, malignant	NA	11	NA	28	NA	25	NA	24
Hemangiosarcoma	NA	2	NA	5	NA	6	NA	7[#]
Leukemia, granulocytic	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Hemangioma	NA	1	NA	2	NA	0	NA	0
Polyp; endometrial stromal	NA	5	NA	4	NA	1	NA	1
Granular cell tumor, benign	NA	1	NA	0	NA	1	NA	0
Vagina								
Number of Animals Evaluated:	NA	67	NA	68	NA	65	NA	65
Lymphoma, malignant	NA	7	NA	15	NA	15	NA	23
Hemangiosarcoma	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
Leukemia, granulocytic	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Histiocytic sarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Gross pathology:								
Liver								
Mass	13	2	21	12	21	7	20	12
Focus; dark	2	5	13	10	12	8	20	9
Lung								
Focus; pale	3	4	2	16	10	12	9	10
Lymph node								
Enlargement	19	25	28	53	28	46	26	48

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Lymph node, mandibular								
Enlargement	11	14	13	25	8	22	9	19
Lymph node, mesenteric								
Enlargement	10	14	17	23	12	19	16	16
Muscle, skeletal								
Mass	0	3	7	3	6	4	6	4
Focus; dark	0	0	3	5	5	4	5	4
Spleen								
Enlargement	34	45	45	58	44	55	50	51
Focus; raised	0	0	2	6	3	3	5	5
Stomach								
Focus; raised	0	3	2	10	7	8	12	10
Mass	3	0	6	10	3	4	9	9
Subcutis								
Mass	4	10	16	12	21	9	17	16
Thick	4	9	18	10	21	11	19	14
Histopathology: - Non-neoplastic lesions:								
Adipose tissue								
Angiectasis								
Minimal	0	0	5	1	1	1	1	2
Mild	0	0	3	1	0	4	2	5
Bone marrow, femur								
Angiectasis								
Minimal	0	0	1	0	1	0	2	0

2.6.7.10A　がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice　Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Mild	0	0	2	0	2	0	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone marrow, sternum								
Angiectasis								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	0
Heart								
Hyperplasia, angiomatous								
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	1
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Kidney								
Karyomegaly, tubular								
Minimal	2	3	8	5	12	10	5	9
Mild	0	0	8	7	4	11	5	9
Moderate	0	0	6	7	1	10	5	8
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Lacrimal gland								
Atrophy/degeneration, acinar cell								
Minimal	12	9	24	13	9	18	0	25
Mild	8	3	17	2	18	5	2	9
Moderate	2	3	4	2	23	1	16	5
Marked	1	1	0	1	13	3	36	4
Severe	0	1	2	1	2	3	13	4
Liver								

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice								Study no. 0870139
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Hypertrophy, hepatocellular; centrilobular								
Minimal	6	6	9	4	15	3	15	6
Mild	1	1	2	1	2	0	4	0
Hypertrophy, hepatocellular; generally diffuse								
Minimal	3	5	12	7	5	8	5	11
Mild	3	3	5	4	3	2	7	4
Moderate	0	0	0	0	1	0	3	0
Pigmentation								
Minimal	7	20	12	27	18	37	25	19
Mild	0	4	6	9	4	8	20	40
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Lung								
Increased alveolar macrophages								
Minimal	9	25	22	20	22	7	21	8
Mild	4	1	27	23	19	24	16	24
Moderate	2	3	10	20	21	33	19	29
Marked	0	0	2	2	5	3	3	7
Severe	0	0	0	1	1	0	1	0
Eosinophilic material, alveolar								
Minimal	1	5	42	37	42	40	40	41
Mild	1	0	7	9	10	19	10	19
Moderate	0	1	1	0	2	3	2	3
Marked	0	0	0	2	2	2	2	2

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Inflammation, chronic								
Minimal	2	0	20	18	18	27	24	24
Mild	2	1	6	8	11	6	4	10
Moderate	1	1	2	3	1	2	1	3
Marked	0	0	0	0	1	0	0	0
Ovary								
Angiectasis								
Minimal	NA	4	NA	9	NA	5	NA	14
Mild	NA	1	NA	1	NA	4	NA	2
Moderate	NA	0	NA	1	NA	1	NA	2
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Pancreas								
Angiectasis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach								
Hyperplasia; glandular								
Minimal	2	0	3	2	2	0	7	1
Mild	2	0	1	5	1	0	4	2
Moderate	0	0	1	1	0	1	2	3
Ulceration/erosion; glandular								
Minimal	0	0	2	1	1	1	1	0
Mild	0	0	2	0	4	1	3	2
Moderate	1	0	0	1	1	0	1	1
Subcutis								

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in mice Study no. 0870139

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		2 (Group 2)		8 (Group 3)		25 (Group 4)	
No. of animals	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70	M:70	F:70
Angiectasis								
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Edema								
Minimal	1	6	7	7	12	3	9	7
Mild	1	1	9	0	8	3	8	5
Moderate	0	0	1	0	0	1	0	0
Uterus								
Angiectasis								
Minimal	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
Mild	NA	0	NA	2	NA	4	NA	0
Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Marked	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0

- = no noteworthy findings, NA = not applicable, Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001, Pairwise Comparison test: # p≤0.05, ## p≤0.01, Peto's two-sided test: ++ p≤0.01, +++ p≤0.001

a = Dosing was discontinued starting on week 97 (day 678) and these groups were terminated on week 101 (day 706). b = Dosing was discontinued starting on week 91 (day 633). Group 3 was terminated on week 93 (day 651) and group 4 on week 96 (day 667). c = Dosing was discontinued starting on week 92 (day 643). Group 4 was terminated on week 95 (day 660) and group 3 on week 98 (day 684). d = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.10B　がん原性試験

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats　Study no.: [0870138]
Species/strain: Rat/Wistar Hannover　Duration of dosing: 104 weeks　Location in CTD: 4.2.3.4.1-2
Initial age: Approx. 7 weeks at start of treatment　Method of administration: Oral gavage　GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]　Vehicle/formulation: 0.5% Hydroxypropylcellulose　Treatment of controls: 0.5% Hydroxypropylcellulose
Special features: Four animals/sex/group served as toxicokinetic animals.
Basis for high-dose selection: Based on a 26 week oral gavage toxicity study in rats with a 8-week recovery period (study no. 0770059).

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Toxicokinetics								
BAF312 concentrations (ng/mL)								
Day 34								
3 hours postdose	NA	NA	1550	1880	3240	5480	5400	9510
6 hours postdose	NA	NA	1060	1340	2750	5320	9100	12000
Day 181								
3 hours postdose	NA	NA	2220	2590	4140	7030	5770	13600
6 hours postdose	NA	NA	1230	1610	3970	7630	11600	16100
Noteworthy findings								
Number of animals								
Died or sacrificed moribund	20	15	21	30^{++}	24	24	25	28^{+}
Terminal sacrifice	30	35	29	20	26	26	25	22
Survival (%)	60	70	58	40	52	54	52	44

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Clinical observations								
Eyeball, pale	4	7	11	17	17	20	14	15
Eyeball, damaged	0	0	7	0	45	3	28	4
Eyeball, enlarged	1	0	19	3	8	29	11	30
Eyeball, opacity	0	0	3	1	2	3	3	3
Eye, partly closed	4	1	10	8	9	3	9	5
Eye, discharge	0	2	8	6	6	9	10	11
Fur, erected	12	11	26	23	18	18	20	18
Dehydrated, suspected	20	18	29	38	34	32	29	35
Salivation	0	0	1	0	2	1	12	1
Breathing, labored	0	1	4	1	2	0	5	0
Breathing, abnormal sounds	1	1	2	2	4	0	8	1
Vagina, discharge liquid	NA	8	NA	17	NA	20	NA	13
Abdominal firm inter structure	0	5	0	7	0	10	1	11
Abdominal distension	0	3	0	5	0	11	1	5
Teeth, clear	0	0	0	1	0	2	0	3
Body weight (%[a]):								
- Week 26	457.2 g	250.6 g	-5	-4	-4	-3	-6[$]	-6***
- Week 104	612.5 g	367.0 g	-15[$]	-16[$]	-15[$]	-21[$$$]	-22[$$$]	-19[$$$]
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of animals with neoplastic lesions:								
Adipose tissue								
Number of Animals Evaluated	2	6	2	3	2	3	5	1
Lymphoma, malignant	1	0	0	0	2	0	0	0

