目次

2.6.6　毒性試験の概要文 ----7
2.6.6.1　まとめ ----7
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 ----8
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 ----9
2.6.6.1.3 遺伝毒性試験 ----10
2.6.6.1.4 がん原性試験 ----10
2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験 ----10
2.6.6.1.6 局所刺激性試験 ----11
2.6.6.1.7 その他の毒性試験 ----11
2.6.6.2　単回投与毒性試験 ----12
2.6.6.2.1 ラットを用いた単回皮下投与及び静脈内投与毒性試験 ----12
2.6.6.3　反復投与毒性試験 ----12
2.6.6.3.1 マウスを用いた 15 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（IPM1 製剤） ----12
2.6.6.3.2 ラットを用いた 7 日間反復皮下投与毒性試験 ----12
2.6.6.3.3 ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験----13
2.6.6.3.4 ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験----14
2.6.6.3.5 ミニブタを用いた 14 日間反復経皮投与毒性試験----15
2.6.6.3.6 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤） ----15
2.6.6.3.7 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤） ----16
2.6.6.3.8 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 21 日間回復性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤） ----17
2.6.6.3.9 ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤） ----17
2.6.6.4　遺伝毒性試験 ----18
2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験 ----18
2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験----19
2.6.6.5　がん原性試験 ----19
2.6.6.5.1 マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤） ----19
2.6.6.5.2 マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤） ----20
2.6.6.5.3 ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験----21
2.6.6.5.4 ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験 ----22
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 ----23
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 ----23
2.6.6.6.2 胚及び胎児発生に関する試験----24
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 ----26
2.6.6.6.4 新生児を用いた試験----27
2.6.6.7　局所刺激性試験 ----27
2.6.6.7.1 ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験（IPM1 製剤） ----27
2.6.6.7.2 ウサギを用いた 7 日間皮膚累積刺激性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤） ----28

2.6.6.8　その他の毒性試験 ---- 28
2.6.6.8.1 皮膚感作性試験 ---- 28
2.6.6.8.2 不純物の毒性試験 ---- 29
2.6.6.8.3 その他の試験 ---- 32
2.6.6.9　考察及び結論 ---- 33
2.6.6.9.1 単回投与毒性 ---- 33
2.6.6.9.2 反復投与毒性 ---- 33
2.6.6.9.3 遺伝毒性 ---- 34
2.6.6.9.4 がん原性 ---- 35
2.6.6.9.5 生殖発生毒性 ---- 36
2.6.6.9.6 局所刺激性 ---- 37
2.6.6.9.7 皮膚感作性 ---- 37
2.6.6.9.8 不純物の毒性 ---- 37
2.6.6.10　参考文献---- 38

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム ----7
表 2.6.6-2　反復投与毒性試験における曝露量と臨床曝露量との比 ---- 33
表 2.6.6-3　がん原性試験における曝露量と臨床曝露量との比 ---- 35
表 2.6.6-4　生殖発生毒性試験の無毒性量における曝露量と臨床曝露量との比---- 36

略号一覧

略号	省略していない表現
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリフォスファターゼ）
ALT	Alanine aminotransferase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
AST	Aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
AUC	Area under the plasma concentration-time curve（血漿中濃度-時間曲線下面積）
AUC_{0-23}	投与後 0 時間から 23 時間までの AUC
AUC_{0-24}	投与後 0 時間から 24 時間までの AUC
AUC_{0-t}	投与後 0 時間から検出可能な時点までの AUC
AUC_{last}	投与後 0 時間から最終測定時点までの AUC
C_{max}	Maximum plasma concentration（最高血漿中濃度）
DB20	[redacted]（[redacted]添加剤）
E. coli	*Escherichia coli*（大腸菌）
FOB	Functional observational battery（機能観察総合評価法）
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 Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
IPM	Isopropyl myristate（ミリスチン酸イソプロピル）
LLNA 法	Local Lymph Node Assay 法（局所リンパ節試験法）
NZW 系ウサギ	New Zealand White（ニュージーランドホワイト）系ウサギ
OD_{490}	490 nm の波長で測定した光学密度（Optical Density）
SD 系ラット	Sprague Dawley 系ラット
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*（ネズミチフス菌）
T_{max}	Time to reach C_{max}（最高血漿中濃度到達時間）

用語一覧

用語	定義
BBI-4000 gel	BBI-4000 のゲル製剤
DB20 製剤	BBI-4000 gel の 1 製剤。[redacted]添加物を含む
IPM1 製剤	BBI-4000 gel の 1 製剤 [redacted]添加物を IPM に置き換えた
IPM2 製剤	BBI-4000 gel の 1 製剤。IPM1 製剤から[redacted]をした
サテライト群	本試験動物と同一の条件で飼育・処置する群。主にトキシコキネティクス測定に使用する
不純物含 BBI-4000	不純物を添加した BBI-4000

CTD 第 2 部表記と第 4 部表記（ロット番号）の対応（1/2）

試験物質	試験の種類	含量	製剤ロット番号	資料番号
DB20 製剤	ミニブタ 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）	Placebo 0%	[redacted]	4.2.3.2-7
		20%		
	ミニブタ 39 週間反復経皮投与毒性試験	Placebo 0%		4.2.3.2-9
		Placebo 0%		
		Placebo 0%		
		Placebo 0%		
		Placebo 0%		
		5%		
		5%		
		5%		
		5%		
		5%		
		10%		
		10%		
		10%		
		10%		
		10%		
		20%		
		20%		
		20%		
		20%		
		20%		
	マウス 13 週間反復経皮投与用量設定試験	Placebo 0%		4.2.3.4.1-1
		5%		
		10%		
		20%		

CTD 第 2 部表記と第 4 部表記（ロット番号）の対応（2/2）

試験物質	試験の種類	含量	製剤ロット番号	資料番号
IPM1 製剤	マウス 15 日間反復経皮投与毒性試験	Placebo 0%	[redacted]	4.2.3.2-1
		5%		
		10%		
		20%		
	ミニブタ 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）	Placebo 0%		4.2.3.2-7
		20%		
	ミニブタ 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）	Placebo 0%		4.2.3.2-8
		20%		
	マウス 104 週間反復経皮投与がん原性試験	Placebo 0%		4.2.3.4.1-2
		Placebo 0%		
		5%		
		5%		
		10%		
		10%		
		20%		
		20%		
	ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験	Placebo 0%		4.2.3.6-1
		20%		
	ウサギ 7 日間皮膚累積刺激性試験	15%		4.2.3.6-2
IPM2 製剤	ミニブタ 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）	Placebo 0%		4.2.3.2-8
		20%		
		20%		
	ウサギ 7 日間皮膚累積刺激性試験	15%		4.2.3.6-2
	マウス局所リンパ節試験	Placebo 0%		4.2.3.7.1-2
		5%		
		10%		
		20%		

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

BBI-4000 の臨床適用経路は腋窩への塗布であるため、ミニブタを用いた反復投与毒性試験、マウスを用いたがん原性試験は経皮投与により実施した。また、全身曝露による影響を評価するため、ラットを用いた単回投与毒性試験は皮下投与及び静脈内投与、ラットを用いた反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、ラットを用いたがん原性試験は皮下投与により実施した。これらの試験と遺伝毒性試験、局所刺激性試験及び皮膚感作性試験は、ICH ガイドラインに従い、GLP を遵守して実施した。また、不純物の反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した。

毒性試験の一覧を以下に示す（表 2.6.6-1）。

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム（1/2）

試験の種類	投与経路、期間	動物種	被験物質	GLP 適用	資料番号
単回投与毒性試験					
	皮下及び静脈内、単回	ラット	BBI-4000	非適／参考	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験					
	経皮、15 日間（回復 14 日間）	マウス	IPM1 製剤	適／参考	4.2.3.2-1
	皮下、7 日間	ラット	BBI-4000	非適／参考	4.2.3.2-2
	皮下、28 日間（回復 14 日間）	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.2-3
	皮下、26 週間	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.2-4
	経皮、14 日間	ミニブタ	BBI-4000 gel	非適／参考	4.2.3.2-5
	経皮、28 日間（回復 14 日間）	ミニブタ	DB20 製剤	適	4.2.3.2-6
	経皮、28 日間（回復 14 日間）	ミニブタ	DB20 製剤及び IPM1 製剤	適	4.2.3.2-7
	経皮、28 日間（回復 21 日間）	ミニブタ	IPM1 製剤及び IPM2 製剤	適	4.2.3.2-8
	経皮、39 週間	ミニブタ	DB20 製剤	適	4.2.3.2-9
遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験	*in vitro*	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	BBI-4000	適	4.2.3.3.1-1
染色体異常試験	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球	BBI-4000	適	4.2.3.3.1-2
小核試験	皮下、単回	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.3.2-1
がん原性試験					
用量設定試験	経皮、13 週間	マウス	DB20 製剤	適	4.2.3.4.1-1
	皮下、13 週間	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.4.1-3
がん原性試験	経皮、104 週間	マウス	IPM1 製剤	適	4.2.3.4.1-2
	皮下、104 週間	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.4.1-4

（続く）

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム（2/2）

試験の種類	投与経路、期間	動物種	被験物質	GLP 適用	資料番号
生殖発生毒性試験					
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	皮下 雄：交配 4 週前～剖検前日まで（48～51 日間） 雌：交配 2 週前～妊娠 7 日まで	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験）	皮下、妊娠 6～17 日	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.5.2-1
	皮下、妊娠 6～19 日	ウサギ	BBI-4000	適	4.2.3.5.2-3
胚・胎児発生に関する試験（本試験）	皮下、妊娠 6～17 日	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.5.2-2
	皮下、妊娠 6～19 日	ウサギ	BBI-4000	適	4.2.3.5.2-4
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（用量設定試験）	皮下、妊娠 6 日～授乳 10 日	ラット	BBI-4000	非適／参考	4.2.3.5.3-1
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（本試験）	皮下、妊娠 6 日～授乳 20 日	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.5.3-2
新生児を用いた試験	皮下、生後 7～98 日（回復 4 週間）	ラット	BBI-4000	適	4.2.3.5.4-1
局所刺激性試験					
眼刺激性試験	10 分間	ウシ角膜	IPM1 製剤	適	4.2.3.6-1
皮膚累積刺激性試験	経皮、7 日間	ウサギ	IPM1 製剤及び IPM2 製剤	非適／参考	4.2.3.6-2
その他の毒性試験					
皮膚感作性試験					
皮膚感作性試験	Buehler 法、経皮 感作：3 回 誘発：1 回	モルモット	DB20 製剤	適	4.2.3.7.1-1
局所リンパ節試験	LLNA 法、経皮 3 日間	マウス	IPM2 製剤	適	4.2.3.7.1-2
不純物の毒性試験					
[redacted]不純物の毒性試験					
反復投与毒性試験	皮下、28 日間	ラット	BBI-4000、BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2	適	4.2.3.7.6-1
復帰突然変異試験	*in vitro*	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	BBI-4000-B1	適	4.2.3.7.6-2
	in vitro	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	BBI-4000-B2	適	4.2.3.7.6-3
染色体異常試験	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球	BBI-4000-B1	適	4.2.3.7.6-4
	in vitro	ヒト末梢血リンパ球	BBI-4000-B2	適	4.2.3.7.6-5

2.6.6.1.1　単回投与毒性試験

ラットを用いた単回投与毒性試験（皮下投与：25 及び 50 mg/kg、静脈内投与：1 及び 25 mg/kg）では、BBI-4000 の静脈内投与 25 mg/kg 群で死亡が認められた。皮下投与（25 及び 50 mg/kg）では投与部位でびらん、変色等の変化が認められた。両投与経路で BBI-4000 の抗コリン作用による散瞳が認められた。

2.6.6.1.2　　反復投与毒性試験

マウスを用いた15日間反復経皮投与毒性試験（IPM1製剤、0、84、171及び354 mg/kg/day）では、BBI-4000 gelによる影響は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに354 mg/kg/dayと推定された。

ラットを用いた7日間反復皮下投与毒性試験（0、10及び20 mg/kg/day）では、BBI-4000の抗コリン作用による散瞳が認められた。投与部位では痂皮、変色等の変化が認められた。最大耐量は雌雄ともに20 mg/kg/dayと推定された。

ラットを用いた28日間反復皮下投与毒性試験（0、1、5及び10 mg/kg/day）では、BBI-4000の抗コリン作用による散瞳が認められた。投与部位では痂皮及び変色が認められ、病理組織学的検査では筋変性／再生等の炎症性所見が認められた。最高用量の10 mg/kg/day群では、投与部位の炎症と関連した白血球数、フィブリノーゲン、AST、ALT等の高値が認められた。これらの所見は、14日間の休薬により回復又は回復傾向を示した。無毒性量は雌雄ともに5 mg/kg/dayと推定された。

ラットを用いた26週間反復皮下投与毒性試験（0、0.5、1.5及び5 mg/kg/day）では、BBI-4000の薬理作用に起因すると考えられる死亡が1.5 mg/kg/day群（雄1例、雌2例）及び5 mg/kg/day群（雄1例）で認められた。BBI-4000投与群の全例で抗コリン作用による散瞳が認められた。病理組織学的検査では筋線維の変性／壊死が媒体対照群、1.5及び5 mg/kg/day群で認められた。また、血液学的検査で認められた白血球数及びリンパ球数の増加は投与局所の炎症と関連した変化と考えられた。無毒性量は雌雄ともに0.5 mg/kg/dayと推定された。

ミニブタを用いた14日間反復経皮投与毒性試験（0、17.90及び36.05 mg/kg/day）では、BBI-4000 gelによる明らかな影響は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに17.90 mg/kg/dayと推定された。

ミニブタを用いた28日間反復経皮投与毒性試験（DB20製剤、0、32及び66 mg/kg/day）では、投与部位に軽微な紅斑が認められたが、14日間の休薬により回復した。他に毒性所見は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに66 mg/kg/dayと推定された。

ミニブタを用いた28日間反復経皮投与毒性試験（DB20製剤及びIPM1製剤、各0及び76 mg/kg/day）では、BBI-4000 gel（IPM1製剤）20%群（76 mg/kg/day）の雌1例で急性の特異体質アレルギー反応によるものと考えられる皮膚状態の悪化が認められたため、安楽死処置した。DB20製剤の媒体を塗布した雄の投与群を除いたいずれの群でも、投与部位に軽微な紅斑が認められた。全身毒性を示唆する所見は認められなかった。

ミニブタを用いた28日間反復経皮投与毒性試験［IPM1製剤及びIPM2製剤、雄：76 mg/kg/day（IPM1製剤）及び75 mg/kg/day（IPM2製剤）、雌：77 mg/kg/day（IPM1製剤）及び76 mg/kg/day（IPM2製剤）］では、BBI-4000 gel（IPM1製剤）20%群（77 mg/kg/day）の雌1例で投与刺激によるものと考えられる皮膚状態の悪化が認められたため安楽死処置した。媒体対照群を含め、すべての群の投与部位に紅斑、浮腫、落屑及び痂疲が認められた。全身毒性を示唆する所見は認められなかった。

ミニブタを用いた39週間反復経皮投与毒性試験（DB20製剤、0、16、32及び67 mg/kg/day）では、16 mg/kg/day群の雌1例で直腸脱が認められたため安楽死処置した。本事象にはBBI-4000 gel投与との因果関係はないと考えた。投与部位では、媒体対照群及びすべてのBBI-4000投与群で一過性の紅斑及び浮腫が低頻度で認められた。病理組織学的検査では、投与部位の上皮の肥厚及び潰瘍、腋窩リンパ節の赤血球貪食が、媒体対照群及びすべての

BBI-4000 投与群で認められた。上皮の肥厚及び潰瘍は反復投与による上皮の傷害／修復変化であり、腋窩リンパ節の赤血球貪食はこれに伴う二次的な変化と考えられた。無毒性量は雌雄ともに 67 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.1.3　　遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験で、BBI-4000 に遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.1.4　　がん原性試験

マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤、0、83、169 及び 355 mg/kg/day）では、169 及び 355 mg/kg/day 群の雄で生存動物数が減少したため、169 mg/kg/day 群の雄では投与 92 週目に投与を中止し、355 mg/kg/day 群の雄では投与 78 週目に投与を中止して投与 90 週目には剖検した。生存率は、雄の 83、169 及び 355 mg/kg/day 群並びに雌の 355 mg/kg/day 群で対照群に比較して有意に低かった。死亡は主に BBI-4000 の薬理作用による腸管輸送能の変化に起因すると考えられた。病理組織学的検査では、BBI-4000 gel 投与に関連する腫瘍性病変は認められなかった。BBI-4000 gel 投与に関連した非腫瘍性病変として、直腸の管腔拡張及び投与部位の表皮過形成が認められた。

ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験（雄：0、0.3、0.75 及び 1.5 mg/kg/day、雌：0、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）では、生存率に BBI-4000 投与の影響は認められなかった。途中死亡した雄の 17 例及び雌の 30 例では上部消化管／気道に食餌が認められ、BBI-4000 の薬理作用による死亡と考えられた。病理組織学的検査では、BBI-4000 投与に関連する腫瘍性病変は認められなかった。非腫瘍性病変については、媒体対照群を含むすべての群の投与部位で炎症性変化及び変性が認められ、5 mg/kg/day 群の雌では表皮過形成が認められた。

以上の結果から、BBI-4000 はがん原性を有さないと判断した。

2.6.6.1.5　　生殖発生毒性試験

ラットを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生試験（0、1、3 及び 10 mg/kg/day）では、受胎能及び初期胚発生に BBI-4000 の影響は認められなかったことから、無毒性量は 10 mg/kg/day と推定された。

ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（0、1、3 及び 10 mg/kg/day）では、母動物に問題となる毒性は認められず、胚・胎児発生にも BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。無毒性量は母動物に対して 10 mg/kg/day、胚・胎児発生に対して 10 mg/kg/day と推定された。

ウサギを用いた皮下投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（0、0.4、2 及び 10 mg/kg/day）では、0.4 mg/kg/day 群の 1 例を瀕死期殺した。胚・胎児発生には BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。無毒性量は母動物に対して 0.4 mg/kg/day 未満、胚・胎児発生に対して 10 mg/kg/day と推定された。

ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（0、1、3 及び 6 mg/kg/day）では、母動物に問題となる毒性は認められず、出生児にも BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。母動物、生殖能及び出生児に対する無毒性量は 6 mg/kg/day と推定された。

幼若ラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験（0、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）では、BBI-4000 に関連した変化は 5 mg/kg/day 群の雌雄の投与部位に限定され、全身毒性は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.1.6　局所刺激性試験

ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験では、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%の眼に対する刺激性（不可逆的な影響）が示唆された。ウサギを用いた 7 日間皮膚累積刺激性試験では、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）と BBI-4000 gel（IPM2 製剤）の皮膚刺激性の差は小さいと考えられた。

2.6.6.1.7　その他の毒性試験

2.6.6.1.7.1　皮膚感作性試験

モルモットを用いた皮膚感作性試験（DB20 製剤）及びマウスを用いた局所リンパ節試験（IPM2 製剤）では、BBI-4000 gel による感作性を示唆する所見は認められなかった。

2.6.6.1.7.2　不純物の毒性試験

原薬中に含まれる可能性のある不純物のうち BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 に関しては、ラットを用いた反復皮下投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験を実施した。ラット反復皮下投与毒性試験［0、1 及び 10 mg/kg/day（BBI-4000 及び不純物含 BBI-4000）］では、BBI-4000 の抗コリン作用による散瞳と、被験物質の刺激性による投与局所の炎症性変化がみられたが、その程度に BBI-4000 群及び不純物含 BBI-4000 群の間で差は認められなかった。遺伝毒性試験では、BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 に遺伝毒性は認められなかった。

製剤中に含まれる可能性のある不純物のうち D2-1 に関しては、その安全性は BBI-4000 の毒性試験で評価されており、臨床使用において製剤中に含有される D2-1 の毒性が問題となる可能性は低いと考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットを用いた単回皮下投与及び静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.1-1（参考）

1. 試験方法

7～9 週齢の SD 系雄ラットを用い、生理食塩液に溶解させた BBI-4000 を単回皮下（25 及び 50 mg/kg、3 例/群）又は単回静脈内［1（6 例/群）及び 25 mg/kg（1 例/群）］投与した。

2. 試験成績

静脈内投与 25 mg/kg 群の 1 例が投与直後に死亡した。一般状態では、皮下投与 25 及び 50 mg/kg 群で投与部位にびらん、腫脹又は変色が認められた。皮下投与群（25 及び 50 mg/kg）及び静脈内投与群（1 mg/kg）の全動物で投与後 1 時間で抗コリン作用による散瞳が認められた。剖検では皮下投与群の投与部位でびらん、変色、皮下組織の肥厚及び変色並びに筋組織の肥厚が認められた。

皮下投与群の血漿中 BBI-4000 濃度は、25 mg/kg 群では投与後 4 時間まで、50 mg/kg 群では投与後 8 時間まで定量上限を上回った（> 200 ng/mL）。以降、血漿中濃度は低下し、投与後 24 時間で 25 mg/kg 群では 3.27 ng/mL、50 mg/kg 群では 13.05 ng/mL であった。

静脈内投与群（1 mg/kg）の血漿中 BBI-4000 濃度は、投与後 0.25 時間で 75.3 ng/mL であり、それ以降低下し、投与後 24 時間には定量下限を下回った（< 0.500 ng/mL）。静脈内投与群の血漿中 BBI-4010 濃度は、投与後 0.25 時間で 10.4 ng/mL であり、以降の時点では定量下限を下回った（< 5 ng/mL）。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 マウスを用いた 15 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（IPM1 製剤）

資料番号 4.2.3.2-1（参考）

1. 試験方法

5 週齢の ICR 系雌雄マウスを用い、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%（媒体対照）、5%、10%及び 20%（0、84、171 及び 354 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%、2 mL/kg）に 1 日 1 回、15 日間反復経皮投与した（4 例/性別/群）。また、回復性試験として各群 14 日間の回復期間を設けた（2 例/性別/群）。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。投与部位の所見、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学検査、剖検所見、器官重量、病理組織学的所見において毒性を示唆する所見は回復期間を通じて認められなかったことから、本試験の無毒性量は雌雄ともに 354 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.2 ラットを用いた 7 日間反復皮下投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-2（参考）

1. 試験方法

8 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（10 及び 20 mg/kg/day）を 1 日 1 回、7 日間反復皮下投与した（2 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血は、投与 1 及び 7 日目に実施した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。臨床的徴候は投与部位に限定され、10 mg/kg/day 群では雄 1 例で皮膚の変色、痂皮及び挫傷が認められた。20 mg/kg/day 群では、雄 2 例及び雌 1 例で皮膚の変色、全動物で痂皮、挫傷及び肥厚が認められた。体重に影響はなかった。抗コリン作用による散瞳は投与 7 日目の投与前（20 mg/kg/day 群）及び投与後 1 時間（10 及び 20 mg/kg/day 群）に認められた。剖検では 10 mg/kg/day 群で投与部位の痂皮、変色が、20 mg/kg/day 群で投与部位の変色、肥厚、痂皮、皮下組織の変色が認められた。

血漿中 BBI-4000 濃度は、10 mg/kg/day 群で、投与 1 日目の投与後 0.5 時間で 774～1040 ng/mL、投与 7 日目の投与後 0.5 時間で 1020～4170 ng/mL であり、以降低下し投与後 24 時間では 1.39～1.91 ng/mL であった。20 mg/kg/day 群では、投与 7 日目の投与後 24 時間を除いて、すべての時点で定量上限を上回っていた（> 200 ng/mL）。投与 7 日目の投与後 24 時間では 1.91～2.81 ng/mL であった。

以上の結果から、本試験の最大耐量は 20 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.3　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

資料番号 4.2.3.2-3

1. 試験方法

9 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（1、5 及び 10 mg/kg/day）を 1 日 1 回、28 日間反復皮下投与した（8 例/性別/群）。また、回復性試験として媒体対照群、5 及び 10 mg/kg/day 群には 14 日間の回復期間を設けた（4 例/性別/群）。更に、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、媒体対照群では 3 例/性別、1、5 及び 10 mg/kg/day 群では 9 例/性別/群に 27 日間反復皮下投与し、投与 1 及び 27 日目に採血（3 例/時点）した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。摂餌量、眼科的検査（角膜混濁度評価）及び尿検査で BBI-4000 投与に関連した影響は認められなかった。

毒性徴候は投与部位に限定され、5 mg/kg/day 群の皮膚に痂皮が、10 mg/kg/day 群で皮膚の変色及び痂皮が認められた。体重増加の抑制は 5 及び 10 mg/kg/day 群の雄で認められた。抗コリン作用による散瞳はすべての BBI-4000 投与群で投与 27 日目の投与後 0.5～1 時間に顕著に認められた。

血液学的検査では 10 mg/kg/day 群の雄で白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数及び好酸球数の高値が認められた。また、5 mg/kg/day 群の雄及び 10 mg/kg/day 群の雌雄ではフィブリノーゲンの高値が認められた。これらの変化は回復期間中に消失した。血液生化学検査では、10 mg/kg/day 群の雄で投与部位の筋変性／再生と相関する ALT 及び AST の高値が認められた。10 mg/kg/day 群の雌ではコレステロールの高値が認められた。これらの変化は回復期間中に消失した。

BBI-4000 に関連した剖検所見として、10 mg/kg/day 群の投与部位で変色及び痂皮が認められた。これらの変化は回復期間後の剖検では消失していた。臓器重量への影響は認められなかった。

病理組織学的検査でも BBI-4000 に関連した変化は投与部位に限定され、全身器官の変化はなかった。BBI-4000 による変化は、筋変性／再生、炎症性細胞浸潤、線維増殖、皮

下神経線維変性、漿液細胞性痂皮、出血、皮脂腺萎縮、扁平上皮過形成、皮下浮腫、皮下血栓、筋層／皮下の線維化、潰瘍／びらん及び筋再生が認められた。病変の発現と重篤度から 10 mg/kg/day 群での変化は毒性徴候と判定された。回復期間後の剖検では、10 mg/kg/day 群で筋萎縮及び筋層／皮下の線維化が、5 及び 10 mg/kg/day 群では筋再生が認められた。これらは投与終了時の剖検で認められた所見の修復性変化と考えられた。また、回復期間後に炎症性細胞浸潤、皮下神経線維変性、漿液細胞性痂皮及び潰瘍は、媒体対照群と比較して 5 又は 10 mg/kg/day 群で高い頻度で認められた。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{last} は用量に応じて増加した。なお、本試験のトキシコキネティクス測定の ISR（incurred sample reanalysis）は試験内で設定した基準を満たさなかったことから、BBI-4000 及び BBI-4010 の血漿中濃度測定値は参考値とした。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.4　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-4

1. 試験方法

5～6 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）を 1 日 1 回、26 週間反復皮下投与した（12 例/性別/群）。またトキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、媒体対照群では 3 例/性別、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day 群では 6 例/性別/群に 26 週間反復皮下投与し、投与 1 日目及び 26 週目に採血（3 例/時点）した。

2. 試験成績

サテライト群で 4 例の死亡が認められた。このうち 3 例［5 mg/kg/day 群の雄 1 例（投与 1 日目に死亡）及び 1.5 mg/kg/day 群の雌 2 例（投与 1 及び 8 日目に死亡）］で喘ぎ呼吸が認められ、剖検では口腔及び咽頭内に血液及び床敷が認められた。1.5 mg/kg/day 群の雄 1 例（投与 23 週目に死亡）は、一般状態に変化は認められなかったが、剖検でガス状の胃内容物及び食餌が口腔内に認められた。これらの死亡は BBI-4000 の薬理作用によるものと考えられた。

一般状態では、1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雌雄で投与 1 週目に投与後に吐くような動作、立毛等の変化が認められた。投与 26 週目に実施した瞳孔径の検査では、投与 0.5～1 時間後に BBI-4000 投与群の全例で抗コリン作用による散瞳が認められた。なお、0.5 mg/kg/day 群では、散瞳を除き BBI-4000 投与に関連した変化は認められなかった。

投与部位では、投与 11～12 週目に 1.5 mg/kg/day 群の雌 1 例及び 5 mg/kg/day 群の雄 1 例で軽度の紅斑が認められた。投与 26 週目には 5 mg/kg/day 群の雌 1 例で明瞭な紅斑が認められた。投与期間中、5 mg/kg/day 群の雄 5 例及び雌 2 例で痂皮が認められた。これらは一時的な変化であった。

体重測定では、すべての BBI-4000 投与群の雄で体重増加量の抑制が認められ、媒体対照群と比較して 1.5 及び 5 mg/kg/day 群では有意な変化であった。1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雌でも対照群と比較して体重増加量の抑制が認められたが、有意な変化ではなかった。

摂餌量では、すべての BBI-4000 投与群の雌雄で媒体対照群と比較して摂餌量の低下が認められたが、有意な変化ではなかった。

眼科的検査では、BBI-4000 の投与による変化は認められなかった。

血液学的検査では、白血球数、リンパ球数、好塩基球数及び大型非染色球数の高値が1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雌で投与 13 及び 26 週目に認められた。これらの変化は投与部位での炎症性細胞浸潤によるものと考えられた。

血液生化学検査では、クレアチニンの低値がすべての BBI-4000 投与群の雄で投与 13 及び 26 週目に認められた。

尿検査では、pH の上昇が 5 mg/kg/day 群の雄で投与 13 及び 26 週目に認められた。

器官重量及び病理学的検査（肉眼的検査及び病理組織学的検査）では、BBI-4000 の投与による変化は認められなかった。背部皮下の筋線維の変性／壊死が、雌雄の媒体対照群、1.5 及び 5 mg/kg/day 投与群で認められたが、反復皮下投与による局所刺激によるものと考えられた。

BBI-4000 及び BBI-4010 の $AUC_{0\text{-}24}$ は用量に応じて増加した。

1.5 及び 5 mg/kg/day 群で計 4 例が死亡した。また、1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雄で体重増加量の抑制が認められた。以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 0.5 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.5　　ミニブタを用いた 14 日間反復経皮投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-5（参考）

1. 試験方法

5 ヵ月齢の Göttingen 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel 0%（媒体対照）、10%及び 20%（0、17.90 及び 36.05 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%）に 1 日 1 回 2 mL、14 日間反復経皮投与した（1 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血は、投与 1 及び 14 日目に実施した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。また、一般状態、皮膚刺激性、体重、心拍数、瞳孔径、瞳孔対光反射、血液学的検査、血液生化学検査及び剖検所見への影響は認められなかった。肝臓、脾臓及び精巣の重量は 36.05 mg/kg/day 群の雄で減少したが、BBI-4000 gel との因果関係は不明であった。

17.90 及び 36.05 mg/kg/day 群の T_{max} は投与 1 日目では 12～24 時間、投与 14 日目では 0～2 時間であった。17.90 mg/kg/day 群と 36.05 mg/kg/day 群では投与量は約 2 倍であるが、C_{max} 及び AUC_{last} は約 2 倍を上回った。BBI-4000 gel の反復投与により AUC_{last} の増加傾向が認められた。曝露量は、17.90 mg/kg/day 群では雌と比較し雄で高く、36.05 mg/kg/day 群では雄と比較し雌で高かった。消失半減期については、算出不可能であった。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 17.90 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.6　　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤）

資料番号 4.2.3.2-6

1. 試験方法

3～5 ヵ月齢の Sinclair 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel（DB20 製剤）0%（媒体対照）、10%及び 20%（0、32 及び 66 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%）に 1 日 1 回 5 mL、28 日間反復経皮投与した（3 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血

は、投与 1、7、14 及び 28 日目に実施した。回復性試験として 0、32 及び 66 mg/kg/day 群には 14 日間の回復期間を設けた（2 例/性別/群）。

また、投与を実施しない無処置群も設定した（2 例/性別/群）。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。また、一般状態、体重、摂餌量、心電図検査、眼科的検査、瞳孔対光反射、呼吸数、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検所見、器官重量、病理組織学的所見への影響は認められなかった。投与部位の所見として、投与期間終了時に 0、32 及び 66 mg/kg/day 群に軽微な紅斑が認められた。回復期間後に BBI-4000 gel に関連した影響は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の AUC_{last} は用量に応じて増加した。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 66 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.3.7　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）