2.6.7.10B　がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Histiocyctic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Lipoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Body cavity, abdominal								
Number of Animals Evaluated	0	2	1	1	2	2	2	1
Sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	0	2	0	0	0
Histiocystic sarcoma	0	0	0	0	0	1	2	0
Endometrial adenocarcinoma	0	1	0	1	0	1	0	1
Body cavity, nasal								
Number of Animals Evaluated	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymphoma, malignant	0	0	1	0	1	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	1	0	0	0
Bone								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	0	3	0	1	0
Osteoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone, femur								
Number of Animals Evaluated	49	49	50	50	50	49	50	49
Osteoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Body cavity, cranial								
Number of Animals Evaluated:	0	0	3	0	1	0	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Schwannoma, malignant	0	0	1	0	1	0	0	0
Body cavity, thoracic								
Number of Animals Evaluated	0	0	0	0	0	0	0	1
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow, femur								
Number of Animals Evaluated	49	49	50	50	50	49	50	49
Lymphoma, malignant	3	0	1	0	3	1	3	1
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Bone marrow, sternum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	49	49	50	50	50
Lymphoma, malignant	3	0	1	0	3	1	3	1
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Brain								
Number of Animals Evaluated:	50	50	49	50	50	50	50	50
Astrocytoma, malignant	0	1	0	2	0	0	0	0
Granular cell tumor, benign	1	0	2	0	0	0	0	0
Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0
Mixed glioma, malignant	0	0	0	1	0	1	0	0
Carcinoma	1	2	0	0	0	0	0	0
Medulloblastoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Cervix								
Number of Animals Evaluated	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
Fibroma	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Leiomyosarcoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Histiocytic sarcoma	NA	1	NA	0	NA	1	NA	0
Polyp	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Squamous cell carcinoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Hemangioma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Hemangiosarcoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Endometrial adenocarcinoma	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Schwannoma, malignant	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Epididymis								
Number of Animals Evaluated:	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA
Mesothelioma, malignant	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Mesothelioma, benign	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Histiocytic sarcoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Lymphoma, malignant	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Eye								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	49	50	50	50	49
Meningioma, benign	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, adrenal								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Pheochromocytoma, benign	3	0	0	0	1	1	2	0
Cortical adenoma	1	2	2	2	1	3	3	2
Lymphoma, malignant	1	0	0	1	1	0	1	1
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Endometrial adenocarcinoma	0	2	0	0	0	0	0	1
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats Study no. 0870138

Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Gland, harderian								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	49	50	50	50	49
Lymphoma, malignant	0	0	1	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Gland, lacrimal								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
Lymphoma, malignant	1	0	1	0	0	0	0	0
Gland, mammary								
Number of Animals Evaluated:	42	50	39	50	38	49	41	49
Fibroadenoma	0	15	0	8	0	1	0	3
Adenocarcinoma	1	5	0	1	0	1	0	0
Gland, parathyroid								
Number of Animals Evaluated:	49	48	50	49	50	50	49	49
Adenoma	2	0	2	1	1	1	0	0
Gland, pituitary								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	49	49	48	49
Adenoma, pars distalis	18	24	14	14	12	11	8	8
Adenoma, pars intermedia	2	2	1	0	2	1	0	0
Carcinoma	1	2	0	0	0	0	0	0
Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0
Ganglioneuroma	0	0	0	0	0	0	1	0
Gland, prostate								
Number of Animals Evaluated:	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Adenoma	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Histiocytic sarcoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Lymphoma, malignant	2	NA	1	NA	2	NA	1	NA
Gland, salivary parotid								
Number of Animals Evaluated:	50	49	50	50	50	50	50	49
Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Gland, seminal vesicle								
Number of Animals Evaluated:	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA
Histiocytic sarcoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Lymphoma, malignant	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Gland, thyroid								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
C-cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
C-cell adenoma	9	7	11	4	5	3	7	1
Lymphoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Follicular cell adenoma	2	2	6	0	7	1	16[##]	1
Follicular cell carcinoma	1	1	2	0	5	0	5	0
Head								
Number of Animals Evaluated:	0	0	0	0	0	0	1	0
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Heart								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
Rhabdomyosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymphoma, malignant	1	0	0	0	2	1	1	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemolymphoreticular tissue								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	1	2	2	0
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	3	0	4	2	6	2	3	2
Kidney								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymphoma, malignant	3	0	1	0	2	0	1	0
Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Lipoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Large intestine, cecum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymphoma, malignant	1	0	3	0	2	1	0	0
Large intestine, colon								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Lipoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0
Large intestine, rectum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Endometrial stromal sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	0	0	1	0
Liver								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Hepatocellular adenoma	2	4	1	5	3	3	2	1
Lymphoma, malignant	3	0	2	1	3	1	3	1
Cholangioma	0	0	1	0	0	1	0	1
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	1	1	2	0
Liposarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	0	2	0	1
Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Lung								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	1	1	0
Bronchioloalveolar adenoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	2	0	1	1	3	0	3	0
Endometrial stromal sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Odontoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Endometrial adenocarcinoma	0	2	0	1	0	1	0	0
Follicular cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Osteosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Leiomyosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node								
Number of Animals Evaluated:	13	11	25	19	20	17	24	25
Lymphoma, malignant	3	0	2	0	2	1	2	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Endometrial stromal sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	0	1
Endometrial adenocarcinoma	0	1	0	0	0	1	0	0
Lymph node, mandibular								
Number of Animals Evaluated:	50	49	49	49	49	50	50	49
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	3	0	1	1	2	1	0	0
Schwannoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node, mesenteric								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymphoma, malignant	3	0	3	0	4	0	2	1
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemangioma	3	1	4	1	2	1	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	1	0
Endometrial adenocarcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Meninges								
Number of Animals Evaluated:	0	0	0	0	0	0	1	0
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Muscle, skeletal								
Number of Animals Evaluated:	49	50	50	50	50	50	50	50
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Schwannoma, malignant	0	0	1	0	0	0	0	0
Rhabdomyosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Odontoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Follicular cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Osteosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Ovary								
Number of Animals Evaluated:	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
Granulosa cell tumor, benign	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Thecoma, benign	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Adenoma	NA	1	NA	1	NA	0	NA	1
Tubulostromal adenoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Endometrial adenocarcinoma	NA	1	NA	0	NA	2	NA	0
Oviduct								
Number of Animals Evaluated:	NA	50	NA	47	NA	49	NA	50
Endometrial adenocarcinoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Pancreas								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymphoma, malignant	1	0	1	0	2	0	0	0
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	2	0
Adenoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Islet cell carcinoma	1	0	2	0	0	0	1	0
Islet cell adenoma	0	2	0	0	1	0	0	0
Site, uncertain, primary								
Number of Animals Evaluated:	1	0	1	0	0	1	0	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Osteosarcoma	0	0	1	0	0	1	0	0
Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Skin								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Papilloma	0	0	1	1	1	0	1	0
Hair follicle tumor, benign	1	0	3	0	0	0	0	0
Fibroma	0	0	1	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Adenoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Keratoacanthoma	5	0	4	0	5	2	1	1
Fibrous histiocytoma, benign	0	0	1	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Small intestine, duodenum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymphoma, malignant	1	0	1	0	1	0	0	0
Small intestine, ileum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	49	50	50
Lymphoma, malignant	0	0	3	1	4	1	0	1
Mast cell tumor, malignant	0	0	1	0	0	0	0	0
Small intestine, jejunum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	49	50	50	50
Leiomyoma	0	0	0	0	0	1	0	1
Leiomyosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	3	1	2	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Spinal cord, lumbar								
Number of Animals Evaluated:	48	50	49	50	49	50	49	49
Schwannoma, benign	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Hemangioma	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	3	0	1	1	2	0	3	1
Leukemia, granulocytic	0	0	0	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Stomach								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymphoma, malignant	1	0	0	1	3	0	0	0
Liposarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	2	0
Papilloma	0	0	1	0	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Subcutis								
Number of Animals Evaluated:	3	3	4	0	3	2	4	1
Lymphoma, malignant	1	0	0	0	1	0	0	0
Endometrial stromal sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Fibroma	1	0	1	0	0	0	0	0
Schwannoma, malignant	0	0	0	0	1	0	1	0
Osteosarcoma	0	1	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Lipoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	1	0	1	1	0	0
Hemangiopericytoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Testis								
Number of Animals Evaluated:	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA
Interstitial (leydig) cell adenoma	1	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Mesothelioma, malignant	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Carcinoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Histiocytic sarcoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus								
Number of Animals Evaluated:	48	49	50	48	48	48	50	48
Lymphoma, malignant	2	0	2	0	3	0	2	0
Thymoma, malignant	0	0	1	0	0	1	0	0
Thymoma, benign	2	6	9[#]	5	5	6	6	7
Tongue								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Urinary bladder								
Number of Animals Evaluated:	50	50	48	50	49	49	50	50
Transitional cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Endometrial stromal sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	1	1	0
Lymphoma, malignant	0	0	1	0	0	0	0	0
Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Uterus								
Number of Animals Evaluated:	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
Histiocytic sarcoma	NA	1	NA	0	NA	2	NA	0
Leiomyosarcoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Endometrial stromal sarcoma	NA	2	NA	0	NA	0	NA	1
Adenocarcinoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Hemangiosarcoma	NA	2	NA	2	NA	1	NA	2
Polyp	NA	2	NA	8	NA	5	NA	3
Hemangioma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Endometrial adenocarcinoma	NA	5	NA	4	NA	6	NA	6
Endometrial adenoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Squamous cell carcinoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Vagina								
Number of Animals Evaluated:	NA	50	NA	50	NA	49	NA	50
Endometrial stromal sarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Histiocytic sarcoma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Gross pathology:								
Artery, aorta								
Dilatation	0	0	12	7	9	8	5	10
Body cavity, thoracic								
Material/fluid accumulation[b]	1	0	4	4	5	3	8	6
Brain								
Focus; dark	0	1	4	1	1	5	0	4
Kidney								
Irregular surface	1	0	14	20	7	19	5	16