資料番号 4.2.3.2-7

1. 試験方法

4～5 ヵ月齢の Göttingen 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel（DB20 製剤）20%（76 mg/kg/day）及び BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%（76 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%、0.43 mL/kg）に 1 日 1 回、28 日間反復経皮投与した（3 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血は、投与 1 及び 28 日目に実施した。回復性試験として各群 14 日間の回復期間を設けた（1 例/性別/群）。なお、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群の雌では投与期間中に 1 例が安楽死処置となったため、当該群の回復性試験動物を投与終了時に剖検した。

また、両製剤の媒体（0%）を同一個体の背部に投与する媒体対照群（1 例/性別）を設定し、DB20 製剤を右側、IPM1 製剤を左側の背部皮膚（200 cm^2、各 2 mL）に 1 日 1 回、28 日間反復経皮投与した。回復性試験として各群 14 日間の回復期間を設けた（1 例/性別）。

2. 試験成績

BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群の雌 1 例で、投与 16 日目に投与部位の皮膚状態の悪化（滲出液、亀裂及び痂皮を伴う潰瘍）が認められたため安楽死処置した。前日まで異常所見は認められず、また同じ投与群の他の動物では軽微な皮膚所見のみが認められたことから、当該動物の所見は急性の特異体質アレルギー反応によるものと考えられた [1)]。

投与部位の所見として、DB20 製剤の媒体を塗布した雄の投与群を除いた両製剤のいずれの投与群でも軽微な紅斑が認められた。投与部位の病理組織学的な所見として、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群で軽微から軽度の表皮滲出が認められた。また、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%及び 20%群で、DB20 製剤投与群に比較して錯角化の増加が認められた。これらの変化は錯角化を除き、回復期間中に回復した。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、器官重量、病理組織学的所見で全身毒性を示唆する所見は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の $AUC_{0\text{-}24}$ は、DB20 製剤投与群に比較して IPM1 製剤投与群でそれぞれ 2.8 倍及び 1.7 倍高かった。

2.6.6.3.8　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 21 日間回復性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）

資料番号 4.2.3.2-8

1. 試験方法

3～4 ヵ月齢の Göttingen 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%（雄：76 mg/kg/day、雌：77 mg/kg/day）及び BBI-4000 gel（IPM2 製剤）20%（雄：75 mg/kg/day、雌：76 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%、0.43 mL/kg）に 1 日 1 回、4 週間反復経皮投与した（3 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血は、投与 1、15 及び 28 日目に実施した。回復性試験として各群 21 日間の回復期間を設けた（1 例/性別/群）。

また、両製剤の媒体（0%）を同一個体の背部に投与する媒体対照群（1 例/性別）を設定し、IPM1 製剤を右側、IPM2 製剤を左側の背部皮膚（200 cm^2、各 2 mL）に 1 日 1 回、4 週間反復経皮投与した。回復性試験として各群 21 日間の回復期間を設けた（1 例/性別）。

2. 試験成績

BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群の雌 1 例で、投与 14 日目に投与部位の皮膚状態の悪化（紅斑、亀裂、痂皮及び浮腫）が認められたため安楽死処置した。皮膚所見は投与部位に限局していたことから、当該動物の所見は投与刺激によるもので全身毒性によるものではないと考えられた。

投与部位の所見として、媒体対照群を含め、すべての群で軽微～明瞭な紅斑及び浮腫、落屑、痂疲が認められた。BBI-4000 gel（IPM1 及び IPM2 製剤）20%群では中等度～重度の紅斑が認められた。これらの変化は落屑を除き、回復期間中に回復した。

投与部位の病理組織学的な所見として、皮脂腺の過形成、過角化、潰瘍形成及び炎症が認められた。これらの所見は媒体対照群と BBI-4000 gel（IPM1 及び IPM2 製剤）20%群間で差は認められなかった。これらの変化は回復期間中に回復した。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、骨髄検査、剖検、器官重量、病理組織学的所見で全身毒性を示唆する所見は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の $AUC_{0\text{-}23}$ は、BBI-4000 gel（IPM1 及び IPM2 製剤）20%群間で差異は認められなかった。

2.6.6.3.9　ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）

資料番号 4.2.3.2-9

1. 試験方法

14～16 週齢の Göttingen 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel（DB20 製剤）0%（媒体対照）、5%、10%及び 20%（0、16、32 及び 67 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%、0.38 mL/kg）に 1 日 1 回、39 週間反復経皮投与した（4 例/性別/群）。またトキシコキネティクスの採血は、投与 1 日目及び 39 週目に実施した。

2. 試験成績

16 mg/kg/day 群の雌 1 例で、投与 24 日目に直腸脱が認められたため安楽死処置した。本事象には BBI-4000 gel 投与との因果関係はないと考えた。

投与部位では、媒体対照群及びすべての BBI-4000 投与群で一過性で軽微から中等度の紅斑及び浮腫が低頻度で認められた。

血液学的検査では、すべての BBI-4000 投与群の雌で網赤血球数の減少が認められたが、赤血球数の変化を伴っておらず、毒性徴候ではないと考えられた。

器官重量では、32 及び 67 mg/kg/day 群で体重に対する脾臓相対重量増加が認められたが、他の検査で脾臓の毒性を示唆する変化が認められなかったことから毒性徴候ではないと考えられた。

病理学的検査では、BBI-4000 gel の投与による肉眼的変化は認められなかった。病理組織学的検査では、投与部位の上皮の肥厚及び潰瘍、腋窩リンパ節の赤血球貪食が、媒体対照群及びすべての BBI-4000 投与群で認められた。上皮の肥厚及び潰瘍は反復投与による上皮の傷害／修復変化であり、腋窩リンパ節の赤血球貪食はこれに伴う二次的な変化と考えられた。

体重、摂餌量、眼科的検査、心電図検査、血液生化学検査、尿検査では、BBI-4000 gel の投与による変化は認められなかった。また、BBI-4000 投与群で散瞳は認められなかった。

BBI-4000 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量に応じて増加した。BBI-4000 の全身曝露に性差は認められなかった。なお、BBI-4010 はいずれの投与群及び性別でも、ほとんどの時点で定量下限未満であったため、C_{max} 及び AUC_{0-24} は算出していない。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 67 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.3.1-1

1. 試験方法

BBI-4000 の遺伝子突然変異誘発性の有無は、ネズミチフス菌の TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株、大腸菌の WP2*uvrA* 株を用いて、代謝活性化系非存在下及び存在下の条件で評価した。用量設定試験の結果から、すべての菌株で 5000 µg/plate を最高用量とし、1500、500、150 及び 50 µg/plate の 5 用量を設定した。

2. 試験成績

BBI-4000 処理では、いずれの菌株でも代謝活性化の有無に関らず、復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、BBI-4000 の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断した。

2.6.6.4.1.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

資料番号 4.2.3.3.1-2

1. 試験方法

BBI-4000 の染色体異常誘発性の有無は、ヒト末梢血リンパ球を用いて評価した。用量設定試験の結果から、代謝活性化系非存在下及び存在下での 4 時間処理並びに代謝活性化系非存在下での 20 時間処理で、470 µg/mL（1 mmol/L）を最高用量として 350、150 及び 50 µg/mL の 4 用量を設定した。それぞれの試験系及び処理濃度で、200 個のリンパ球を観察し、分裂中期細胞での染色体の構造異常及び数的異常の有無を検査した。

2. 試験成績

高用量側で必要な用量数（3 用量）の評価が実施できたため、50 µg/mL 用量の標本観察は実施しなかった。観察対象となったすべての条件で染色体構造異常及び数的異常は認められなかった。したがって、BBI-4000 の染色体異常誘発性は陰性と判断した。

2.6.6.4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1　ラットを用いた小核試験

資料番号 4.2.3.3.2-1

1. 試験方法

BBI-4000 の *in vivo* での染色体異常誘発性は、ラット骨髄細胞の染色体異常誘発性を指標として評価した。SD 系雄性ラット（5 例/群）を用い、生理食塩液及び BBI-4000（115、225 及び 550 mg/kg）を皮下投与した（5 mL/kg 用量で 2 ヵ所）。また、陽性対照物質としてシクロホスファミド（40 mg/kg）を単回経口投与した（10 mL/kg）。投与後 24 時間に大腿骨の骨髄塗抹標本を作製し（アクリジンオレンジ蛍光染色標本）、個体当たり 2000 個の多染性赤血球に対して小核の有無を検索した。なお、生理食塩液投与群及び BBI-4000 550 mg/kg 投与群では投与後 48 時間にも骨髄塗抹標本を作製した（5 例/群）。

2. 試験成績

一般状態観察では BBI-4000 投与により 550 mg/kg の用量で立毛が低頻度で認められた。小核含有細胞の観察では、BBI-4000 はいずれの投与量でも陰性対照に対し、有意な小核出現頻度の増加は認められなかった。シクロホスファミドでは、有意な小核出現頻度の増加が認められた。

以上の結果から、ラット骨髄細胞に対する BBI-4000 の染色体異常誘発性は陰性と判断した。

2.6.6.5　がん原性試験

2.6.6.5.1　マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤）

資料番号 4.2.3.4.1-1

1. 試験方法

5～6 週齢の ICR 系雌雄マウスを用い、BBI-4000 gel（DB20 製剤）0%（媒体対照）、5%、10%及び 20%（0、83、168 及び 353 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%、2 mL/kg）に 1 日 1 回、13 週間反復経皮投与した（12 例/性別/群）。また、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、媒体対照群では雄 6 例及び雌 12 例、83、168 及び 353 mg/kg/day ではそれぞれ雄 18 例/群及び雌 36 例/群に 13 週間反復経皮投与し、投与 1 日目及び 13 週目に採血（3 例/時点）した。

2. 試験成績

毒性評価群で 3 例、サテライト群で 6 例の死亡又は瀕死が認められた。このうち、サテライト群の 2 例［83 mg/kg/day 群の雌（投与 40 日目に死亡）及び 353 mg/kg/day 群の雄（投与 1 日目に死亡）］では、口腔及び食道あるいは咽頭内に食餌が認められたことから BBI-4000 の薬理作用により死亡したと考えられた。これらの 2 例を除き、死亡又は瀕死は BBI-4000 gel 投与との因果関係はないと考えた。

体重、摂餌量及び血液学的検査に関しては BBI-4000 gel 投与に起因した変化は認められなかった。

血液生化学検査では、ALP 活性の上昇が 168 及び 353 mg/kg/day 群の雌で認められた。また、コレステロールの低値が 353 mg/kg/day 群の雄で、カリウムの高値がすべての BBI-4000 投与群の雄で認められた。また、アルブミンの高値及び α1 グロブリンの低値が 168 及び 353 mg/kg/day 群の雄で認められ、結果としてアルブミン/グロブリン比が高値となった。また、すべての BBI-4000 投与群の雌で α2 グロブリンの高値が認められた。

器官重量、部検所見及び病理組織学的所見への影響は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} ともに用量に応じた増加は認められなかった。また、BBI-4000 の曝露量に性差は認められず、反復投与による曝露量の変化も認められなかった。BBI-4010 の曝露量は雄に比較して雌で低く、反復投与により増加した。

83 mg/kg/day 群で BBI-4000 に起因した死亡が認められたことから、本試験の無毒性量は 83 mg/kg/day 未満と推定された。

2.6.6.5.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）

資料番号 4.2.3.4.1-2

1. 試験方法

5 週齢の ICR 系雌雄マウスを用いた。試験群として、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%（媒体対照）、5%、10%及び 20%（0、83、169 及び 355 mg/kg/day）投与群と、精製水を投与する陰性対照群を設けた。投与用量は、マウス 13 週間反復経皮投与用量設定試験の結果に基づいて設定した。背部皮膚（総体表面積の 10%、2 mL/kg）に 1 日 1 回、104 週間反復経皮投与した（63 例/性別/群）。169 及び 355 mg/kg/day 群の雄で投与期間中に生存動物数が 20 例（生存率 32%）に到達したため、355 mg/kg/day 群の雄では投与 78 週目、169 mg/kg/day 群の雄では投与 92 週目に投与を中止した。また、355 mg/kg/day 群の雄で休薬期間中に生存動物数が 15 例（生存率 24%）に到達したため、投与 90 週目に剖検した。トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、陰性対照群、媒体対照群、83、169 及び 355 mg/kg/day 群に 26 週間反復経皮投与（12 例/性別/群）し、投与 13 及び 26 週目に採血（3 例/時点）した。

2. 試験成績

生存率は、雄の 83、169 及び 355 mg/kg/day 群並びに雌の 355 mg/kg/day 群で陰性及び媒体対照群に比較して有意に低かった。死亡した雄の剖検及び病理組織学的検査では、宿便とそれに関連した所見（腸管の拡張、潰瘍／びらん、粘膜過形成、炎症性変化）が認められ、死亡は主に BBI-4000 の薬理作用による腸管輸送能の変化に起因すると考えられた。

一般状態観察では、355 mg/kg/day 群の雌で投与 1 週目に主として吐くような動作、不規則呼吸が数例に認められた。すべての BBI-4000 投与群の雄で、一般状態の悪化を示す所見（主として体温低下、痩せ、円背、半閉眼）が、169 及び 355 mg/kg/day 群の雌では呼吸促迫が媒体対照群に比較して高頻度で認められた。また、すべての BBI-4000 投与群において、雌雄ともに糞便量の減少が、雄では軟便が認められた。これらは BBI-4000 gel 投与に関連した変化と考えられた。腫瘤の触診では、BBI-4000 gel 投与の影響は認められなかった。

投与部位では、紅斑を示す個体が 355 mg/kg/day 群の雌雄で陰性及び媒体対照群に比較してわずかに増加した。また、雄の 83、169 及び 355 mg/kg/day 群並びに雌の 355 mg/kg/day 群で皮膚の暗色化が認められた。

体重測定では、雄の 169 及び 355 mg/kg/day 群で投与期間中に体重増加量の抑制が認められたが、休薬期間中の体重増加量は媒体対照群でおおむね変化が認められないのに対して増加を示した。また、雌の体重推移及び雌雄の摂餌量に BBI-4000 gel 投与の影響は認められなかった。

血液学的検査及び剖検では、BBI-4000 gel 投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、BBI-4000 gel 投与に関連する腫瘍性病変は認められなかった。BBI-4000 gel 投与に関連した非腫瘍性病変は、直腸及び投与部位で認められた。直腸の管腔拡張は雌雄で認められ、その発現頻度は 83 mg/kg/day 群の雄でわずかに増加した。また、BBI-4000 投与群の雌の投与部位では、BBI-4000 の局所刺激性に関連した所見として、異型性や腫瘍への進展を示さない軽度の表皮過形成が認められた。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}23}$ は、用量に応じて増加した。曝露量は、BBI-4000 では雄に比較して雌でおおむね高く、BBI-4010 では性差は認められなかった。また、反復投与による BBI-4000 及び BBI-4010 の曝露量の増加は認められなかった。

以上の結果から、BBI-4000 gel をマウスに 104 週間経皮投与しても腫瘍を誘発しなかった。雄では、宿便及びそれに関連した腸管の病理組織学的変化（拡張、潰瘍／びらん、粘膜過形成、炎症性変化）に起因する死亡が認められた。また、169 及び 355 mg/kg/day 群の雄で認められた体重増加抑制は上記所見の二次的変化と推察され、雄で認められた死亡は主に BBI-4000 の薬理作用によるものと考えられた。雌では、BBI-4000 gel の投与に起因する所見として、異型性や腫瘍への進展を示さない軽度の表皮過形成がすべての用量の投与部位において認められた。

2.6.6.5.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験

資料番号 4.2.3.4.1-3

1. 試験方法

6～7 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）を 1 日 1 回、13 週間反復皮下投与した（10 例/性別/群）。また、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、媒体対照群では 3 例/性別、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day 群では 6 例/性別/群に 13 週間反復皮下投与し、投与 1 日目及び 13 週目に採血（3 例/時点）した。

2. 試験成績

サテライト群の雄 1 例（0.5 mg/kg/day 群）で投与 1 日目に死亡が認められた。本動物では、食道、口腔及び咽頭内に食餌が認められたことから BBI-4000 の薬理作用により死亡したと考えられた。また、サテライト群の雄 1 例（1.5 mg/kg/day 群）で、投与 1 日目の投与後 30 分に反応性の消失及び一時的な呼吸停止が認められ、同群の雄 1 例で投与 2 時間後に鎮静化及び半閉眼が認められた。さらに、投与 5 日目に 1.5 mg/kg/day の雄 1 例で喘ぎ呼吸、流涎、乾性ラッセル音及び振戦が認められた。

一般状態では、散瞳がすべての BBI-4000 投与群の雌雄で認められた。その他、半閉眼、立毛、自発運動の低下、反復運動、喘ぎ呼吸、縮瞳が低頻度で認められた。投与部位の所見として、投与 6 週目から一過性の紅斑及び浮腫が 5 mg/kg/day 群の雌雄で認められた。

体重増加の抑制は 5 mg/kg/day の雄で認められた。

摂餌量及び眼科的検査では、BBI-4000 投与による影響は認められなかった。

血液学的検査では、白血球数、リンパ球数、好塩基球数の高値が 1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雌で投与 6 週目に認められた。また、大型非染色球数の増加が 5 mg/kg/day 群の雌で投与 6 週目に認められた。これらは投与 13 週目には回復した。血小板数の増加がすべての BBI-4000 投与群の雌で、投与 6 及び 13 週目に認められた。血液学的検査の変化は、投与部位の変化による二次的なものであると考えられた。

血液生化学検査では、尿素の高値が 5 mg/kg/day 群の雌で投与 6 及び 13 週目に認められた。クレアチニンの低値がすべての BBI-4000 投与群の雄で投与 6 週目に認められたが、投与 13 週目に回復した。また、カリウムの低値が、5 mg/kg/day 群の雄で投与 6 週目に認められ、投与 13 週目にはすべての BBI-4000 投与群の雌で認められた。

尿検査では、クレアチニンの低値が 5 mg/kg/day 群の雄で、投与 6 及び 13 週目で認められた。

器官重量では、体重に対する脾臓相対重量の高値が 5 mg/kg/day 群の雌雄で、副腎の絶対重量の低値が 5 mg/kg/day 群の雄で認められた。また、解剖検査では、投与部位の肥厚が 5 mg/kg/day 群の雌で認められた。

病理組織学的検査では、媒体対照群を含むすべての群の投与部位で、表皮及び真皮に炎症性細胞浸潤、表皮のびらん／潰瘍、皮下出血、皮下炎症性細胞浸潤及び皮下線維化が認められ、これらは反復皮下投与による変化と考えられた。また、皮筋での筋線維の変性／壊死が 5 mg/kg/day 群の雌雄で高頻度に認められた。本所見は、反復皮下投与による変化を BBI-4000 が増強したものと考えられた。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量に応じて増加した。BBI-4000 及び BBI-4010 のいずれも曝露量に性差は認められなかった。反復投与により BBI-4000 及び BBI-4010 の曝露量は経日的に増加した。

以上の結果、BBI-4000 に起因した所見として、体重増加量の抑制が 5 mg/kg/day 群の雄で、死亡動物が 0.5 mg/kg/day 群の雄で認められた。したがって、本試験の無毒性量は 0.5 mg/kg/day 未満と推定された。

2.6.6.5.4　　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験

資料番号 4.2.3.4.1-4

1. 試験方法

5～6 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（雄：0.3、0.75 及び 1.5 mg/kg/day、雌：0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）を 1 日 1 回、104 週間反復皮下投与した（72 例/性別/群）。投与用量は、ラット 13 及び 26 週間反復皮下投与毒性試験の結果に基づいて設定した。また、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、各群（雄：0、0.3、0.75 及び 1.5 mg/kg/day、雌：0、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）に 26 週間反復皮下投与（6 例/性別/群）し、投与 13 及び 26 週目に採血（4 例/時点）した。

2. 試験成績

生存率に BBI-4000 投与の影響は認められなかった。媒体対照群も含め、すべての投与群で途中死亡が認められ、雄に比較して雌で高頻度であった。途中死亡動物の剖検及び病理組織学的検査では、主な死因として下垂体前葉に腺腫が認められ、雌では乳腺腫瘍も認められた。これら腫瘍の発現頻度は用量に依存せず媒体対照群でも同等以上の頻度で認められたことから、BBI-4000 投与との関連はないと考えられた。また、雄の 17 例及び雌の 30 例では上部消化管／気道に食餌が認められた。本所見に用量との関連性は認められなかったが、BBI-4000 を用いた他の毒性試験でも認められていることから、BBI-4000 の薬理作用によるものと考えられた。

一般状態では、投与 0.5～1 時間後にすべての BBI-4000 投与群で薬理作用に起因すると考えられる散瞳が認められた。また、腫瘤の触診では BBI-4000 投与の影響は認められなかった。

投与部位では、5 mg/kg/day 群の雌で挫傷、紅斑、痂皮及び浮腫が媒体対照群に比較して高頻度で認められ、挫傷は 0.5 及び 1.5 mg/kg/day 群の雌でも認められた。

体重測定では、5 mg/kg/day 群の雌では投与期間を通じて、0.5 及び 1.5 mg/kg/day 群の雌では投与 16 週目以降に、媒体対照群に比較して体重増加量が減少した。雄では、0.75 及び 1.5 mg/kg/day 群で投与 8～80 週目の体重増加量が減少した。

摂餌量は、1.5 及び 5 mg/kg/day 群の雌で投与期間中にわずかに減少したが、雄では変化は認められなかった。雌における摂餌量の減少はわずかであったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。

眼科的検査、血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査では、毒性学的意義のある変化は認められなかった。また、剖検では BBI-4000 投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、BBI-4000 投与に関連する腫瘍性病変は認められなかった。非腫瘍性病変については、媒体対照群を含むすべての群の投与部位で炎症性変化及び変性が認められ、5 mg/kg/day 群の雌では表皮過形成が認められた。表皮過形成は BBI-4000 の反復投与による局所刺激性に関連したものと考えられ、異型性や腫瘍への進展を示す所見を伴わなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、用量に応じて増加した。また、反復投与による BBI-4000 及び BBI-4010 の曝露量の変化は認められなかった。

以上の結果から、BBI-4000 をラットに 104 週間皮下投与しても腫瘍を誘発しなかった。すべての BBI-4000 投与群において発生した途中死亡は、BBI-4000 の薬理作用による上部消化管／気道への食餌の貯留が原因と考えられた。また、投与部位では BBI-4000 の局所刺激性による病理組織学的所見が認められた。5 mg/kg/day 群の雌では、異型性や腫瘍への進展を示さない表皮過形成が投与部位において認められた。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

資料番号 4.2.3.5.1-1

1. 試験方法

8 週齢の SD 系雄ラット（22 例/群）及び 7 週齢の SD 系雌ラット（22 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1、3 及び 10 mg/kg/day）を 1 日 1 回皮下投与した。投与期間は、雄は交配 4 週間前から剖検前日までの 48～51 日間、雌は交配 2 週間前から妊娠 7 日目までとした。交配前及び交配期間中は、性周期検査及び生殖機能検査を行った。雄では雌の剖検終了後に剖検、生殖器重量測定及び精子検査を、雌では妊娠 14 日目に剖検及び帝王切開検査を行った。また、雄では投与 1 日目及び 7 週目、雌では投与 1 日目及び妊娠 7 日目に採血し、BBI-4000 及び BBI-4010 のトキシコキネティクス評価を行った（3 例/群）。

2. 試験成績

1 mg/kg/day 群の雄で 1 例の死亡が認められた（投与 1 日目）。本動物では、死亡前に啼鳴及び喘ぎ呼吸が認められたが、剖検により死因は特定されなかった。

BBI-4000 投与後に 10 mg/kg/day 群の雄 1 例（投与 1 日目）及び 1 mg/kg/day 群の雌 1 例（妊娠 5 日目）で喘ぎ呼吸が認められたが、その後回復した。投与部位では、10 mg/kg/day

群で紅斑、痂皮形成及び浮腫が認められ、これらの発現頻度は雌より雄で高かった。また、媒体対照群、1 及び 3 mg/kg/day 群で紅斑及び痂皮形成が散見された。体重測定では、すべての BBI-4000 投与群の雄で投与 1～46 日目に体重増加量の減少、10 mg/kg/day 群の雌で投与 1～4 日目に体重減少が認められた。摂餌量は、すべての BBI-4000 投与群の雄で投与 1～28 日目に減少し、すべての BBI-4000 投与群の雌で投与 1～3 日目に減少した。これら体重及び摂餌量に認められた変化は、生殖発生毒性を評価する本試験においては問題となる毒性ではないと考えられた。剖検では、10 mg/kg/day 群の雄で投与部位に痂皮形成及び投与部位皮下に暗色部が認められた。性周期検査、生殖機能検査、帝王切開検査、精子検査及び生殖器重量では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、用量に応じて増加した。

以上の結果から、受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.6.2　胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

資料番号 4.2.3.5.2-1

1. 試験方法

10 週齢の SD 系雌ラット（8 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1、5 及び 10 mg/kg/day）を妊娠 6～17 日目（着床から硬口蓋閉鎖までの期間）の 12 日間、1 日 1 回皮下投与した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。5 及び 10 mg/kg/day 群で、投与部位の痂皮形成、体重及び摂餌量の減少が認められた。剖検、妊娠子宮重量、帝王切開検査及び胎児検査では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、ラット胚・胎児発生に関する試験では 10 mg/kg/day を最高用量とし、以下 3 及び 1 mg/kg/day を設定した。

2.6.6.6.2.2　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

資料番号 4.2.3.5.2-2

1. 試験方法

10～11 週齢の SD 系雌ラット（20 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1、3 及び 10 mg/kg/day）を妊娠 6～17 日目（着床から硬口蓋閉鎖までの期間）の 12 日間、1 日 1 回皮下投与した。妊娠 20 日目に病理学的検査（剖検及び妊娠子宮重量測定）、帝王切開検査及び胎児検査を実施した。また、投与 1 及び 12 日目（妊娠 6 及び 17 日目）に採血し、BBI-4000 及び BBI-4010 のトキシコキネティクス評価を行った（3 例/群）。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。一般状態観察では、3 mg/kg/day 群の 1 例で、投与 1 日目（妊娠 6 日目）の投与直後に喘ぎ呼吸が認められたが、投与 1～2 時間後には消失した。投与部位では、10 mg/kg/day 群で紅斑及び痂皮形成が低頻度で認められ、投与部位の皮下組織では暗色部が認められた。体重測定では、すべての BBI-4000 投与群で投与 2 日目（妊娠 7 日目）に体重が減少し、10 mg/kg/day 群で投与 2 日目～投与終了後 1 日目（妊娠 7～18 日目）に体重増加量の減少が認められた。摂餌量は、すべての BBI-4000

投与群で投与 1～12 日目（妊娠 6～17 日目）に減少した。これら一般状態、投与部位、体重及び摂餌量に認められた変化は、その程度又は生殖発生毒性を評価する試験であることを考慮すると、問題となる毒性ではないと考えられた。剖検、妊娠子宮重量、帝王切開検査及び胎児検査では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、用量に応じて増加した。

以上の結果から、母動物に対する無毒性量は 10 mg/kg/day、胚・胎児発生に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.6.2.3　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

資料番号 4.2.3.5.2-3

1. 試験方法

21～22 週齢の NZW 系雌ウサギ（8 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（0.5、2.5 及び 10 mg/kg/day）を妊娠 6～19 日目（着床から硬口蓋閉鎖までの期間）の 14 日間、1 日 1 回皮下投与した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。2.5 及び 10 mg/kg/day 群で、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。投与部位では、特記すべき所見は認められなかった。剖検、妊娠子宮重量、帝王切開検査及び胎児検査では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、ウサギ胚･胎児発生に関する試験では 10 mg/kg/day を最高用量とし、以下 2 及び 0.4 mg/kg/day を設定した。

2.6.6.6.2.4　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

資料番号 4.2.3.5.2-4

1. 試験方法

21～23 週齢の NZW 系雌ウサギ（22 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（0.4、2 及び 10 mg/kg/day）を妊娠 6～19 日目（着床から硬口蓋閉鎖までの期間）の 14 日間､1 日 1 回皮下投与した｡妊娠 29 日目に病理学的検査(剖検及び妊娠子宮重量測定)、帝王切開検査及び胎児検査を実施した｡また､投与 1 及び 14 日目（妊娠 6 及び 19 日目）に採血し、BBI-4000 及び BBI-4010 のトキシコキネティクス評価を行った（3 例/群)。

2. 試験成績

0.4 mg/kg/day 群の 1 例を投与 9 日目（妊娠 14 日目）に瀕死期殺した。本動物では喘ぎ呼吸が認められた。剖検では口腔及び食道内に糞便様物質が認められ、BBI-4000 の薬理作用に起因した所見と考えられた。

BBI-4000 の薬理作用に起因したその他の所見として、すべての BBI-4000 投与群で散瞳、2 及び 10 mg/kg/day 群の全例で耳介の冷感又は温感が認められた。投与部位では、媒体対照群を含むすべての群で紅斑及び挫傷、10 mg/kg/day 群で浮腫が認められた。体重測定では、投与 1 日目～投与終了後 1 日目（妊娠 6～20 日目）に 10 mg/kg/day 群で体重の減少が、2 mg/kg/day 群で体重増加量の減少が認められた。摂餌量は、2 及び 10 mg/kg/day 群で投与 1～14 日目（妊娠 6～19 日目）に減少した。体重及び摂餌量への影響は、投与終了後には回復した。剖検、妊娠子宮重量、帝王切開検査及び胎児検査では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、用量に応じて増加した。

以上の結果、0.4 mg/kg/day 群で BBI-4000 の薬理作用に起因した瀕死が認められ、母動物に対する無毒性量は 0.4 mg/kg/day 未満、胚・胎児発生に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1　ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する用量設定試験

資料番号 4.2.3.5.3-1（参考）

1. 試験方法

10 週齢の SD 系雌ラット（6 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1、3 及び 10 mg/kg/day）を妊娠 6 日目～授乳 10 日目（着床から離乳前までの期間）、1 日 1 回皮下投与した。母動物は自然分娩させた。

2. 試験成績

死亡例は認められなかった。10 mg/kg/day 群で、投与部位の紅斑及び痂皮形成、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。妊娠期間は正常で、すべての動物が生存児を出産した。

以上の結果、投与部位の変化から 10 mg/kg/day はラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験での用量として適切ではないと考えられた。したがって、当該試験の最高用量は 6 mg/kg/day に設定し、以下 3 及び 1 mg/kg/day を設定した。

2.6.6.6.3.2　ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

資料番号 4.2.3.5.3-2

1. 試験方法

10 週齢の SD 系雌ラット（22 例/群）を用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1、3 及び 6 mg/kg/day）を妊娠 6 日目～授乳 20 日目（着床から離乳までの期間）、1 日 1 回皮下投与した。母動物は自然分娩させ（出生児：F1 動物）、授乳 21 日目に剖検した。F1 動物は生後 21 日目に雌雄各 20 例/群を選別し、選別されなかった動物は剖検した。選別された F1 動物は交配及び自然分娩させ（出生児：F2 動物）、授乳 14 日目に剖検した。F2 動物は生後 14 日目に剖検した。

2. 試験成績

母動物で死亡した動物は認められなかった。一般状態観察では、1 及び 3 mg/kg/day 群の各 1 例並びに 6 mg/kg/day 群の 2 例で投与後に喘ぎ呼吸が認められた。本所見は BBI-4000 を用いた他試験でも認められており BBI-4000 投与に関連した変化であると考えられた。しかし、本所見の発現は一過性で当該動物はその後回復しており、生殖発生毒性を評価する本試験においては問題となる毒性ではないと判断した。投与部位では、媒体対照群を含むすべての群で痂皮形成が認められた。体重測定では、6 mg/kg/day 群で妊娠期間中に体重増加量の減少が認められたが、授乳期間中の体重増加量は増加した。

F1 動物では、3 例の死亡が認められたが、BBI-4000 投与に関連しない死亡又は難産による死亡と考えられた。体重測定では、3 及び 6 mg/kg/day 群で生後 1～21 日目に体重増加量の減少が認められた。

母動物及び F1 動物で認められたこれら変化は軽微であることから、毒性学的意義は

ないと考えられた。その他の母動物、F1 動物（反射検査、機能及び行動検査並びに生殖機能検査）及び F2 動物の各検査において、特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、母動物、生殖能及び出生児に対する無毒性量は 6 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.6.4　新生児を用いた試験