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Liver								
Irregular surface	0	0	2	4	5	9	4	4
Enlargement	3	2	3	1	6	1	14	3
Focus; raised	1	1	2	1	3	3	8	2
Lymph node, mandibular								
Cyst; pale	3	1	16	8	19	7	14	12
Lymph node, mesenteric								
Cyst; pale	2	1	8	2	4	3	10	4
Ovary								
Cyst; pale	NA	13	NA	19	NA	25	NA	22
Oviduct								
Dilatation/Cyst; pale	NA	0	NA	2	NA	2	NA	2
Uterus								
Material/fluid accumulation[b]	NA	3	NA	13	NA	17	NA	20
Dilatation	NA	0	NA	8	NA	11	NA	10
Focus; dark/raised	NA	0	NA	7	NA	5	NA	0
Cyst; dark	NA	0	NA	5	NA	7	NA	1
Nodule	NA	0	NA	3	NA	2	NA	2
Vessel, blood								
Dilatation	0	0	4	1	4	7	1	3
Testis								
Focus; pale	3	NA	7	NA	8	NA	11	NA
Abnormal consistency; soft	6	NA	6	NA	7	NA	12	NA
Thyroid gland								
Enlargement	2	1	5	0	3	0	7	2

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Mass	0	2	2	0	4	0	7	0
Focus; dark	1	0	3	0	2	1	6	1
Histopathology - Non-neoplastic lesions:								
Bone marrow								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	49	49	50	50	50
Hypercellularity								
Minimal	4	9	5	12	7	23	14	14
Mild	3	3	2	6	3	5	6	4
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Brain								
Number of Animals Evaluated:	50	50	49	50	50	50	50	50
Inflammation; vascular								
Minimal	0	0	2	2	1	0	1	2
Mild	0	0	2	3	0	3	0	3
Moderate	0	0	0	1	0	1	0	0
Hemorrhage								
Minimal	1	0	3	2	6	4	2	2
Mild	0	0	2	1	0	3	0	3
Moderate	2	0	0	2	1	1	0	0
Necrosis								
Minimal	0	0	3	0	1	1	0	1
Mild	0	0	2	3	1	4	0	2
Moderate	0	0	2	2	1	2	0	2
Mineralization								

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Minimal	2	0	21	20	28	21	27	23
Mild	0	0	11	4	10	4	11	3
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Eye								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	49	50	50	50	49
Inflammation; chronic, cornea								
Minimal	0	0	12	5	13	8	13	12
Mild	0	0	5	4	1	6	4	3
Marked	0	0	1	0	0	0	0	0
Heart								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
Inflammation; vascular								
Minimal	0	1	8	6	4	9	8	6
Mild	0	0	6	3	4	2	1	3
Moderate	0	0	0	0	2	0	1	1
Ileum								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	49	50	50
Infiltration; mononuclear cell								
Minimal	0	0	4	3	3	0	0	3
Mild	0	0	1	1	1	2	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	1	0	0	0
Severe	0	0	1	2	0	0	0	1
Kidney								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Nephropathy; chronic progressive								
Minimal	17	9	14	20	14	18	13	15
Mild	11	1	12	12	12	8	19	10
Moderate	2	0	12	8	7	12	7	8
Marked	0	0	4	3	4	5	1	2
Inflammation; vascular								
Minimal	1	0	3	6	2	0	2	2
Mild	0	0	3	1	1	2	1	3
Moderate	0	0	5	2	2	7	0	5
Marked	0	0	1	2	4	1	1	1
Liver								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Hypertrophy; centrilobular								
Minimal	0	0	19	1	21	12	36	16
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia; bile duct								
Minimal	2	8	14	14	10	14	18	12
Mild	1	8	10	12	8	15	2	12
Moderate	0	0	4	4	1	5	1	7
Marked	0	1	0	0	0	0	0	0
Focus of cellular alteration; eosinophilic								
Minimal	1	2	13	8	26	11	18	18
Mild	0	0	2	1	4	1	5	1
Moderate	0	0	1	0	0	0	1	0

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Lung								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Fibrosis; pleural								
Minimal	0	0	19	3	18	5	14	6
Lymph node, mandibular								
Number of Animals Evaluated:	50	49	49	49	49	50	50	49
Dilatation; sinus								
Minimal	1	0	13	15	21	12	18	15
Mild	4	1	13	6	12	7	15	12
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	50
Depletion; lymphoid								
Minimal	2	0	2	1	1	1	2	1
Mild	1	0	1	1	2	0	7	1
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	2	1
Testis								
Number of Animals Evaluated:	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA
Degeneration; seminiferous tubule								
Minimal	2	NA	4	NA	7	NA	8	NA
Mild	1	NA	6	NA	7	NA	6	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Marked	3	NA	6	NA	4	NA	8	NA
Severe	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Inflammation; vascular								
Minimal	1	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Mild	0	NA	2	NA	2	NA	8	NA
Moderate	0	NA	8	NA	8	NA	4	NA
Marked	0	NA	14	NA	7	NA	5	NA
Thymus								
Number of Animals Evaluated:	48	49	50	48	48	48	50	48
Enlargement/increased cellularity; medullary								
Mild	0	0	1	1	1	1	0	0
Moderate	0	0	19	14	17	10	15	9
Marked	0	0	16	26	19	25	20	28
Severe	0	0	1	0	0	3	6	0
Thyroid gland								
Number of Animals Evaluated:	50	50	50	50	50	50	50	49
Hyperplasia; follicular cell								
Minimal	0	0	0	2	0	1	0	0
Mild	5	0	1	0	3	0	5	0
Moderate	3	0	0	0	3	0	2	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	0	1	0
Hypertrophy; follicular cell								
Minimal	1	0	14	0	15	2	20	10
Uterus								
Number of Animals Evaluated:	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50

2.6.7.10B がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Hyperplasia/hypertrophy; vascular								
Minimal	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
Mild	NA	0	NA	4	NA	5	NA	6
Moderate	NA	0	NA	2	NA	2	NA	1
Marked	NA	0	NA	0	NA	2	NA	1
Severe	NA	0	NA	2	NA	1	NA	1
Hemorrhage								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	6	NA	3
Mild	NA	0	NA	7	NA	6	NA	5
Moderate	NA	0	NA	3	NA	2	NA	4
Marked	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Hemorrhage; lumen								
Mild	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Moderate	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0
Severe	NA	0	NA	5	NA	1	NA	1
Ulceration								
Minimal	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Mild	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Marked	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
Severe	NA	0	NA	2	NA	3	NA	0
Hyperplasia; endometrial								
Minimal	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Mild	NA	0	NA	2	NA	1	NA	2
Moderate	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1

2.6.7.10B　がん原性試験（続き）

Report title: 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats								Study no. 0870138
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)		10 (Group 2)	3 (Group 5)	30 (Group 3)	10 (Group 6)	90 (Group 4)	30 (Group 7)
No. of animals	M:50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
Severe	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Inflammation								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	5	NA	1
Mild	NA	0	NA	2	NA	1	NA	2
Moderate	NA	0	NA	0	NA	3	NA	3
Marked	NA	0	NA	4	NA	3	NA	4
Dilatation								
Minimal	NA	0	NA	2	NA	0	NA	0
Mild	NA	0	NA	3	NA	3	NA	4
Moderate	NA	0	NA	5	NA	8	NA	9
Marked	NA	0	NA	1	NA	3	NA	2
Severe	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Inflammation; vascular								
Minimal	NA	0	NA	4	NA	4	NA	1
Mild	NA	0	NA	4	NA	2	NA	1
Moderate	NA	0	NA	2	NA	0	NA	1
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

- = no noteworthy findings, NA = not applicable, Dunnett's test: *** $p \leq 0.001$, Dunn test: $^{\$}$ $p \leq 0.05$, $^{\$\$\$}$ $p \leq 0.001$, Pairwise Comparison test: $^{\#\#}$ $p \leq 0.01$, Peto's two-sided test : + $p \leq 0.05$, ++ $p \leq 0.01$

a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). b = Including fluid or material accumulation; pale or dark.

2.6.7.11 生殖発生試験（重要な試験以外の試験）

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Dosing period	Doses (mg/kg)	No. per group	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Rabbit/New Zealand White	Oral gavage (0.5% hydroxypropyl-cellulose)	GD 7-20	0, 5, 10, 50, 100, 150	6F for 0, 5 and 10 mg/kg group; 3F for 50, 100 and 150 mg/kg group	≥5 mg/kg: abortion (1/6, 3/6, 3/3 and 2/3 females in 5, 10, 50 and 100 mg/kg, respectively), ↓ body weight, ↑ fetal resorption ≥50 mg/kg: ↓ stool, soft stool, ↓ food consumption 150 mg/kg: Terminated on GD13 (due to ↓ stool, soft stool, ↑ activity, ataxia, tremor, ↓ food consumption and body weight loss), enlarged gallbladders No effects on fetal weights and no external abnormalities for viable fetuses at 5 and 10 mg/kg. NOAEL: Not established for either maternal or fetal toxicity.	[0770060]	4.2.3.5.2-2

F = female; GD = gestation day; ↑ = increased; ↓ = decreased

2.6.7.12A 生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) male fertility study in rats | Study no. [0970446]

Species/strain: Rat/Wistar Hannover | Duration of dosing: Males: Once daily for 4 weeks prior to mating, during the 2-week mating period, and until terminal necropsy. Females: Not dosed | Location in CTD: 4.2.3.5.1-1

Initial age: Approx. 10-12 weeks at start of treatment | Day of C-section: [redacted] | GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] | Method of administration: Oral gavage | Vehicle/formulation: 0.5% hydroxypropylcellulose

Special features: None

No Observed Adverse-Effect Level: F_0 males: 20 mg/kg/day (toxicology) F_0 males: 200 mg/kg/day (fertility) F_0 females: NA

Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	2 (Group 2)	20 (Group 3)	200 (Group 4)
Males	No. evaluated		25	25	25	25
	No. died or sacrificed moribund		0	0	0	0
	Clinical observations					
	Decreased stool		0	0	0	25
	Necropsy observations		-	-	-	-
	Body weight (%[a])	- Day 8	354 g	-2	-1	-10^{++}
		- Day 29	398 g	-4	-1	-9^{++}
		- Day 50	430 g	-4	-2	-7^{++}
	Body weight gain (%[a])	- Day 1 to 4	6 g	-33	0	-300^{++}
		- Day 4 to 8	12 g	-42^{++}	-25	-142^{++}
	Food consumption (%[a])	- Day 1 to 8	22 g	-9^{++}	-9^{++}	-46^{++}
		- Day 8 to 15	23 g	-4	-9	-17^{++}
		- Day 22 to 29	24 g	0	0	-4

2.6.7.12A 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) male fertility study in rats					Study no. 0970446
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	2 (Group 2)	20 (Group 3)	200 (Group 4)
Males (cont.)	Mean no. days prior to mating	2.3	3.0	3.7	3.9
	No. of males that mated	25	25	25	25
	No. of males producing a pregnant female	23	20	19	21
	Mating index (%[b])	100.0	100.0	100.0	100.0
	Fertility index (%[c])	92.0	80.0	76.0	84.0
	Fecundity index (%[d])	92.0	80.0	76.0	84.0
	Epididymal weight (%[e])	1.633 g	-6	-5	-20***
	Testes weight (%[e])	3.898 g	-4	-3	-5
	Sperm motility (%)	80.2	82.8	82.6	80.3
	Sperm count (x10^6/g)	106.7	105.9	101.3	100.0
Females	No. evaluated	25	25	25	25
	No. of females pregnant	23	20	19	21
	No. died or sacrificed moribund	0	0	0	0
	No. aborted or with total resorption of litter	0	0	0	1
	Mean no. corpora lutea	14.1	13.6	13.7	12.0*
	Mean no. implantations	12.0	12.6	11.7	8.7*
	Mean % preimplantation loss	14.5	7.7	14.6	27.5
	Mean no. live conceptuses	11.3	12.1	11.1	8.1
	Mean no. resorptions	0.8	0.4	0.6	0.6
	No. dead conceptuses	0	0	0	0
	Mean % postimplantation loss	6.5	3.6	5.4	6.6

- = no noteworthy findings, NA = not applicable, Duncan's multiple range test, + $p \leq 0.05$, ++ $p \leq 0.01$, Dunnett's t-test: * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$.
a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences). b = No. of females mating/No. of females placed for mating x 100. c = No. of pregnant females/No. of females placed for mating x 100. d = No. of pregnant females/No. of mated females x 100. e = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.12B 生殖発生毒性試験

Report title: BAF312: An Oral Gavage Female Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats | Study no. [1070054]

Fertility and early embryonic development to implantation

Species/strain: Rat/Wistar Hannover | Duration of dosing: Males: Not dosed. Females: Once daily for 2 weeks prior to mating, during mating, and until GD 6. | Location in CTD: 4.2.3.5.1-2

Initial age: 9 weeks at start of treatment | Day of C-section: GD 13 | GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] | Method of administration: Oral gavage | Vehicle/formulation: 0.5% hydroxypropylcellulose

Special features: Toxicokinetics

No Observed Adverse-Effect Level: F_0 males: NA | F_0 females: 0.1 mg/kg/day (toxicology) | F_0 females: 1.0 mg/kg/day (fertility)

Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	0.1 (Group 2)	0.3 (Group 3)	1.0 (Group 4)
Females	**Toxicokinetics**					
	Day 0 (the first day of dosing)					
	AUC0-24h (ng.h/mL)		NA	317	915	4410
	Cmax (ng/mL)		NA	17.4	46.1	236
	Day 10					
	AUC0-24h (ng.h/mL)		NA	841	2100	9030
	Cmax (ng/mL)		NA	46.4	103	468
	No. evaluated		24	24	24	24
	No. died or sacrificed moribund		0	0	0	0
	Clinical observations		-	-	-	-
	Necropsy observations		-	-	-	-
	Premating body weight (%[a])	- Day 13	219.2 g	-3*	-3	-2
	Gestation body weight (%[a])	- GD 13	269.4 g	-3	-3	-3

2.6.7.12B 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: : BAF312: An Oral Gavage Female Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats						Study no. 1070054
Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	0.1 (Group 2)	0.3 (Group 3)	1.0 (Group 4)
Females (cont.)	Premating food consumption (%[a])	- Day 0 to 13	211.3 g	-4	-7[$$]	-8[$$$]
	Gestation food consumption (%[a])	- GD 0 to 13	260.0 g	+1	-1	-4
	Mean no. estrous cycles/ 14 days		3.21	3.17	3.08	3.00
	Mean no. days prior to mating		2.3	1.9	1.8	2.1
	No. of females sperm positive		24	24	24	23
	No. of pregnant females		24	21	24	23
	Mating index (%[b])		100.0	100.0	100.0	95.8
	Fertility index (%[c])		100.0	87.5	100.0	95.8
	Fecundity index (%[d])		100.0	87.5	100.0	100.0
	Mean no. corpora lutea		13.8	12.9	13.2	14.5
	Mean no. implantations		11.7	10.6	11.2	12.8
	Mean % preimplantation loss		15.73	19.70	17.00	11.77
	Mean no. live conceptuses		11.0	10.0	10.5	12.3
	Mean no. resorptions		0.7	0.6	0.7	0.5
	No. dead conceptuses		0	0	0	0
	Mean % postimplantation loss		5.52	6.15	6.33	4.27

- = No noteworthy findings; NA = not applicable, GD = gestation day, Dunnett's test: * $p \leq 0.05$, Dunn's test: [$$] $p \leq 0.01$; [$$$] $p \leq 0.001$.
a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).
b = No. of females mating/No. of females placed for mating x 100. c = No. of pregnant females/No. of females placed for mating x 100. d = No. of pregnant females/No. of mated females x 100.