2.6.6.6.4.1　幼若ラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

資料番号 4.2.3.5.4-1

1. 試験方法

7 日齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）又は BBI-4000（0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day）を 1 日 1 回、13 週間（生後 7～98 日目）反復皮下投与した（5 例/性別/群）。また、回復性試験として各群 4 週間（生後 126 日まで）の回復期間を設けた（5 例/性別/群）。更に、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、媒体対照群では 6 例/性別、0.5、1.5 及び 5 mg/kg/day 群では 16 例/性別/群に反復皮下投与し、投与 1 及び 92 日目（生後 7 及び 98 日目）に採血（3～4 例/時点）した。

2. 試験成績

死亡した動物は認められなかった。病理組織学的検査では、BBI-4000 に関連した変化は 5 mg/kg/day 群の雌雄の投与部位に限定され、皮筋に単核細胞性の炎症及び変性／壊死が認められた。皮下組織では炎症細胞浸潤が認められたが、その発現頻度及び程度は媒体対照群と同様であった。また、BBI-4000 投与群の雄 1 例で皮筋に筋線維の萎縮、雌 1 例で筋線維の再生が認められた。病理組織学的検査における各所見は、回復期間後の剖検では消失していた。

一般状態、体重、摂餌量、離乳前の発達検査（開眼、聴覚性驚愕反応、正向反射、瞳孔収縮）、性成熟検査、眼科検査、機能観察総合評価法（FOB）所見、学習及び記憶検査（Morris 水迷路）、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、器官重量、大腿骨長では、BBI-4000 に起因する変化は認められなかった。

BBI-4000 及び BBI-4010 の C_{max} 及び AUC_{0-t} は、用量に応じて増加した。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/day と推定された。

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験（IPM1 製剤）

資料番号 4.2.3.6-1

1. 試験方法

ウシの眼球から摘出した角膜を用いて Bovine Corneal Opacity and Permeability（BCOP）法により刺激性を評価した。生理食塩液（陰性対照）、エタノール（陽性対照）、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%（媒体）及び 20%を用い（3 例/群）、それぞれの被験物質を 750 µL ずつウシ角膜に滴下し、10 分間処置した。被験物質処理後に、角膜全細胞層を貫通するフルオロセインナトリウム色素量から透過性を、角膜を通過する透過光の量から混濁度を求め、陰性対照の測定値で補正した。これらの数値から *in vitro* 刺激性スコア（*In Vitro* Irritancy Score、IVIS）を算出した。なお、IVIS は以下の計算式から算出した。

IVIS = 平均混濁度 +（15 × 平均透過率 OD_{490} 値）

2. 試験成績

BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%及び BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%の処置後、角膜は不透明となり、生理食塩液（陰性対照）に比較して透過性及び混濁度の上昇が認められた。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）0%及びエタノールの IVIS はそれぞれ 50.2 ± 1.2 及び 39.1 ± 2.9 であり、「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）」の刺激性区分で予測不可に識別された。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%の IVIS は 61.0 ± 9.8 であり、GHS の刺激性区分で区分 1 に識別された。

以上の結果から、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%は眼に対する不可逆的な影響を有すると考えられた。

2.6.6.7.2　ウサギを用いた 7 日間皮膚累積刺激性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）

資料番号 4.2.3.6-2（参考）

IPM2 製剤は、IPM1 製剤から軽微な処方変更をした製剤である。処方変更による局所刺激性への影響を確認するため、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）及び BBI-4000 gel（IPM2 製剤）の皮膚累積刺激性についてウサギを用いて評価した。

1. 試験方法

18 週齢の NZW 系雄性ウサギ 6 例を用いた。背部皮膚を除毛し、テープストリッピングによる損傷部位（2.5 cm × 2.5 cm、4 ヵ所/例）を作製して投与部位とした。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）15%又は BBI-4000 gel（IPM2 製剤）15%を 1 日 1 回 7 日間塗布した（0.2 mL/部位、各製剤を 1 例につき 1 部位、4 例の異なる動物に塗布。2 製剤で 6 例に塗布）。投与期間中に 1 日 1 回各投与部位の「紅斑及び痂皮の形成」及び「浮腫の皮膚反応」を Draize 法によりスコア化し、総平均スコアから皮膚刺激性を評価した。

2. 試験成績

死亡した動物や試験を中止した動物はなかった。一般状態及び体重の変化では BBI-4000 gel 塗布との関連が明らかな所見はなかった。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）15%及び BBI-4000 gel（IPM2 製剤）15%の総平均スコアは、それぞれ 2.1 及び 1.8 であった。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）15%は中等度刺激物、BBI-4000 gel（IPM2 製剤）15%は軽度刺激物に分類されたものの、総平均スコアの差は小さく、皮膚刺激性の差は小さいと考えられた。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　皮膚感作性試験

2.6.6.8.1.1　モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法、DB20 製剤）

資料番号 4.2.3.7.1-1

1. 試験方法

5 週齢の雌性モルモットを用いて Buehler 法により評価した。BBI-4000 gel（DB20 製剤）0%（媒体対照、11 例）及び BBI-4000 gel（DB20 製剤）10%（21 例）群を設け、それぞれの被験物質を 0.4 mL ずつ、1 週間に 1 回、7 日間間隔で 3 回閉塞投与し、各投与の 6 時間後に被験物質を除去した（感作）。感作後 14 日目に、各被験物質を 0.4 mL ずつ 6 時間閉塞投与することで皮膚反応を誘発した。誘発後 24 及び 48 時間に皮膚観察を行った。皮膚反応は、反応なし（0 点）、散在性又は斑状の紅斑（1 点）、中程度のびまん性紅斑（2 点）、重度の紅斑及び浮腫（3 点）の 4 段階に評点化した。また、陽性対照群［7

例、0.2% 1-chloro-2,4-dinitrobenzene（DNCB）での感作及び 0.1% DNCB による誘発］を設けた。

2. 試験成績

0%及び 10%群で散在性の紅斑が誘発後に低頻度で認められたが、非特異的な反応と判断した。誘発後 24 及び 48 時間の評点は、0%群では 0.1 及び 0.1、10%群では 0.3 及び 0.2 であった。一方、陽性対照群での評点は誘発後 24 及び 48 時間で、それぞれ 0.6 及び 0.9 であり、感作性を示唆する皮膚反応が認められた。

以上の結果から、BBI-4000 gel（DB20 製剤）10%には皮膚感作性はないと考えられた。

2.6.6.8.1.2　マウスを用いた局所リンパ節試験（LLNA 法、IPM2 製剤）

資料番号 4.2.3.7.1-2

1. 試験方法

8～12 週齢の CBA/Ca 系雌性マウスを用いて Local Lymph Node Assay（LLNA）法により評価した。アセトン／オリーブ油の 4:1 混合液（陰性対照）、BBI-4000 gel（IPM2 製剤）0%（媒体）、5%、10%及び 20%をマウス（4 例/群）の左右耳介の背部に 25 µL ずつ、1 日 1 回、連続 3 日間塗布した（1 回の塗布量 50 µL）。刺激性に関して耳介を毎日観察した。また、耳介の厚さ、耳介の重量及び体重を測定した。初回投与から 6 日目に放射標識チミジン（^{3}H メチルチミジン）を静脈内投与し、投与 5 時間後に耳介リンパ節を摘出して群ごとにプールした。プールしたリンパ節から調製した単一細胞懸濁液についてシンチレーションカウンタを用いて ^{3}H メチルチミジンの取り込み量を測定し、リンパ節細胞の増殖能を評価した。

2. 試験成績

死亡した動物や全身性の毒性徴候を示した動物は認められなかった。局所的な皮膚刺激性所見や耳介の厚さ及び重量で刺激性を示す変化は認められなかった。体重の推移は陰性対照群と同様であった。刺激性指数で表される ^{3}H メチルチミジンの取り込み量が陰性対照群の 3 倍以上となった場合に感作性陽性と判定されるが、BBI-4000 gel（IPM2 製剤）はいずれの濃度でも陰性であり、非感作性物質と考えられた。

2.6.6.8.2　不純物の毒性試験

2.6.6.8.2.1　[redacted]不純物の毒性試験

BBI-4000 の不純物である BBI-4000-B1［[redacted]-BBI-4000 及び[redacted]-BBI-4000 の[redacted]混合物］及び BBI-4000-B2［[redacted]-BBI-4000 及び[redacted]-BBI-4000 の[redacted]混合物］は提案する原材料規格の範囲において、B1 及び B2 の含有量の総量を評価できる分析法によって原薬中に最大[redacted]%混入することが分かっている（表 3.2.S.2.6-1）。そこで、これら不純物の安全性を確認するため、ラットを用いた反復皮下投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験を実施した。

1. ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験

資料番号 4.2.3.7.6-1

(1) 試験方法

BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 の毒性を検討するため、これら不純物を BBI-4000 に対してそれぞれ 0.8%（w/w）、計 1.6%（w/w）添加した BBI-4000（不純物含 BBI-4000）を用いてラット 28 日間反復皮下投与毒性試験を実施した。6 週齢の SD 系雌雄ラットを用い、生理食塩液（媒体対照）、BBI-4000（1 及び 10 mg/kg/day）又は不純物含 BBI-4000（1 及び 10 mg/kg/day）を 1 日 1 回、28 日間反復皮下投与した（10 例/性別/群）。また、トキシコキネティクス評価のためのサテライト群として、各群の 4 例/性別の動物に 28 日間反復皮下投与し、投与 1 及び 28 日目に採血した。

(2) 試験成績

死亡した動物は認められなかった。眼科的検査、血液学的検査、尿検査及び器官重量測定で被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

BBI-4000 の薬理作用による所見として、すべての被験物質投与群において散瞳が認められた。また、BBI-4000 及び不純物含 BBI-4000 の 10 mg/kg/day 群で摂餌量の減少、軽度の体重増加抑制が認められた。BBI-4000 及び不純物含 BBI-4000 の 10 mg/kg/day 群で投与部位である背部皮下及びその周辺に被験物質の刺激性による影響が、一般状態観察及び剖検で痂皮として認められた。投与部位の病理組織学的検査では、炎症及び筋線維の壊死／再生、一般状態観察及び剖検に一致して痂皮が認められた。また、これらに関連して、血液生化学検査において AST の高値が認められた。

BBI-4000 及び不純物含 BBI-4000 投与後の BBI-4000 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は同程度の値を示し、用量に応じて増加した。また、雌雄の曝露量は同程度であった。

以上の結果、BBI-4000 群及び不純物含 BBI-4000 群のいずれにおいても、BBI-4000 の薬理作用による散瞳と、被験物質の刺激性による投与局所の炎症性変化がみられたが、その程度は同様であった。したがって、BBI-4000 [redacted] 不純物（BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2）添加による毒性所見の変化はないと判断した。

2. BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.6-2

(1) 試験方法

BBI-4000-B1 の遺伝子突然変異誘発性の有無は、ネズミチフス菌の TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株、大腸菌の WP2*uvrA* 株を用いて、代謝活性化系非存在下及び存在下の条件で、プレインキュベーション法にて評価した。用量設定試験の結果から、4.88～5000 µg/plate の範囲で 6 又は 7 用量を設定した。

(2) 試験成績

BBI-4000-B1 処理では、いずれの菌株でも代謝活性化の有無に関らず、復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、BBI-4000-B1 の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断した。

3. BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.6-3

(1) 試験方法

BBI-4000-B2 の遺伝子突然変異誘発性の有無は、ネズミチフス菌の TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株、大腸菌の WP2*uvrA* 株を用いて、代謝活性化系非存在下及び存在下の条件で、プレインキュベーション法にて評価した。用量設定試験の結果から、4.88

～5000 µg/plate の範囲で 6～8 用量を設定した。

(2) 試験成績

BBI-4000-B2 処理では、いずれの菌株でも代謝活性化の有無に関らず、復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、BBI-4000-B2 の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断した。

4. BBI-4000-B1 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

資料番号 4.2.3.7.6-4

(1) 試験方法

BBI-4000-B1 の染色体異常誘発性の有無は、ヒト末梢血リンパ球を用いて評価した。用量設定試験の結果から、代謝活性化系非存在下及び存在下での 3 時間処理並びに代謝活性化系非存在下での 24 時間処理で、470 µg/mL（1 mmol/L）を最高用量として 235、118 及び 58.8 µg/mL の 4 用量を設定した。細胞分裂指数を基に算出した相対分裂指数及び被験物質の析出の観察結果から、3 用量を染色体標本観察の対象とした。それぞれの試験系及び処理濃度で、300 個のリンパ球を観察し、分裂中期細胞での染色体の構造異常及び数的異常の有無を検査した。

(2) 試験成績

470 µg/mL を最高用量として、235 及び 118 µg/mL の 3 用量を染色体標本観察の対象とした。すべての用量及び条件で染色体構造異常及び数的異常は認められなかった。したがって、BBI-4000-B1 の染色体異常誘発性は陰性と判断した。

5. BBI-4000-B2 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

資料番号 4.2.3.7.6-5

(1) 試験方法

BBI-4000-B2 の染色体異常誘発性の有無は、ヒト末梢血リンパ球を用いて評価した。用量設定試験の結果から、代謝活性化系非存在下及び存在下での 3 時間処理並びに代謝活性化系非存在下での 24 時間処理で、470 µg/mL（1 mmol/L）を最高用量として 235、118 及び 58.8 µg/mL の 4 用量を設定した。細胞分裂指数を基に算出した相対分裂指数及び被験物質の析出の観察結果から、3 用量を染色体標本観察の対象とした。それぞれの試験系及び処理濃度で、300 個のリンパ球を観察し、分裂中期細胞での染色体の構造異常及び数的異常の有無を検査した。

(2) 試験成績

470 µg/mL を最高用量として、235 及び 118 µg/mL の 3 用量を染色体標本観察の対象とした。すべての用量及び条件で染色体構造異常及び数的異常は認められなかった。したがって、BBI-4000-B2 の染色体異常誘発性は陰性と判断した。

2.6.6.8.2.2　不純物 D2-1（相対保持時間[redacted]）の毒性試験

BBI-4000 の製剤中に含まれる可能性のある不純物のうち D2-1 に関して、加速試験の結果及び原薬の D2-1 の規格を考慮し、規格値[redacted]%以下を設定した（2.3.P.5.6.1 項）。当該規格値は ICH ガイドラインの安全性確認の閾値（0.5%）を超えることから、D2-1 の安全性を BBI-4000 の毒性試験成績から評価した。

BBI-4000 の復帰突然変異試験及び染色体異常試験では、ラット S9 代謝活性化系存在下

（D2-1 存在下）においても、遺伝子突然変異誘発性及び染色体異常誘発性は陰性であることが確認されている（2.6.6.4.1 項）。したがって、D2-1 は遺伝毒性を示さないと推察される。更に、D2-1 及び D2-2（分解生成物の一つ）からなる BBI-4010 はラット 26 週間反復皮下投与試験（無毒性量 0.5 mg/kg/day、2.6.6.3.4 項）及びミニブタ 28 日間反復経皮投与試験（無毒性量 66 mg/kg/day、2.6.6.3.6 項）で主代謝物として確認されている。また、国内臨床試験（2.7.2.3 項）においても BBI-4010 は BBI-4000 の主代謝物として確認されていることから、その安全性は確保されていると考えられる。

したがって、D2-1 の安全性は BBI-4000 の毒性試験及び臨床試験で評価されており、上記の規格値の範囲内であれば、臨床使用において製剤中に含有される D2-1 の毒性が問題となる可能性は低いと考えられる。

2.6.6.8.3　その他の試験

2.6.6.8.3.1　光毒性試験

資料番号 4.2.3.7.7-1（参考）

BBI-4000 gel（IPM2 製剤）0%（媒体）、5%、10%、15%及び 20%のいずれも、紫外線波長を含む太陽光波長内（290～700 nm）で吸収帯は認められないことから、光毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 単回投与毒性

ラットを用いて、静脈内及び皮下投与による単回投与毒性試験を実施した。25 mg/kg を静脈内投与した結果、死亡が認められた。皮下投与（25 及び 50 mg/kg）では、全身性の症状は認められなかった。非げっ歯類については、安全性薬理試験（2.6.2.4.2.1 項）でイヌに 1 mg/kg まで単回静脈内投与したが、死亡は認められなかった。

2.6.6.9.2 反復投与毒性

反復投与毒性試験における曝露量と臨床曝露量との比を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2　反復投与毒性試験における曝露量と臨床曝露量との比

試験		性	投与量（mg/kg/day）	AUC（ng·h/mL）	臨床曝露量との比
ラット 26 週間皮下	無毒性量	雄	0.5	116	5.9 a) ／ 52 b)
		雌	0.5	78.9	4.0 a) ／ 36 b)
	死亡が認められた最低用量	雄	1.5	366	19 a) ／ 166 b)
		雌	1.5	375	19 a) ／ 170 b)
ミニブタ 39 週間経皮	無毒性量	雄	67	331	17 a) ／ 150 b)
		雌	67	161	8.2 a) ／ 73 b)

a) 国内臨床試験（BBI-4000-03 試験）で BBI-4000 gel（IPM1 製剤）5%を投与したときの投与 15 日目の AUC_{0-24}（平均値）：19.7 ng·h/mL
b) 国内臨床試験（BBI-4000-08 試験）で BBI-4000 gel（IPM2 製剤）5%を投与したときの投与 2 週目の AUC_{0-24}（平均値）：2.21 ng·h/mL

ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験では、BBI-4000 の薬理作用に起因すると考えられる死亡が 1.5 及び 5 mg/kg/day の各群 36 例（雌雄の合計、サテライト群を含む）のうちそれぞれ 3 及び 1 例で認められた。死亡動物の主な所見として、喘ぎ呼吸、口腔及び咽頭内に食餌あるいは床敷が認められた。本事象は他の抗コリン薬（アクリジニウム臭化物）でも認められており [2]、BBI-4000 の薬理作用（抗コリン作用）によって唾液分泌が減少し、摂取した食餌や床敷の嚥下が困難になった結果、気道閉塞を引き起こした可能性が考えられる。以上より、本試験で認められた死亡は BBI-4000 の過剰な薬理作用に起因するものと考えられた。死亡がみられた最低用量（1.5 mg/kg/day）での AUC は、国内臨床試験における臨床曝露量の 19～170 倍であった。本事象が臨床使用に際して発現する可能性は低く、臨床試験で認められた口渇はいずれも軽度であることからも、この問題は臨床上の安全性に関連しないと考えられた。

ラットを用いた 28 日間及び 26 週間反復皮下投与毒性試験では、すべての BBI-4000 投与群（0.5～10 mg/kg/day）で BBI-4000 の抗コリン作用に起因する散瞳が認められた。

投与部位皮膚の変化として、ラット及びミニブタを用いた反復投与毒性試験では、BBI-4000 の局所刺激性に起因すると考えられる変化が認められた。ラット 26 週間反復皮下投与試験では、投与部位皮膚に紅斑及び痂皮がみられ、病理組織学的検査では皮下の筋線維の変性／壊死が認められた。これに伴った二次的な変化として、体重増加量の抑制、白血球数、リンパ球数、好塩基球数及び大型非染色球数の高値が認められた。ラット 28 日間反復皮下投与試験でも同様の所見が認められたが、14 日間の休薬により皮膚所見及び臨床検査値の変化は回復あるいは回復傾向を示し、病理組織学的検査では修復性変化と考えられる筋萎縮、筋層／皮下の線維化及び筋再生が認められた。ミニブタ 39 週間反復経皮

投与試験では、投与部位の皮膚に軽微から中等度の紅斑及び浮腫がみられ、病理組織学的検査では反復投与による傷害／修復変化と考えられる上皮の肥厚及び潰瘍が認められた。全身症状を伴わず用量にも依存しなかったことから、ミニブタで認められた皮膚の変化は毒性学的意義が低い所見と考えられた。投与局所への刺激性による変化には回復性が確認されていること、またヒトと皮膚構造が類似しているミニブタ [3]への経皮投与では重篤な所見は認められなかったことから、BBI-4000 の局所刺激性が臨床使用において問題となる可能性は低いと考えられた。

本薬の開発過程において製剤の処方が変更されたことから、処方変更による毒性評価への影響を検討することを目的にミニブタを用いてブリッジング試験（DB20 製剤、IPM1 製剤及び IPM2 製剤）を実施した。DB20 製剤及び IPM1 製剤を比較した試験では、DB20 製剤の媒体を塗布した雄の投与群を除いたいずれの群でも投与部位に軽微な紅斑が認められた。また、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群では表皮滲出及び錯角化が他の群に比較して高頻度で認められた。BBI-4000 及び BBI-4010 の $AUC_{0\text{-}24}$ は、DB20 製剤投与群に比較して IPM1 製剤投与群でそれぞれ 2.8 倍及び 1.7 倍高かった。IPM1 製剤及び IPM2 製剤を比較した試験では、両製剤間で毒性所見及び曝露量に明確な差異は認められなかった。以上の結果、各製剤間で投与部位における局所毒性及び曝露量に差異はみられているものの、いずれの製剤においても全身性の毒性変化は認められなかったことから、製剤の処方変更による毒性評価への影響はないと考えられた。また、ミニブタを用いたブリッジング試験では、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%群の雌 2 例で皮膚状態の悪化が認められたため、安楽死処置した。皮膚状態の悪化は特異体質アレルギー反応 [1]または投与刺激に起因すると考えられた。

ラット 26 週間反復皮下投与試験及びミニブタ 39 週間反復経皮投与試験の無毒性量はそれぞれ 0.5 及び 67 mg/kg/day と考えられ、同用量での AUC は国内臨床試験における臨床曝露量のそれぞれ 4.0～52 倍及び 8.2～150 倍であった。

2.6.6.9.3　遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験のいずれにおいても、BBI-4000 に遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.9.4　　がん原性

がん原性試験における曝露量と臨床曝露量との比を表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3　がん原性試験における曝露量と臨床曝露量との比

試験	性	投与量（mg/kg/day）	AUC（ng·h/mL）	臨床曝露量との比
マウス 104 週間経皮がん原性	雄	83	45.7	2.3 [a)] ／ 21 [b)]
		169	191	9.7 [a)] ／ 86 [b)]
		355	228	12 [a)] ／ 103 [b)]
	雌	83	158	8.0 [a)] ／ 71 [b)]
		169	211	11 [a)] ／ 95 [b)]
		355	1260	64 [a)] ／ 570 [b)]
ラット 104 週間皮下がん原性	雄	0.3	79.7	4.0 [a)] ／ 36 [b)]
		0.75	239	12 [a)] ／ 108 [b)]
		1.5	489	25 [a)] ／ 221 [b)]
	雌	0.5	113	5.7 [a)] ／ 51 [b)]
		1.5	511	26 [a)] ／ 231 [b)]
		5	1380	70 [a)] ／ 624 [b)]

a) 国内臨床試験（BBI-4000-03 試験）で BBI-4000 gel（IPM1 製剤）5%を投与したときの投与 15 日目の $AUC_{0\text{-}24}$（平均値）：19.7 ng·h/mL
b) 国内臨床試験（BBI-4000-08 試験）で BBI-4000 gel（IPM2 製剤）5%を投与したときの投与 2 週目の $AUC_{0\text{-}24}$（平均値）：2.21 ng·h/mL

マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験では、いずれの用量においても腫瘍の誘発は認められなかった。生存率は、雄の 83、169 及び 355 mg/kg/day 群並びに雌の 355 mg/kg/day 群で陰性及び媒体対照群に比較して低かった。投与期間中に死亡した動物の剖検では宿便が認められ、更に病理組織学的検査ではそれに関連して腸管の拡張、潰瘍／びらん、粘膜過形成及び炎症性変化が認められた。これらの所見は体重増加量の抑制及び一般状態の悪化に関連していると考えられた。また、すべての BBI-4000 gel 投与群において雌雄ともに糞便量の減少が認められた。雄では長期的に腸管運動が抑制された結果、全身状態が悪化して宿便や腸管拡張を伴う死亡に至ったと推察された。雌では腸管拡張の発生頻度は低く、死亡との関連は不明である。承認されている抗コリン薬（フェソテロジンフマル酸塩、臭化チオトロピウム水和物、酒石酸トルテロジン）においても腸管運動の抑制を示唆する所見（腸管の膨満、腸管の拡張、便秘）がマウスがん原性試験において認められており [4), 5), 6)]、上記の考察を裏付けると推察される。生存率の低下が認められた雄の最低用量 83 mg/kg/day 群の AUC は国内臨床試験における臨床曝露量の 2.3～21 倍であった。また、ラット及びミニブタを用いた反復投与毒性試験では BBI-4000 の薬理作用による腸管輸送能の変化に起因する死亡は認められなかったことから、マウスに特有の所見と推察された。更に、国内臨床試験で認められた抗コリン作用によると考えられる有害事象のほとんどが軽度でいずれも回復していることから、この問題は臨床上の安全性に関連しないと考えられた。

ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験では、BBI-4000 投与群の生存率は媒体対照群と比較して有意な変化はなく、腫瘍の誘発も認められなかった。すべての BBI-4000 投与群において、上部消化管／気道への食餌の貯留を認める途中死亡が発生した。本所見の発生頻度に用量との相関は認められなかったが、他の毒性試験でも同様の所見が認められていることから、BBI-4000 の薬理作用によるものと考えられた。

以上の結果から、BBI-4000 はがん原性を示さないと考えられた。マウスの雄及び雌の 355 mg/kg/day 群における AUC は、国内臨床試験の曝露量のそれぞれ 12～103 倍及び 64～570 倍であった。また、ラットの雄 1.5 mg/kg/day 群及び雌 5 mg/kg/day 群における AUC は、国内臨床試験の曝露量のそれぞれ 25～221 倍及び 70～624 倍であった。

2.6.6.9.5　　生殖発生毒性

生殖発生毒性試験の無毒性量における曝露量と臨床曝露量との比を表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4　生殖発生毒性試験の無毒性量における曝露量と臨床曝露量との比

試験	性（評価項目）	無毒性量（mg/kg/day）	AUC（ng·h/mL）	臨床曝露量との比
ラット受胎能及び初期胚発生	雄（受胎能）	10	8290	421 [a] ／ 3751 [b]
	雌（受胎能）	10	2410	122 [a] ／ 1090 [b]
ラット胚・胎児発生	雌（母動物）	10	3730	189 [a] ／ 1688 [b]
	雌（胚・胎児発生）	10	3730	189 [a] ／ 1688 [b]
ウサギ胚・胎児発生	雌（母動物）	0.4 [c]	211	11 [a] ／ 95 [b]
	雌（胚・胎児発生）	10	6750	343 [a] ／ 3054 [b]
新生児ラット	雄	5	1780	90 [a] ／ 805 [b]
	雌	5	1330	68 [a] ／ 602 [b]

a) 国内臨床試験（BBI-4000-03 試験）で BBI-4000 gel（IPM1 製剤）5%を投与したときの投与 15 日目の AUC_{0-24}（平均値）：19.7 ng·h/mL
b) 国内臨床試験（BBI-4000-08 試験）で BBI-4000 gel（IPM2 製剤）5%を投与したときの投与 2 週目の AUC_{0-24}（平均値）：2.21 ng·h/mL
c) 瀕死が認められた用量

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では、雌雄の親動物の受胎能及び初期胚発生に影響は認められなかった。雄及び雌の無毒性量（10 mg/kg/day）における AUC は国内臨床試験における臨床曝露量のそれぞれ 421～3751 倍及び 122～1090 倍であった。一般状態では喘ぎ呼吸が認められ、投与部位への局所刺激性あるいはその二次的変化として紅斑、痂皮及び浮腫並びに体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、雄の 1 mg/kg/day 群（22 例/群）では、1 例の死亡が認められた。本動物の死因は剖検において特定されなかったが、死亡前に啼鳴及び喘ぎ呼吸が認められていたことから、ラットを用いた他の毒性試験の場合と同じ薬理学的メカニズムに起因すると考えられた。

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、胚・胎児発生への影響及び催奇形性は認められなかった。ラット及びウサギの無毒性量（胚・胎児発生）における AUC は国内臨床試験における臨床曝露量のそれぞれ 189～1688 倍及び 343～3054 倍であった。一般状態では喘ぎ呼吸が認められ、投与部位への局所刺激性あるいはその二次的変化として紅斑、痂皮、浮腫又は挫傷並びに体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、ウサギでは 0.4 mg/kg/day 群（22 例/群）の 1 例を瀕死期殺した。本動物では喘ぎ呼吸、口腔及び食道内に糞便様物質が認められ、マウス及びラットを用いた試験の場合と同じ薬理学的メカニズムに起因する所見と考えられた。瀕死が認められた用量（0.4 mg/kg/day）での AUC は国内臨床試験における臨床曝露量の 11～95 倍であった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、生殖能及び出生児への影響は認められなかった。無毒性量（6 mg/kg/day）における AUC は、ラット胚・胎児試験の成績に基づいて推定すると約 1800 ng·h/mL であり、国内臨床試験における臨床曝露量の 91～814 倍に相当した。一般状態では喘ぎ呼吸が認められ、投与部位では

局所刺激性あるいはその二次的変化として痂皮並びに体重増加量の減少が認められた。

生殖発生毒性試験では、初期胚発生、胚・胎児発生及び出生児に対して BBI-4000 投与の影響は認められなかった。また、親動物で認められた一般毒性への影響は反復投与毒性試験で認められた所見と同質であり、いずれも毒性学的意義の低い変化と考えられた。以上の結果から、生殖発生に関して臨床使用における懸念はないと考えられた。

また、幼若ラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験では、BBI-4000 投与に関連した変化として投与部位皮膚で主に皮筋に単核細胞性の炎症及び変性／壊死が認められたが、回復期間後に消失した。その他全身症状及び生体機能への影響は認められなかったことから、小児での使用に対して懸念すべき問題はないと考えられた。雄及び雌の無毒性量（5 mg/kg/day）における AUC は国内臨床試験における臨床曝露量のそれぞれ 90～805 倍及び 68～602 倍であった。

2.6.6.9.6　　局所刺激性

ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験では、BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%は眼に対する不可逆的な影響を有すると考えられた。したがって、本剤の臨床使用においては眼への混入を避ける等の注意が必要であると考えられた。

2.6.6.9.7　　皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験及びマウスを用いた局所リンパ節試験では、BBI-4000 gel に皮膚感作性は認められなかった。したがって、臨床使用における皮膚感作性の懸念は低いと考えられた。

2.6.6.9.8　　不純物の毒性

原薬中に含まれる可能性のある不純物（BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2）の安全性を確認するため、ラットを用いた反復皮下投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験を実施した。ラット反復投与毒性試験では、BBI-4000 あるいは BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 を添加した BBI-4000 を 28 日間反復皮下投与した結果、不純物添加による毒性所見の変化は認められなかった。復帰突然変異試験及び染色体異常試験では､BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 に遺伝毒性は認められなかった。

また、製剤中に含まれる可能性のある不純物のうち、D2-1 に関して規格値を設定した。BBI-4000 の主代謝物である BBI-4010 は D2-1 及び D2-2 からなることから、BBI-4000 の毒性試験から D2-1 の安全性を評価した。BBI-4000 の復帰突然変異試験及び染色体異常試験の結果はいずれも陰性であったことから、D2-1 は遺伝毒性を示さないと推察された。更に動物を用いた BBI-4000 の反復投与毒性試験及び国内臨床試験において BBI-4010 はいずれも主代謝物として確認されていることから、その安全性は確認されていると考えられた。

以上の結果から、臨床使用において製剤中に含有される BBI-4000-B1、BBI-4000-B2 及び D2-1 の毒性が問題となる可能性は低いと判断した。

2.6.6.10 参考文献

1) Danilenko DM. An Overview of the Pathogenesis of Immune-mediated Skin Injury. Toxicologic Pathology. 2016; 44: 536-544.
2) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. TUDORZA® PRESSAIR® (Aclidinium Bromide Inhalation Powder). NDA No.: 202-450. Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation. p.71-101. 2011
3) Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ Jr, Frazier KS. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. Vet Pathol. 2012; 49: 344-56.
4) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Toviaz® (Fesoterodine fumarate). NDA No.: 22-030. Pharmacology/Toxicology Review and Evaluation. p.115-129. 2006
5) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Spiriva® HandiHaler® DPI (Tiotropium bromide). NDA No.: 21-395. Pharmacology/Toxicology Review. P.26-67. 2002
6) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Detrusitol® (Tolterodine). NDA No.: 20-771. Review and Evaluation of Pharmacology/Toxicology Data. P.25-27. 1997