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rats Study no.: [0770653]

Effect on embryo-fetal development

Species/strain: Rat/Wistar Hannover | Duration of dosing: GD 6-17 | Location in CTD: 4.2.3.5.2-1

Initial age: Approx. 11 weeks at start of treatment | Day of C-section: GD 21 (Main study animals); GD 18 (Toxicokinetic satellite animals) | GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] | Method of administration: Oral gavage | Vehicle/formulation: 0.5% hydroxypropylcellulose

Special features: Tokicokinetics

No Observed Adverse-Effect level: F_0 females: 5 mg/kg/day (toxicity) F_0 females: not established (Reproductive performance) F_1 litters: not established

Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	1 (Group 2)	5 (Group 3)	40 (Group 4)
Dams	Toxicokinetics				
	AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	10300	57900	316000
	Cmax (ng/mL)	NA	498	2870	14800
	No. of females examined	25	25	25	25
	No. pregnant	22	24	23	23
	No. died or sacrificed moribund	0	0	0	0
	No. aborted	0	0	0	0
	No. with total resorption of litter	1	6	23	23
	Clinical observations				
	Decreased stool	1	1	0	9
	Increased activity	0	0	0	2
	Anogenital staining	0	0	0	1
	Necropsy observations	-	-	-	-

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rats						Study no. 0770653
Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	1 (Group 2)	5 (Group 3)	40 (Group 4)
Dams (cont.)	Body weight (%[a])	- GD 18	284 g	+2	-5	-8**
		- GD 21	318 g	-8**	-14**	-14**
	Body weight gain (%[a])	- GD 15 to 18	23 g	+4	-65**	-57**
		- GD 18 to 21	34 g	-88**	-85**	-65**
		- GD 6 to 18	58 g	+5	-22**	-40**
	Food consumption (%[a])	- GD 6 to 9	23 g	-9**	-13**	-30**
		- GD 15 to 18	26 g	0	-4	-8*
	Gravid uterine weight (%[a])		60.3 g	-51**	-86**	-84**
	Mean no. corpora lutea		11.3	11.6	11.3	11.7
	Mean no. implantations		8.6	9.4	8.4	9.3
	Mean % preimplantation loss		23.4	19.0	26.1	20.5
Litters	No. litters evaluated		22	24	23	23
	No. live fetuses		179	66[££]	0[££]	0[££]
	Mean no. resorptions		0.5	6.7**	8.4**	9.3**
	Mean no. early resorption		0.5	4.8**	8.0**	8.5**
	Mean no. late resorption		0.0	1.9**	0.4	0.8
	No. of litters with dead fetuses		0	0	0	0
	No. dead fetuses		0	0	0	0
	Mean % postimplantation loss		5.8	70.8	100	100
	Mean fetal body weight (%[a])		5.3 g	-4	NA	NA
	Fetal sex ratios (% males)		49.2	60.6	NA	NA

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rats					Study no. 0770653
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	1 (Group 2)	5 (Group 3)	40 (Group 4)
Litters (cont.)	Fetal malformations				
	Gross external malformations [litters (fetuses)]				
	Malrotated limbs	1(1)	9$^{££}$ (12$^{££}$)	NA	NA
	Cleft palate	0 (0)	1 (1)	NA	NA
	Visceral malformations [litters (fetuses)]				
	Cardiomegaly	0 (0)	1 (1)	NA	NA
	Skeletal malformations [litters (fetuses)]				
	Palatine - split (Cleft palate)	0 (0)	2 (2)	NA	NA
	Clavicle - misshapen	0 (0)	6$^{££}$ (6$^{££}$)	NA	NA
	Fetal variations:				
	Gross external variations [litters (fetuses)]				
	Edema, generalized	0 (0)	7$^{££}$ (10$^{££}$)	NA	NA
	Visceral variations	-	-	NA	NA
	Skeletal variations [litters (fetuses)]				
	Interparietals - incomplete ossification	4 (4)	6 (7$^{££}$)	NA	NA
	Forepaw phalanx - unossified	5 (6)	10 (13$^{££}$)	NA	NA
	Sternebra - misshapen	6 (6)	11 (13$^{££}$)	NA	NA
	Sternebra - incomplete ossification	1 (1)	6$^{£}$ (7$^{££}$)	NA	NA
	Rib - cervical	2 (2)	10$^{££}$ (16$^{££}$)	NA	NA
	Hindpaw phalanx - unossified	8 (15)	16$^{££}$ (30$^{££}$)	NA	NA

- = No noteworthy findings, NA= not applicable, GD = gestation day, Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, Fisher's exact test: £ p≤0.05, ££ p≤0.01.
a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits | Study no.: [0770652]

Effect on embryo-fetal development

Species/strain: Rabbit/New Zealand White | Duration of dosing: GD 7 to 20 | Location in CTD: 4.2.3.5.2-3

Initial age: At least 23 weeks at start of treatment | Day of C-section: GD 29 (main study animals); GD 21 (Toxicokinetic satellite animals) | GLP compliance: Yes

Date of first dose [redacted] | Method of administration: Oral gavage | Vehicle/formulation: 0.5% hydroxypropylcellulose

Special features: Toxicokinetics

No Observed Adverse-Effect Level: F_0 females: 1 mg/kg/day (toxicity) | F_0 females: 1 mg/kg/day (reproductive performance) | F_1 litters: 0.1 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	0.1 (Group 2)	1 (Group 3)	5 (Group 4)
Dams	Toxicokinetics					
	AUC0-24h (ng*hr/mL)		NA	NR	958	5510
	Cmax (ng/mL)		NA	6.52	66.4	426
	No. of females examined		20	20	20	20
	No. pregnant		17	19	20	16
	No. died or sacrificed moribund		0	0	0	1[a]
	No. premature birth		1	0	0	0
	No. aborted		0	0	0	4
	No. with total resorption of litter		0	0	0	1
	Clinical observations		-	-	-	-
	Necropsy observations		-	-	-	-
	Body weight (%[b])	- GD 21	3478 g	0	+1	0
	Body weight gain (%[b])	- GD 7 to 21	175 g	-9	-21	-47*

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: BAF312: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits					Study no. 0770652
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.1 (Group 2)	1 (Group 3)	5 (Group 4)
Dams (cont.)	Food consumption	-	-	-	-
	Gravid uterine weight (%[b])	509.6 g	-3	-6	-57**
	Mean no. corpora lutea	9.9	10.2	10.0	10.3
	Mean no. implantations	8.9	9.1	9.3	9.2
	Mean % preimplantation loss	10.7	10.8	7.0	10.6
Litters	Toxicokinetics				
	Fetus concentration (ng/g)	NA	0.00	41.0	146
	No. litters evaluated	16	19	20	11
	No. live fetuses	133	158	161[£]	30[££]
	Mean no. live fetuses	8.3	8.3	8.1	2.7**
	No. resorptions	9	15	25[£]	71[££]
	Mean no. resorptions	0.6	0.8	1.3	6.5**
	Mean no. early resorption	0.4	0.7	0.9	5.5**
	Mean no. late resorption	0.2	0.1	0.3	1.0*
	No. of litters with dead fetuses	0	0	0	0
	No. dead fetuses	0	0	0	0
	Mean % postimplantation loss	6.3	8.7	13.4	70.3
	Mean fetal body weight (%[b])	41.9 g	-1	-4	-2
	Fetal sex ratios (% males)	51.9	57.0	50.6	60.0
	Fetal malformations				
	Gross external malformations	-	-	-	-
	Visceral malformations	-	-	-	-
	Skeletal malformations	-	-	-	-

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: BAF312: An oral (gavage) embryo-fetal development study in rabbits					Study no. 0770652
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.1 (Group 2)	1 (Group 3)	5 (Group 4)
Litters (cont.)	Fetal variations				
	Gross external variations	-	-	-	-
	Visceral variations [litters (fetuses)]				
	Small gallbladder	2 (2)	3 (4)	4 (4)	4 (6^{ff})
	Skeletal variations [litters (fetuses)]				
	Hyoid - incomplete ossification	9 (23)	14 (42)	19^{f} (59^{ff})	9 (17^{ff})
	Hyoid - bent	5 (6)	5 (6)	10 (14)	8^{f} (14^{ff})
	Sternebra - fused	2 (2)	2 (2)	5 (11^{f})	6^{f} (8^{ff})
	Sternebra - misshapen	5 (6)	2 (4)	8 (18)	8^{f} (16^{ff})
	Forepaw phalanx - incomplete ossification	6 (17)	12 (41^{ff})	14 (27)	7 (13^{ff})
	Forepaw phalanx - unossified	4 (16)	8 (16)	7 (15)	8^{f} (15^{ff})
	Talus - incomplete ossification	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (2^{f})
	Hindpaw phalanx - incomplete ossification	2 (2)	2 (2)	4 (6)	2 (3^{f})
	Hindpaw phalanx - unossified	1 (4)	0 (0^{f})	1 (1)	2 (2)