目次

2.6.7 毒性試験概要表 ---- 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 ---- 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 ---- 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 ---- 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧 ---- 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 ---- 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の記載 ---- 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 ---- 13
2.6.7.7.1 ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験 ---- 13
2.6.7.7.2 ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験 ---- 20
2.6.7.7.3 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤） ---- 25
2.6.7.7.4 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤） ---- 28
2.6.7.7.5 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤） ---- 32
2.6.7.7.6 ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤） ---- 37
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 ---- 40
2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 ---- 40
2.6.7.8.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 ---- 45
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 ---- 48
2.6.7.9.1 ラットを用いた小核試験 ---- 48
2.6.7.10 がん原性試験 ---- 49
2.6.7.10.1 マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤） ---- 49
2.6.7.10.2 マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤） ---- 52
2.6.7.10.3 ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験 ---- 60
2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験 ---- 66
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 ---- 75
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 ---- 76
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 ---- 81

2.6.7.13.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 ---- 81
2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 ---- 85
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 ---- 89
2.6.7.15 新生児を用いた試験 ---- 95
2.6.7.16 局所刺激性試験 ---- 100
2.6.7.17 その他の毒性試験 ---- 101
2.6.7.17.1 皮膚感作性試験 ---- 101
2.6.7.17.2 不純物の毒性試験 ---- 102
2.6.7.18 参考文献 ---- 123

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
単回投与毒性試験	ラット／SD	皮下	単回	25、50 mg/kg	非適／参考	[redacted]	[redacted]89	4.2.3.1-1
	ラット／SD	静脈内	単回	1、25 mg/kg	非適／参考	[redacted]	[redacted]89	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験	マウス／ICR	経皮	15 日間（回復 14 日間）	84、171、354 mg/kg/day	適／参考	[redacted]	[redacted]1GJ	4.2.3.2-1
	ラット／SD	皮下	7 日間	10、20 mg/kg/day	非適／参考	[redacted]	[redacted]342	4.2.3.2-2
	ラット／SD	皮下	28 日間（回復 14 日間）	1、5、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]428	4.2.3.2-3
	ラット／SD	皮下	26 週間	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0026	4.2.3.2-4
	ミニブタ／Göttingen	経皮	14 日間	17.90、36.05 mg/kg/day	非適／参考	[redacted]	[redacted]873	4.2.3.2-5
	ミニブタ／Sinclair	経皮	28 日間（回復 14 日間）	32、66 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]828	4.2.3.2-6
	ミニブタ／Göttingen	経皮	28 日間（回復 14 日間）	76 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]8DH	4.2.3.2-7
	ミニブタ／Göttingen	経皮	28 日間（回復 21 日間）	雄：76 mg/kg/day（IPM1 製剤）、75 mg/kg/day（IPM2 製剤） 雌：77 mg/kg/day（IPM1 製剤）、76 mg/kg/day（IPM2 製剤）	適	[redacted]	[redacted]2FB	4.2.3.2-8
	ミニブタ／Göttingen	経皮	39 週間	16、32、67 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0025	4.2.3.2-9
遺伝毒性試験	*Salmonella typhimurium*、*Escherichia coli*	*in vitro*	48～72 時間	50～5000 µg/plate（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]	4.2.3.3.1-1
	ヒト末梢血リンパ球	*in vitro* 短時間処理法	4 時間	150～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	[redacted]91[redacted]341ICH[redacted]	4.2.3.3.1-2
		in vitro 連続処理法	20 時間	150～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下）	適	[redacted]	[redacted]91[redacted]341ICH[redacted]	4.2.3.3.1-2
	ラット／SD	皮下	単回	115、225、550 mg/kg	適	[redacted]	[redacted]91[redacted].125M012R[redacted]	4.2.3.3.2-1
がん原性試験	マウス／ICR	経皮	13 週間	83、168、353 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0017	4.2.3.4.1-1
	マウス／ICR	経皮	104 週間	83、169[b)]、355[c)] mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]4GG	4.2.3.4.1-2
	ラット／SD	皮下	13 週間	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0011	4.2.3.4.1-3
	ラット／SD	皮下	104 週間	雄：0.3、0.75、1.5 mg/kg/day 雌：0.5、1.5、5.0 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]8VP	4.2.3.4.1-4

（続く）

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
生殖発生毒性試験	ラット／SD	皮下	雄：交配 4 週間前～剖検前日まで（48～51 日間） 雌：交配 2 週間前～妊娠 7 日まで	1、3、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]9PL	4.2.3.5.1-1
	ラット／SD	皮下	妊娠 6～17 日	1、5、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0018	4.2.3.5.2-1
	ラット／SD	皮下	妊娠 6～17 日	1、3、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0CS	4.2.3.5.2-2
	ウサギ／New Zealand White	皮下	妊娠 6～19 日	0.5、2.5、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0019	4.2.3.5.2-3
	ウサギ／New Zealand White	皮下	妊娠 6～19 日	0.4、2、10 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]0015	4.2.3.5.2-4
	ラット／SD	皮下	妊娠 6 日～授乳 10 日	1、3、10 mg/kg/day	非適／参考	[redacted]	[redacted]5RV	4.2.3.5.3-1
	ラット／SD	皮下	妊娠 6 日～授乳 20 日	1、3、6 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]1VT	4.2.3.5.3-2
新生児を用いた試験	ラット／SD	皮下	13 週間（生後 7～98 日）	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]	[redacted]4435	4.2.3.5.4-1
局所刺激性試験	ウシ角膜	*in vitro*	10 分間	20%	適	[redacted]	[redacted]4MS	4.2.3.6-1
	ウサギ／New Zealand White	経皮	7 日間	15%（0.2 mL/部位）	非適／参考	科研	NT[redacted]002	4.2.3.6-2

（続く）

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
その他の毒性試験								
								被験物質：ソフピロニウム臭化物
皮膚感作性試験	モルモット	経皮	Buehler 法 感作：3 回 誘発：1 回	感作（0.4 mL/部位）：10% 誘発（0.4 mL/部位）：10%	適	[redacted]	[redacted]969	4.2.3.7.1-1
	マウス／CBA/Ca	経皮	LLNA 法 3 日間	5%、10%、20%（25 µL/耳介、合計 50 µL）	適	[redacted]	[redacted]7LK	4.2.3.7.1-2
不純物の毒性試験								
								被験物質：BBI-4000-B1、BBI-4000-B2
反復投与毒性試験	ラット／SD	皮下	28 日間	BBI-4000：1、10 mg/kg/day 不純物含 BBI-4000:1、10 mg/kg/day	適	[redacted]	KF[redacted]215	4.2.3.7.6-1
遺伝毒性試験	*Salmonella typhimurium*、*Escherichia coli*	*in vitro*	48～50 時間	BBI-4000-B1：4.88～5000 µg/plate（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]212	4.2.3.7.6-2
		in vitro	48～52 時間	BBI-4000-B2：4.88～5000 µg/plate（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]211	4.2.3.7.6-3
	ヒト末梢血リンパ球	*in vitro* 短時間処理法	3 時間	BBI-4000-B1：118～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]214	4.2.3.7.6-4
		in vitro 連続処理法	24 時間	BBI-4000-B1：118～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]214	4.2.3.7.6-4
		in vitro 短時間処理法	3 時間	BBI-4000-B2：118～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下／存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]213	4.2.3.7.6-5
		in vitro 連続処理法	24 時間	BBI-4000-B2：118～470 µg/mL（代謝活性化系の非存在下）	適	[redacted]	KF[redacted]213	4.2.3.7.6-5

a) 特に記載のない場合、反復投与毒性試験での下線は無毒性量を示す。
b) 雄では死亡動物数の増加により、投与 92 週目から休薬した。
c) 雄では死亡動物数の増加により、投与 78 週目から休薬し、投与 90 週目に剖検した。
試験施設（試験実施中に施設名が変更となった場合は、試験終了時の施設名を記載する）：
[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、科研／科研製薬株式会社、[redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験の種類	動物種	投与方法	投与量	GLP 適用	試験番号	資料番号
28 日間反復皮下投与毒性試験 a)	ラット	皮下	1、5、10 mg/kg/day	適	[redacted]428	4.2.3.2-3
26 週間反復皮下投与毒性試験	ラット	皮下	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]0026	4.2.3.2-4
28 日間反復経皮投与毒性試験	ミニブタ	経皮	32、66 mg/kg/day	適	[redacted]828	4.2.3.2-6
28 日間反復経皮投与毒性試験	ミニブタ	経皮	76 mg/kg/day	適	[redacted]8DH	4.2.3.2-7
28 日間反復経皮投与毒性試験	ミニブタ	経皮	雄：76 mg/kg/day（IPM1 製剤）、 75 mg/kg/day（IPM2 製剤） 雌：77 mg/kg/day（IPM1 製剤）、 76 mg/kg/day（IPM2 製剤）	適	[redacted]2FB	4.2.3.2-8
39 週間反復経皮投与毒性試験	ミニブタ	経皮	16、32、67 mg/kg/day	適	[redacted]0025	4.2.3.2-9
13 週間反復経皮投与用量設定試験	マウス	経皮	83、168、353 mg/kg/day	適	[redacted]0017	4.2.3.4.1-1
13 週間反復皮下投与用量設定試験	ラット	皮下	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]0011	4.2.3.4.1-3
104 週間反復経皮投与がん原性試験	マウス	経皮	83、169、355 mg/kg/day	適	[redacted]4GG	4.2.3.4.1-2
104 週間反復皮下投与がん原性試験	ラット	皮下	雄：0.3、0.75、1.5 mg/kg/day 雌：0.5、1.5、5.0 mg/kg/day	適	[redacted]8VP	4.2.3.4.1-4
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	ラット	皮下	1、3、10 mg/kg/day	適	[redacted]9PL	4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生に関する試験	ラット	皮下	1、3、10 mg/kg/day	適	[redacted]0CS	4.2.3.5.2-2
胚・胎児発生に関する試験	ウサギ	皮下	0.4、2、10 mg/kg/day	適	[redacted]0015	4.2.3.5.2-4
新生児を用いた試験	ラット	皮下	0.5、1.5、5 mg/kg/day	適	[redacted]4435	4.2.3.5.4-1

a) トキシコキネティクス測定の ISR（incurred sample reanalysis）は試験内で設定した基準を満たさなかったことから、BBI-4000 及び BBI-4010 の血漿中濃度測定値は参考値とした。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

被験物質：ソフピロニウム臭化物

経皮投与による定常状態での AUC（ng·h/mL）

投与量（mg/kg/day）	マウス				ミニブタ				ヒト	
	BB-4000		BB-4010		BBI-4000		BBI-4010		BBI-4000	BBI-4010
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌		
1.1[a)]									19.7[b)] 2.21[c)]	7.21[b)] 0.444[c)]
16					72.2[d)]	83.3[d)]				
32					2.95[e)] 98.0[d)]	2.13[e)] 54.7[d)]	17.2[e)]	3.54[e)]		
66					3.80[e)]	7.93[e)]	31.9[e)]	36.0[e)]		
67					331[d)]	161[d)]				
75					373[f)]		89.2[f)]			
76					43.5[g)] 218[h)] 215[i)]	99.6[g)] 177[h)] 308[f)]	53.1[g)] 69.1[h)] 147[i)]	30.4[g)] 66.3[h)] 28.3[f)]		
77						454[i)]		13.8[i)]		
83	2470[j)] 45.7[k)]	402[j)] 158[k)]	312[j)] 109[k)]	188[j)] 81.1[k)]						
168	213[j)]	275[j)]	314[j)]	182[j)]						
169	191[k)]	211[k)]	149[k)]	253[k)]						
353	751[j)]	350[j)]	995[j)]	605[j)]						
355	228[k)]	1260[k)]	500[k)]	450[k)]						

a) 製剤濃度（5%）、製剤密度 [1)]及び臨床試験製剤の吐出量 [2)]を基に、体重 50 kg として投与量を換算
b) 国内臨床試験（BBI-4000-03 試験、IPM1 製剤、投与 15 日目、$AUC_{0\text{-}24}$）
c) 国内臨床試験（BBI-4000-08 試験、IPM2 製剤、投与 2 週目、$AUC_{0\text{-}24}$）
d) ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤、投与 39 週目、$AUC_{0\text{-}24}$）
e) ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤、投与 28 日目、AUC_{last}）
f) ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM2 製剤、投与 28 日目、$AUC_{0\text{-}23}$）
g) ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤、投与 28 日目、$AUC_{0\text{-}24}$）
h) ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤、投与 28 日目、$AUC_{0\text{-}24}$）
i) ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤、投与 28 日目、$AUC_{0\text{-}23}$）
j) マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤、投与 13 週目、$AUC_{0\text{-}24}$）
k) マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤、投与 26 週目、$AUC_{0\text{-}23}$）

（続く）

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

皮下投与による定常状態での AUC（ng·h/mL）

投与量（mg/kg/day）	ラット				ウサギ	
	BBI-4000		BBI-4010		BBI-4000	BBI-4010
	雄	雌	雄	雌	雌	雌
0.3	79.7[a]		20.0[a]			
0.4					211[b]	134[b]
0.5	95.1[c] 116[d] 109[e]	93.5[c] 78.9[d] 113[a] 83.9[e]	12.5[c] 23.3[d] 4.90[e]	13.6[c] 11.4[d] 32.8[a] 6.42[e]		
0.75	239[a]		67.8[a]			
1	243[f] 285[h]	235[f] 177[g] 177[h]	34.0[f] 62.1[h]	43.2[f] 48.1[g] 24.1[h]		
1.5	345[c] 366[d] 489[a] 299[e]	260[c] 375[d] 511[a] 312[e]	81.3[c] 111[d] 216[a] 52.6[e]	60.6[c] 99.3[d] 155[a] 16.9[e]		
2					1230[b]	461[b]
3	 836[h]	901[g] 500[h]	 333[h]	534[g] 155[h]		
5	1710[f] 1460[c] 1600[d] 1780[e]	1840[f] 1010[c] 1230[d] 1380[a] 1330[e]	674[f] 534[c] 831[d] 723[e]	628[f] 480[c] 479[d] 604[a] 390[e]		
10	4210[f] 8290[h]	4320[f] 3730[g] 2410[h]	1180[f] 2860[h]	1230[f] 1800[g] 943[h]	6750[b]	2430[b]

a) ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験（投与 26 週目、AUC_{0-24}）
b) ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（妊娠 19 日目、AUC_{0-24}）
c) ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験（投与 13 週目、AUC_{0-24}）
d) ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験（投与 26 週目、AUC_{0-24}）
e) 新生児ラットを用いた試験（生後 98 日目、AUC_{0-t}）
f) ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験（投与 27 日目、AUC_{last}）
g) ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（妊娠 17 日目、AUC_{0-24}）
h) 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（雄：投与 7 週目、雌：妊娠 7 日目、AUC_{0-24}）

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧

被験物質：ソフピロニウム臭化物

ロット番号 / 申請規格：	純度（%）	規格設定された類縁物質（%） 総量 ■%以下	RRT 約 ■ ■%以下	RRT 約 ■ ■%以下	RRT 約 ■ ■%以下	試験番号	試験の種類	資料番号
■ [a)]	98.8	1.2	N.A.	N.A.	N.A.	■873	ミニブタを用いた 14 日間反復経皮投与毒性試験	4.2.3.2-5
■ [a)]	99.22	0.78	N.A.	N.A.	N.A.	■189	ラットを用いた単回皮下投与及び静脈内投与毒性試験	4.2.3.1-1
						■342	ラットを用いた 7 日間反復皮下投与毒性試験	4.2.3.2-2
						■873	ミニブタを用いた 14 日間反復経皮投与毒性試験	4.2.3.2-5
						■91■502ICH■	細菌を用いた復帰突然変異試験	4.2.3.3.1-1
■	99.09	0.91	N.D.	N.D.	N.D.	■428	ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験	4.2.3.2-3
						■828	ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-6
						■91■341ICH■	ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験	4.2.3.3.1-2
■	99.51	0.49	0.04	N.D.	N.D.	■91■125M012R■	ラットを用いた小核試験	4.2.3.3.2-1
						■969	モルモットを用いた皮膚感作性試験	4.2.3.7.1-1
■	99.45	0.55	N.D.	N.D.	N.D.	■0026	ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験	4.2.3.2-4
						■0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
						■0011	ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験	4.2.3.4.1-3
						■9PL	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	4.2.3.5.1-1
						■0018	ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験	4.2.3.5.2-1
						■0019	ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験	4.2.3.5.2-3
■	99.75	0.25	N.D.	N.D.	N.D.	■0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
						■0017	マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験	4.2.3.4.1-1
■	99.74	0.26	N.D.	N.D.	N.D.	■0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
■	99.87	0.13	N.D.	N.D.	LOQ	■0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
■	99.67	0.33	N.D.	N.D.	N.D.	■8DH	ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）	4.2.3.2-7
						■0CS	ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験	4.2.3.5.2-2
						■0015	ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験	4.2.3.5.2-4
						■5RV	ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する用量設定試験	4.2.3.5.3-1
						■VT	ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	4.2.3.5.3-2
						NT■002	ウサギを用いた 7 日間皮膚累積刺激性試験	4.2.3.6-2
■	99.26	0.74	N.D.	N.D.	N.D.	■8DH	ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）	4.2.3.2-7
■ [a)]	100	0.0	N.A.	N.A.	N.A.	■4435	新生児ラットを用いた試験	4.2.3.5.4-1
■	99.33	0.67	N.D.	N.D.	LOQ	■0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9