- = No noteworthy findings; NA= not applicable, GD = gestation day, NR= not reported due to insufficient data points; Dunnett's test, * p≤0.05, ** p≤0.01, Fisher's exact test: £ p≤0.05, ££ p≤0.01.
a = One female was sacrificed due to injured hindlimb on GD 12. b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.14 生殖発生毒性試験

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat Study no. [0970449]

Species/strain: Rat/Wistar Hannover Duration of dosing: GD 6 to LD 20, 21 or 22 Location in CTD: 4.2.3.5.3-1

Initial age: 81 to 85 days at start of dosing Method of administration: Oral gavage GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] Vehicle/formulation: 0.5% hydroxypropylcellulose

Special features: At the timing of weaning, selected F1 litters from control, 0.05 and 0.15 mg/kg groups were assigned to behavioral/reproductive subset, T cell dependent antibody reaction to KLH i.v. (TDAR) subset or phenotyping subset. All F1 litters from 0.5 mg/kg group were assigned to the behavioral/ reproductive subset due to limited number of pups. Additional histopathological examinations were conducted for uterine horn like tissue of F1 male pups and malocclusion of incisor of F1 adults. External and visceral examination were performed for F1 pups found dead or euthanized between days 0 - 7. Skeletal examinations were performed for F1 pups with suspected abnormalities.

No Observed Adverse-Effect level: F_0 females: 0.05 mg/kg/day (toxicity) F_0 females: 0.05 mg/kg/day (reproductive performance)

F_1 males: 0.05 mg/kg/day F_1 females: 0.05 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
F_0 females	No. evaluated		24	24	24	24
	No. pregnant		23	24	23	24
	No. died or sacrificed moribund		0	0	0	0
	Clinical observations		-	-	-	-
	Necropsy observations		-	-	-	-
	Gestation body weight (%[a])	- GD 20	309.1 g	-3	-2	-11***
	Lactation body weight (%[a])	- LD 21	275.3 g	-2	-4	-5
	Gestation body weight gain (%[a])	- GD 6 - 9	9.7 g	-19	-27*	-25*
		- GD 18 - 20	23.5 g	-5	-7	-110$^{\$\$\$}$
		- GD 6 - 20	90.4 g	-8	-9	-36***
	Lactation body weight gain (%[a])	- LD 0 - 21	39.0 g	+3	-16	-25*
	Gestation food consumption (%[a])	- GD 15 - 18	22.9 g	-3	-6	-13
	Lactation food consumption (%[a])	- LD 10 - 14	61.4 g	-8	-11*	-55***
	Mean duration of gestation (days)		21.5	21.4	21.9$^{\$}$	22.0$^{\$\$\$}$
	Abnormal parturition		0	0	0	2[b]
	Gestation index[c]		100.0	100.0	100.0	91.7

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat					Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
F_1 litters	No. litters evaluated	23	24	23	22
(Preweaning)	Mean no. of implantations	12.0	11.6	11.3	11.1
	Mean no. liveborn pups/litter	11.3	10.6	10.2	4.7$^{\$\$\$}$
	No. of litters with stillborn pups	0	5$^{£}$	2	14$^{£££}$
	No. of stillborn pups	0	8$^{££}$	3	18$^{£££}$
	Live birth index (%)	94.3	91.4	94.1	47.7$^{\$\$\$}$
	Postnatal survival to day 4 (%)	100.0	97.3	89.8$^{\$\$}$	47.9$^{\$\$\$}$
	Postnatal survival to day 7 (%)	100.0	100.0	99.5	89.4$^{\$\$}$
	Postnatal survival to day 14 (%)	100.0	100.0	98.9	82.7$^{\$\$\$}$
	Postnatal survival to weaning (%)	100.0	100.0	98.9	80.1$^{\$\$\$}$
	No. of total litter losses	0	0	0	6
	Mean no. litter size - Day 21	11.3	10.2	9.0	2.1
	Mean pup body weight (%[a]) - Day 4	10.3 g	-5	+1	-16***
	- Day 7	14.9 g	-4	+1	-21$^{\$\$}$
	- Day 21	37.0 g	-2	0	+2
	Pup sex ratios (% males)	48.9	51.5	47.4	42.9
	Pup clinical signs				
	No. pups examined	M:127/F:132	M:131/F:123	M:114/F:121	M:49/F:53
	Dehydration - Day 0 - 4	0/0	0/0	1/3	9/7
	- Day 4 - 23	1/0	0/0	0/1	2/5
	Empty stomach - Day 0 - 4	0/0	1/1	3/4	4/5
	- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/1	0/1
	Thinness - Day 0 - 4	0/0	1/0	1/2	3/3
	- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/1	2/3
	Weakness - Day 0 - 4	0/0	0/0	0/1	1/2
	- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/0	0/1

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat						Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)			0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
F_1 litters	Decreased activity	- Day 0 - 4	1/0	0/0	0/1	1/3
(Preweaning)		- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/0	1/1
(cont.)	Coldness to touch	- Day 0 - 4	0/0	0/0	0/0	0/3
	Abnormal flexure of the left hindlimb	- Day 0 - 4	0/0	0/0	0/0	18/11
		- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/0	1/1
	Abnormal flexure of the right hindlimb	- Day 0 - 4	0/0	0/0	0/0	17/9
		- Day 4 - 23	0/0	0/0	0/0	2/1
	Bent tail	- Day 0 - 4	0/0	0/0	1/0	3/0
		- Day 4 - 23	0/0	0/1	4/2	4/1
	Flat cranium	- Day 4 - 23	0/0	0/0	1/0	10/7
	Malocclusion of the incisors	- Day 4 - 23	0/0	0/0	1/0	0/1
	Physical development					
	Eye opening (days), both sex		14.1	14.2	13.7	13.2[$$$]
	Eye opening (days), female		14.0	14.1	13.6[$]	13.3[$$$]
	Reflexological development					
	Auricular startle response		12.3	12.6	12.4	13.3[$$$]
F_1 litters	External and visceral anomalies:					
(Preweaning)	No. examined		M:0/F:0	M:5/F:9	M:4/F:8	M:24/F:33
(cont.)	Cleft palate		0/0	0/0	0/0	0/1
	Split tongue		0/0	0/0	0/0	0/1
	Truncus arteriosus		0/0	0/0	0/0	1/0
	Subcutaneous edema over entire body		0/0	0/0	0/0	1/3
	Anal atresia		0/0	0/0	0/1	0/0
	Vestigial liver lobe		0/0	0/0	0/1	1/1
	Large spleen		0/0	0/0	0/0	0/1
	Enlarged kidney		0/0	0/0	0/0	0/1

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat					Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
	Areas of edema/hematoma	0/0	0/0	0/0	4/4
	Cranium swollen soft	0/0	0/0	0/0	0/4
	Decreased anogenital distance	0/0	0/0	0/0	5/0
	Enlarged caudal liver lobe	0/0	0/0	0/1	0/0
	Uterine horn like structure, male	0/NA	0/NA	1/NA	10/NA
	Skeletal anomalies	-	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Histopathology	-	-	-	-
F_1 males	No. evaluated postweaning	23	24	22	11
(Postweaning)	No. died or sacrificed moribund	0	0	0	0
	Clinical observations				
	Malocclusion	0	2	2	3
	Flat cranium suspected	0	0	0	1
	Body weight (%[a]) - Day 24	47.4 g	-5	-6	-5
	- Day 119	420.8 g	-4	-6	-6
	Body weight gain (%[a]) - Day 21 - 24	9.1 g	-11	-20*	-49***
	Food consumption (%[a]) - Day 21 - 28	8.2 g	-6	-9	-11
	Preputial separation (days)	42.4	43.0	43.0	44.4
	Visual function				
	Pupillary closure (%)	100.0	100.0	97.7	81.8
	Sensory function	-	-	-	-
	Motor activity	-	-	-	-
	Learning and memory	-	-	-	-
	No. placed for mating	23	24	23[d]	12[d]
	Mean no. days prior to mating	3.3	2.1	2.7	2.8
	No. of males that mated	23	24	21	11

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat					Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
	No. of fertile males	23	24	21	11
	Necropsy observations				
	Tooth - abnormal appearance (malocclusion)	0	1	0	3
	Histopathology				
	No. examined	5	5	5	5
	Bone, mandible - abnormal shape; tooth	0	0	0	2
	Bone, mandible - hemorrhage; tooth	0	0	0	1
	Bone, mandible - necrosis; tooth pulp	0	0	0	1
F_1 females	No. evaluated postweaning	23	24	23	12
(Postweaning)	No. died or sacrificed moribund	0	0	0	0
	Premating clinical observations				
	Malocclusion	0	2	1	6
	Cranium flat suspected	0	0	0	3
	Gestation clinical observations				
	Malocclusion	0	2	2	5
	Cranium flat suspected	0	0	0	1
	Premating body weight (%[a]) - Day 24	45.2 g	-7	0	-11
	- Day 84	208.1 g	-1	+1	-3
	Premating body weight gain (%[a]) - Day 21 - 24	8.3 g	-22	-8	-66***
	Gestation body weight (%[a]) - GD 13	260.4 g	0	+2	-2
	Premating food consumption (%[a]) - Day 21 - 28	7.3 g	-4	0	-16
	Gestation food consumption (%[a]) - GD 10 - 13	21.4 g	-4	-3	-6
	Mean age of vaginal patency (days)	32.1	32.1	31.7	33.7[$]
	Visual function				
	Pupillary closure (%)	100	100	98	67[ff]
	Sensory function	-	-	-	-

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat					Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)		0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
	Motor activity	-	-	-	-
	Learning and memory	-	-	-	-
	Estrous cycle	-	-	-	-
F_1 females	No. placed for mating	23	24	23	12
(Postweaning)	Mean no. days prior to mating	3.3	2.1	2.7	2.8
(cont.)	No. of females sperm positive	23	24	21	11
	No. of pregnant females	23	24	21	11
	Mean no. corpora lutea	13.5	13.3	13.0	13.5
	Mean no. implantations	12.3	12.3	11.9	11.6
	Mean % preimplantation loss	9.8	7.7	8.4	14.7
	Mean no. live conceptuses/litter	11.5	11.6	10.8	10.5
	Mean no. resorptions	0.9	0.6	1.1	1.1
	No. dead conceptuses	0	0	0	0
	Mean % postimplantation loss	7.8	5.1	14.0	12.7
	Necropsy observations				
	Tooth - abnormal appearance (malocclusion)	0	2	2	5
	Histopathology				
	No. examined	4	5	5	5
	Bone, mandible - abnormal shape; tooth	0	0	0	2
	Bone, mandible - necrosis; tooth pulp	1	0	1	1
F1 adults	T-cell dependent antibody response	-	-	-	NA
	Phenotyping				
	No. examined	M:10/F:10	M:10/F:10	M:10/F:10	NA
	Hematology	-	-	-	NA
	Necropsy observations (spleen and thymus)	-	-	-	NA
	Organ weight (spleen and thymus)	-	-	-	NA

2.6.7.14 生殖発生毒性試験（続き）

Report title: An oral (gavage) pre and postnatal study with immunological endpoints in the rat				Study no. 0970449
Daily dose (mg/kg)	0 (Control – Group 1)	0.05 (Group 2)	0.15 (Group 3)	0.5 (Group 4)
Histopathology (spleen and thymus)	-	-	-	NA
Blood immunophenotyping				
Total lymphocyte Counts (cells/µL)	-/5326.7	-/5745.0	-/6405.0	NA
Total T lymphocytes (CD3+) (cells/µL)	-/3317.8	-/3672.8	-/4471.1*	NA
Helper T lymphocytes (CD3+/CD4+) (cells/µL)	-/2632.2	-/2861.2	-/3511.5*	NA
Cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+) (cells/µL)	-/802.4	-/919.7	-/1095.9*	NA
Natural killer cells (CD3-/CD161a+) (cells/µL)	236.1/184.6	240.7/152.9	126.6/127.1	NA
Spleen immunophenotyping				
Total lymphocyte Counts (cells/g $\times 10^6$)	-/111.4	-/141.0	-/178.1**	NA
Total T lymphocytes (CD3+) (cells/g $\times 10^6$)	-/45.7	-/57.3	-/80.7***	NA
Helper T lymphocytes (CD3+/CD4+) (cells/g $\times 10^6$)	-/30.5	-/36.7	-/50.4***	NA
Cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+) (cells/g $\times 10^6$)	23.3/16.7	28.1/21.9	32.2/31.8***	NA
B lymphocytes (CD3-/CD45RA+) (cells/g $\times 10^6$)	-/50.6	-/65.8	-/80.3	NA
Thymus immunophenotyping	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; NA = not applicable, GD = Gestation day, LD = Lactation day; TDAR = T-cell dependent antibody response, Dunnett's test: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, Dunn's test: $^{\$}$ $p \leq 0.05$; $^{\$\$\$}$ $p \leq 0.001$, Fisher's exact test: £ $p \leq 0.05$, ££ $p \leq 0.01$, £££ $p \leq 0.001$.

a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences). b = One female (No. 463) was euthanized on GD 22 due to signs or dystocia. One female (No. 467) that did not litter was euthanized on GD 26. c = No. of rats with live litters/No. of pregnant rats x 100. d = One male was used 2 times for mating with different female.

2.6.7.15 新生児及び幼若動物の発達に関する試験

該当資料なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Rabbit/New Zealand white	Dermal application	Single dose	0.5 g/animal	3M	No skin irritation was caused by 4 hours exposure to BAF312.	Yes	[0970033]	4.2.3.6-1
Rabbit/New Zealand white	Ocular application	Single dose	23.8 mg/animal	3M	Irritation of the conjunctivae (redness, chemosis and discharge; grade 1 or 2) was observed in all animals. The irritation completely resolved within 7 days. Iridial irritation (grade 1) was observed and resolved within 24 hours in all animals. No corneal opacity was observed, and treatment of the eye with 2% fluorescein 24 hours after BAF312 instillation revealed no corneal epithelial damage. No staining of (peri) ocular tissues by BAF312 was observed. Remnants of BAF312 were present in the eye of two animals on Day 1.	Yes	[0970034]	4.2.3.6-2
Rabbit/New Zealand white	i.v. (infusion), i.a. (infusion), perivenous (bolus) (0.005 mg/mL in 0.9% Sodium Chloride)	Single dose	Intravenous: 0, 0.015 mg/kg Intra-arterial: 0, 0.00125 mg/kg Perivenous: 0, 0.0005 mg	2M (control group for intravenous dosing) or 3M	i.v. dosing group: ↓appetite, no feces, ↓activity, backbone prominent and partly closed eye in one male. No BAF312-related local effects based on clinical signs and histopathological examination of the infusion/injection site after a single i.v., i.a. or perivenous administration.	Yes	[1270404]	4.2.3.6-3

M = male, F = female, ↓ = decreased

2.6.7.17A　その他の毒性試験：免疫毒性試験

Species/ strain	Method of administ-ration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compli-ance	Study number	Location in CTD
Rat/Wistar Hannover	Oral gavage (0.5% hydroxy-propyl-cellulose)	4 weeks + 8 weeks recovery	For immunization (+KLH s.c.): 1.5/0.3, 10, 50 For non-immunization: 0, 50	For immunization (+KLH): 10M+10F For non-immunization: 10M+10F (additional 6M+6F for recovery)	**≥1.5(M)/0.3(F):** ↓body weight and body weight gain (except for female 10+KLH group), ↓food consumption hematology: ↓lymphocytes, ↓white blood cell, ↓monocyte, ↓eosinophil, ↓basophil, ↓LUC blood immunophenotyping: ↓total T lymphocytes (CD3+), ↓helper T lymphocytes (CD3+/CD4+), ↓cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+), ↓B lymphocytes (CD45RA+) spleen immunophenotyping: ↓lymphocytes, ↓total T lymphocytes (CD3+), ↓helper T lymphocytes (CD3+/CD4+), ↓cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+), ↓B lymphocytes (CD45RA+) thymus immunophenotyping: ↑lymphocytes, ↑CD3+, ↑CD3+/CD4+/CD8a+, ↑CD3+/CD4-/CD8a+ T-cell dependent antibody reaction: ↓anti-KLH IgM and IgG antibody levels on days 19 (primary reaction) and 29 (secondary reaction). ↓spleen weight (M), Thymus: medullary enlargement containing an increased number of small lymphocytes, Spleen: lymphoid depletion in PALS **50:** ↓spleen weight (F), ↑thymus weight (Non-immunized male), Mesenteric lymph nodes and mandibular lymph nodes: lymphoid depletion in the cortical/paracortical areas (Except for mandibular lymph nodes of male 50+KLH group) Hematology, immunophenotyping and TDAR parameters were reversible following at least 6 weeks of recovery. Other changes were partially or completely reversible after 8 weeks of recovery.	Yes	[0770500]	4.2.3.7.2-1

M = male, F = female, ↓ = decreased, ↑ = increased, KLH = keyhole limpet hemocyanin, PALS = periarteriolar lymphoid sheath areas

2.6.7.17B　その他の毒性試験：毒性発現の機序に関する試験

Species/ strain	Method of administ-ration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
VEC from mice, rats and humans (marketed products)	*In vitro*	NA	BAF312: 0.001 to 30000 nM for mice VEC, 0.001 to 10000 nM for rats and humans VEC. LYS815: 0.0005 to 5000 nM for mice, rats and humans VEC.	NA	BAF312: For mouse VEC, increased cell proliferation (increase in cells labeled with EdU) was observed from 10 nM to 1 µM. PLGF2 release was increased at all concentrations ≥10 nM. Rat and human cells did not respond to BAF312. LYS815: No change in proliferation in any models tested.	No	[1420148]	4.2.3.7.3-1
Mouse/CD1 (ICR)	Oral gavage	1, 3, 7, 14, 28, 91 or 274 days	0, 25, 75	30 or 50M	Hemangiosarcomas were present in liver and testis in two mice treated at 75 mg/kg/day after 274 days of treatment. An increase in plasma concentrations of PLGF-2 and a decrease in soluble endoglin concentrations were observed from days 1 and 28, respectively, until the end of the study without a dose dependency. In skeletal muscle, an up-regulation of *CD93*, *Prn* and *Icam1* was observed from day 1 until the end of the study without a dose dependency. A dose-dependent up-regulation of *CD133* was noted from day 3 onwards until the end of the treatment. A dose-independent up-regulation of *Mki67*, *cdc20* and *Hist1h2ab* was observed from day 3 until the end of the study. An increase of CD93-positive cells was observed among muscle fibers on days 3 and 7. The location and morpholoy of CD93-positive cells matched the proliferaiton marker Ki67 stiaining.	No	[1370782]	4.2.3.7.3-2

2.6.7.17B 毒性発現の機序に関する試験（続き）

Species/ strain	Method of administ-ration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Rat/Wistar Hannover	Oral gavage	1, 3, 7, 14, 28 or 92 days	0, 90	30M	Decreases in body weight gain and food consumption were observed. A transient increase in plasma concentrations of PLGF-2 was noted up to 1 week, but not from week 2 until the end of study. In skeletal muscle, an up-regulation of *CD93*, *Prn* and *Icam1* was observed from day 1 until the end of the study. There was an up-regulation of *CD133* from day 7 onwards until the end of the study. An up-regulation of *Mki67*, *Ccna2* and *Cdk1* was observed on day 3 only. Treatment with BAF312 significantly increased T4-UDP-GT activity in the liver, which was accompanied by centrilobular hepatocellular hypertrophy, thyroid follicular cell hypertrophy and increased plasma TSH concentrations.	No	[1370783]	4.2.3.7.3-3
Mice / C57/BL6	oral	14 days	0, 0.01, 0.3, 10	7F	No compound related effects observed on the melanocytes. 10-fold lower exposure in skin compared to plasma.	No	[0900680]	4.2.3.7.3-4

NA = not applicable, M = male, *Ccna2* = cyclin A2, *cdc20* = cell division cycle 20, *Cdk1* = cyclin-dependent kinase 1, *CD93* = CD93 antigen, *Hist1h2ab* = histone cluster 1, H2ab, *Icam1* = intercellular adhesion molecule 1, *Mki67* = mitosis-specific genes like Ki67, PLGF-2 = placental gworth factor 2, *Prn* = prion protein gene complex, TSH = thyroid-stimulating hormone, T4-UDP-GT = thyroxine-uridine diphosphate glucuronosyl transferase

2.6.7.17C その他の毒性試験：光毒性試験

Species/strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
3T3 mouse fibroblast cells	*In vitro*	NA	0.316, 1.0, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 316 and 1000 µg/mL	NA	PIF values were 1.2 and 1.0 in Range-Finder Experiment and Main Experiment, respectively. BAF312 was non-phototoxic in this *in vitro* test system when tested up to the limit of solubility in HBSS.	Yes	[1770654]	4.2.3.7.7-1

2.6.7.17D その他の毒性試験：皮膚感作性試験

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Mouse/Balb/c	Epidermal application to the dorsal surface of both ears	3 consecutive days	0.5, 5, 50% (25 µL/ear)	6F	Slight irritation was noted after visual examination in the animals treated at 0.5 and 5%. Animals at 50% showed slight and/or well-defined irritation or test item remnants hampered scoring. A statistically significant increase in ear weight was noted at 50%. BAF312 did not cause increases in lymph node weights and cell counts when compared to the vehicle control. BAF312 does not appear as a lymph node activator up to 50% with a weak irritating potential at 50% in the murine local lymph node assay TIER I.	Yes	[0970036]	4.2.3.7.7-2

2.6.7.17E その他の毒性試験：依存性試験

Study type	Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Physical dependence study	Rat/ Wistar Hannover	Oral gavage	4 weeks + 8 days recovery	0, 0.3, 1, 50, 150 (M) 0, 0.15, 0.5, 10, 50 (F)	6M 6F	Diazepam (positive control): withdrawal syndrome upon cessation of dosing. BAF312: No withdrawal syndrome	Yes	[1570351]	4.2.3.7.4-1
Drug discrimination study	Rat/ Lister Hooded	Oral gavage	2 times/ week[a]	0, 0.3, 1, 50, 150 (M) 0, 0.15, 0.5, 10, 50 (F)	8M 6 or 7F	Amphetamine and Midazolam: Discriminative stimulus properties. BAF312: No discriminative stimulus properties	Yes	[1270591]	4.2.3.7.4-2
Self-administration study	Rat/ Lister Hooded	i.v. (self-administration)	5 days (each test article substitution : up to 2 hrs)	0, 0.01, 0.05, 0.4 mg/kg/infusion	7M 7F	Substitution (for cocaine) with BAF312 exhibited a response pattern that was comparable with vehicle substitution or extinction-like. The pattern of response was significantly different to that of cocaine and was considered not reinforcing.	Yes	[1270590]	4.2.3.7.4-3

a = Substitution (test) days took place on a Wednesday and Friday. On Mondays, Tuesdays, and Thursdays, saline or training drug was administered.

2.6.7.17F その他の毒性試験：不純物の試験

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compli-ance	Study number	Location in CTD
Salmonella typhimurium/ TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物A * 12.71 – 4237.29 µg/plate	NA	Treatment with the 不純物A * increased the number of revertants in strain TA100 (+S9). A maximum factor of 2.95 over the corresponding negative control was seen at 423.73 µg/plate. Test item showed evidence of a mutagenic potential.	No	[0912575]	4.2.3.7.6-1
Salmonella typhimurium TA1535, TA97, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物B * 1.7 – 5000 µg/plate	NA	1.5- to 10-fold, dose related increases were observed in two tester strains, in the absence (TA97) and presence of S9-mix (TA97 and TA102). Test item showed evidence of a mutagenic potential.	Yes	[506537]	4.2.3.7.6-2
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物C * 16 – 5000 µg/plate	NA	Increases in the revertant numbers of at least 2-fold the concurrent vehicle controls were observed at 5000 µg/plate in strain TA1535 in the absence and presence of S-9 and in strain TA97a in the absence of S-9. Test item showed evidence of a mutagenic potential.	No	[1512516]	4.2.3.7.6-3
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物D * 1.6 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[1112610]	4.2.3.7.6-4
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物E * 6.25 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[0912573]	4.2.3.7.6-5

＊ 承認情報提供時に置き換えた

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compli-ance	Study number	Location in CTD
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物F * 16 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[1612595]	4.2.3.7.6-6
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物G * 16 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[1612593]	4.2.3.7.6-7
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物H * 15 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[0912574]	4.2.3.7.6-8
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物I * 15 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[0912576]	4.2.3.7.6-9
Salmonella typhimurium TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102	*In vitro*	NA	不純物J * 16 – 5000 µg/plate	NA	Test item did not show evidence of mutagenic potential.	No	[1612594]	4.2.3.7.6-10

＊ 承認情報提供時に置き換えた

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compli-ance	Study number	Location in CTD
Rat/Wistar Hannover	Oral gavage	28 days	TOX1/BAF312: 0, 15, 50 (batch No. 16/1, spiked with the impurities 010-10, 026-09 and 027-09 at [redacted]%) BAF312: 50 (batch No. 1010010893)	10F 10M	Toxicity: Toxicity and exposure profiles were comparable between the two batches and consistent with those known from previous toxicity studies in rat. Micronucleus test: TOX1/BAF312 at 50 mg/kg/day did not induce micronuclei in the reticulocytes of peripheral blood.	Yes	[1670150]	4.2.3.7.6-11

NA = not applicable