（続く）

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

ロット番号 申請規格：	純度（%）	規格設定された類縁物質（%） 総量 [redacted]%以下	RRT 約[redacted] [redacted]%以下	RRT 約[redacted] [redacted]%以下	RRT 約[redacted] [redacted]%以下	試験番号	試験の種類	資料番号
[redacted]	99.41	0.59	0.09	N.D.	LOQ	[redacted]0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
						[redacted]1GJ	マウスを用いた 15 日間反復経皮投与毒性試験	4.2.3.2-1
						[redacted]4MS	ウシ摘出角膜を用いた眼刺激性試験	4.2.3.6-1
[redacted]	99.86	0.14	N.D.	N.D.	N.D.	[redacted]0025	ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）	4.2.3.2-9
[redacted]	100	0.0	LOQ	LOQ	LOQ	[redacted]4GG	マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験	4.2.3.4.1-2
						[redacted]8VP	ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験	4.2.3.4.1-4
						KF[redacted]215	不純物のラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験	4.2.3.7.6-1
[redacted]	100	0.0	N.D.	N.D.	N.D.	[redacted]2FB	ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）	4.2.3.2-8
						[redacted]4GG	マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験	4.2.3.4.1-2
						NT[redacted]002	ウサギを用いた 7 日間皮膚累積刺激性試験	4.2.3.6-2
						[redacted]7LK	マウスを用いた局所リンパ節試験	4.2.3.7.1-2

a) 個々の類縁物質について評価しなかった、N.A.：実施せず、N.D.：検出されず、LOQ：定量限界未満

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与量（mg/kg）	性別及び一群の動物数	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号	資料番号
ラット／SD	皮下投与（生理食塩液／溶液）	25、50	雄 3 例/群	50	＞50	投与部位にびらん、腫脹又は変色が認められた。全例で抗コリン作用による散瞳が認められた。	[redacted]189	4.2.3.1-1
ラット／SD	静脈内投与（生理食塩液／溶液）	1、25	1 mg/kg：雄 6 例、25 mg/kg：雄 1 例	1	25	25 mg/kg 群の 1 例が投与直後に死亡した。1 mg/kg 群の全例で抗コリン作用による散瞳が認められた。	[redacted]189	4.2.3.1-1

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の記載

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
マウス／ICR	経皮投与（IPM1 製剤媒体／溶液）	15 日間（回復 14 日間）	0、84、171、354	雌雄各 4 例/群（回復：雌雄各 2 例/群）	BBI-4000 gel による影響は認められなかった。	[redacted]1GJ	4.2.3.2-1
ラット／SD	皮下投与（生理食塩液／溶液）	7 日間	0、10、20	雌雄各 2 例/群	BBI-4000 の抗コリン作用による散瞳が認められた。投与部位では痂皮、変色等の変化が認められた。	[redacted]342	4.2.3.2-2
ミニブタ／Göttingen	経皮投与（ヒドロキシプロピルセルロース・ヘキシレングリコール・アスコルビン酸・無水エタノール／溶液）	14 日間	0、17.90、36.05	雌雄各 1 例/群	BBI-4000 gel による明らかな影響は認められなかった。	[redacted]873	4.2.3.2-5

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験

報告書の表題：BBI-4000: 28 Day Subcutaneous Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a 14 Day Dose-Free Recovery Period

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ラット／SD　　投与期間：28 日間　　試験番号：[redacted]428

試験開始週齢：9 週齢　　休薬期間：14 日間　　CTD における資料番号：4.2.3.2-3

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：皮下投与　　GLP 適用：適

媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価としてサテライト群を設定し、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。なお、本試験のトキシコキネティクス測定の ISR（incurred sample reanalysis）は試験内で設定した基準を満たさなかったことから、BBI-4000 及び BBI-4010 の血漿中濃度測定値は参考値とした。

無毒性量：5 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		5		10	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.50	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	199	273	744	1120	994	1940
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	139	151	1300	1120	2950	2650
投与 27 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	1.00	0.25	2.00	2.00
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	211	194	361	597	592	735
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	243	235	1710	1840	4210	4320

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		5		10	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
代謝物 BBI-4010[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.50	0.25	1.00	0.50	2.00	1.00
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	17.9	17.8	83.4	90.6	116	123
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	19.8	12.0	217	116	763	619
投与 27 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	21.8	31.9	57.5	76.7	107	150
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	34.0	43.2	674	628	1180	1230

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		5		10	
動物数（反復投与＋回復性）	雄：8＋4	雌：8＋4	雄：8＋0	雌：8＋0	雄：8＋4	雌：8＋4	雄：8＋4	雌：8＋4
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
投与部位 a)								
痂皮	0	0	0	0	1	2	7	10
変色	0	0	0	0	0	0	11	0
体重（g） b)								
投与 28 日目	431.48	—	—	—	- 7.1%	—	- 5.3%	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
散瞳 a)	0	0	8	8	12	12	12	11

—：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		5		10	
動物数（反復投与）	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8
血液学的検査 a)								
白血球数（K/μL）	8.094	—	—	—	—	—	+ 39%**	—
好中球数（K/μL）	1.244	—	—	—	—	—	+ 89%**	—
リンパ球数（K/μL）	6.509	—	—	—	—	—	+ 29%**	—
単球数（K/μL）	0.193	—	—	—	—	—	+ 27%	—
好酸球数（K/μL）	0.056	—	—	—	—	—	+ 129%**	—
フィブリノーゲン（mg/dL）	248.9	193.1	—	—	+ 11%*	—	+ 33%**	+ 11%
血液生化学検査 a)								
ALT（U/L）	35.5	—	+ 24%*	—	+ 35%**	—	+ 56%**	—
AST（U/L）	73.5	—	—	—	—	—	+ 60%**	—
コレステロール（mg/dL）	—	66.5	—	—	—	—	—	+ 24%*
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Dunnett 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		5		10	
動物数（反復投与）	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8	雄：8	雌：8
評価対象の投与部位 [a]	48	48	48	48	48	48	48	48
剖検 [b]								
投与部位								
変色	2	3	0	0	0	1	27	3
痂皮	0	0	0	0	0	0	9	10
器官重量	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査 [b]								
投与部位								
筋変性／再生	2	11	8	6	42	39	45	48
炎症性細胞浸潤	5	8	9	5	16	3	37	29
線維増殖	2	1	2	0	3	2	34	19
皮下神経線維変性	0	0	1	2	0	2	13	14
漿液細胞性痂皮	2	1	0	5	0	3	6	7
出血	0	2	1	0	2	1	17	4
皮脂腺萎縮	0	0	0	0	0	0	16	9
扁平上皮過形成	1	0	0	2	0	5	14	10
皮下浮腫	0	1	0	0	0	0	9	1
皮下血栓	0	0	0	0	0	0	1	0
筋層／皮下の線維化	0	0	0	0	0	0	1	0
潰瘍／びらん	1	1	0	0	0	1	2	5
筋再生	4	0	10	8	0	6	2	0

－：特記すべき所見なし
a) 計 8 例の 48 ヵ所の投与部位を評価（投与部位として 6 ヵ所/例を設定）、b) 発現部位数

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）回復期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		5		10	
動物数（回復性）	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－
投与部位 a) 　痂皮 　変色	 0 0	 0 0	 0 0	 0 0	 1 0	 0 0
体重	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－
眼科的検査	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 回復終了時の発現例数

（続く）

2.6.7.7.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]428（続き）回復期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		5		10	
動物数（回復性）	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
評価対象の投与部位 a)	24	24	24	24	24	24
剖検	－	－	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査 b)						
投与部位						
筋再生	1	1	6	8	5	8
筋萎縮	0	0	0	0	5	2
筋層／皮下の線維化	0	0	0	0	6	3
炎症性細胞浸潤	3	0	1	2	8	1
皮下神経線維変性	0	0	0	1	4	1
漿液細胞性痂皮	0	0	0	0	1	1
潰瘍	0	0	0	0	1	1

－：特記すべき所見なし
a) 計 4 例の 24 ヵ所の投与部位を評価（投与部位として 6 ヵ所/例を設定）、b) 発現部位数

2.6.7.7.2　　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験

報告書の表題：BBI-4000: Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Sprague-Dawley Rats for 26 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ラット／SD　　投与期間：26 週間　　試験番号：[redacted]0026

試験開始週齢：5～6 週齢　　休薬期間：なし　　CTD における資料番号：4.2.3.2-4

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：皮下投与　　GLP 適用：適

媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価としてサテライト群を設定し、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：0.5 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	49.9	46.8	142	143	366	388
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	22.7	18.6	135	125	625	652
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.5	0.25	0.25	0.25	1	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	56.5	107	200	317	365	698
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	116	78.9	366	375	1600	1230

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.2　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]0026（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
代謝物 BBI-4010[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	0.25	0.5	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	5.66	17.9	17.9	59.7	72.9
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	22.7	23.6	143	180
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	1	1	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	10.3	8.80	42.2	43.2	74.5	100
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	23.3	11.4	111	99.3	831	479

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.2　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]0026（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数 a)	雄：12（3）	雌：12（3）	雄：12（6）	雌：12（6）	雄：12（6）	雌：12（6）	雄：12（6）	雌：12（6）
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数 a)	0（0）	0（0）	0（0）	0（0）	0（1）	0（2）	0（1）	0（0）
一般状態 b)								
吐くような動作	0	0	0	0	1	2	2	3
立毛	0	0	0	0	1	2	2	2
投与部位 b)								
紅斑	0	0	0	0	0	1	1	1
痂皮	1	0	0	0	0	0	2	1
体重増加量（g） c)								
投与 0～26 週	361	145	- 11%	—	- 16%*	- 6%	- 23%**	- 6%
摂餌量（g） c)								
投与 1～26 週	188	146	- 3%	- 3%	- 5%	- 6%	- 8%	- 8%
眼科的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
散瞳 d)	0	0	12	12	12	12	12	12

－：特記すべき所見なし
a) 括弧内はサテライト群を示す、b) 最大発現例数、c) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）、d) 投与終了時の発現例数
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.7.2　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]0026（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
血液学的検査 a)								
投与 13 週目								
白血球数（×10⁹/L）	—	6.61	—	—	—	+ 36%*	—	+ 44%**
リンパ球数（×10⁹/L）	—	5.18	—	—	—	+ 44%*	—	+ 61%**
好塩基球数（×10⁹/L）	—	0.01	—	—	—	+ 100%##	—	+ 100%##
大型非染色球数（×10⁹/L）	—	0.05	—	—	—	+ 60%	—	+ 80%*
投与 26 週目								
白血球数（×10⁹/L）	—	5.36	—	—	—	+ 37%*	—	+ 44%**
リンパ球数（×10⁹/L）	—	4.16	—	—	—	+ 41%*	—	+ 48%**
好塩基球数（×10⁹/L）	—	0.01	—	—	—	+ 100%	—	+ 100%*
大型非染色球数（×10⁹/L）	—	0.04	—	—	—	+ 100%** b)	—	+ 100%** b)
血液生化学検査 a)								
投与 13 週目								
クレアチニン（µmol/L）	46	—	- 9%	—	- 13%**	—	- 13%**	—
投与 26 週目								
クレアチニン（µmol/L）	48	—	- 13%*	—	- 19%**	—	- 15%**	—
尿検査								
投与 13 週目								
pH	—	—	—	—	—	—	上昇	—
投与 26 週目								
pH	—	—	—	—	—	—	上昇	—

—：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）、b) 対数値で検定
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）、Shirley 検定：##p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.7.2　ラットを用いた 26 週間反復皮下投与毒性試験　試験番号：[redacted]0026（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
評価対象の投与部位 a)	72	72	72	72	72	72	72	72
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査 b)								
背部皮下								
筋線維の変性／壊死	1	2	0	0	2	0	37	33

－：特記すべき所見なし
a) 計 12 例の 72 ヵ所の投与部位を評価（投与部位として 6 ヵ所/例を設定）、b) 発現部位数

2.6.7.7.3　　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）

報告書の表題：A 28-Day Dermal Toxicity and TK in Sinclair Miniature Swine with a 14-Day Dose-Free Recovery (GLP)

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ミニブタ／Sinclair　　投与期間：28 日間　　試験番号：[redacted]828

試験開始週齢：3～5 ヵ月齢　　休薬期間：14 日間　　CTD における資料番号：4.2.3.2-6

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：経皮投与（開放塗布、1 日 1 回）　　GLP 適用：適

総体表面積の 10%に 5 mL を投与

媒体／投与形態：DB20 製剤媒体／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：66 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	無処置対照		0（媒体対照）		32		66	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：2	雌：2	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
BBI-4000[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1.3	1.0	1.2	2.8
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2.03	0.953	1.97	1.74
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	3.98	1.31	4.83	14.8
投与 28 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1.0	0.2	1.8	1.0
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1.97	1.16	1.53	2.21
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2.95	2.13	3.80	7.93

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値（雄 n = 4 又は 5、雌 n = 2 又は 5）、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.3　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）　試験番号：[redacted]828（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	無処置対照		0（媒体対照）		32		66	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：2	雌：2	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
BBI-4010[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2.0	N.C.	2.0	N.C.
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1.33	N.C.	1.46	N.C.
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	3.17	N.C.	3.58	N.C.
投与 28 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	5.8	1.3	1.5	0.6
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1.98	1.27	2.77	2.79
AUC_{last}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	17.2	3.54	31.9	36.0

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値（雄 n = 1～5、雌 n = 3 又は 5）、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.3　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）　試験番号：[redacted]828（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	無処置対照		0（媒体対照）		32		66	
動物数 （反復投与＋回復性）	雄：2 + 0	雌：2 + 0	雄：3 + 2	雌：3 + 2	雄：3 + 2	雌：3 + 2	雄：3 + 2	雌：3 + 2
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
投与部位 a) 紅斑	0	0	2 b)	0	1 b)	2 b)	0	1 b)
体重	－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－
心電図検査	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
瞳孔対光反射	－	－	－	－	－	－	－	－
呼吸数	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 投与終了時の発現例数、b) 回復期間中に消失

2.6.7.7.4　　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）

報告書の表題：BBI-4000: A 28-Day Comparative Bridging Dermal Toxicity Study of Two Formulations in Gottingen Minipigs with a 14-Day Recovery Period (GLP)

被験物質：ソフピロニウム臭化物
動物種／系統：ミニブタ／Göttingen　　投与期間：28 日間　　試験番号：[redacted]8DH
試験開始週齢：4～5 ヵ月齢　　休薬期間：14 日間　　CTD における資料番号：4.2.3.2-7
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：経皮投与（開放塗布、1 日 1 回）　　GLP 適用：適
総体表面積の 10%に 0.43 mL/kg を投与
媒体／投与形態：DB20 製剤媒体及び IPM1 製剤媒体／溶液
特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		76					
投与群	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤			IPM1 製剤		
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：2	雌：2	雄：4	雌：4	雌雄平均	雄：4	雌：4[b]	雌雄平均
BBI-4000								
投与 1 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	1.50	1.00	1.00	1.50	4.50	1.50
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	0.821	0.792[f]	0.811	0.932	26.8	13.9
AUC_{0-t}（ng·h/mL）[d, e]	N.C.	N.C.	1.22	1.17[f]	1.21	4.00	54.6	29.3
投与 28 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	0.500	0.500	0.500	1.00	1.00	1.00
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	8.28	20.8	14.5	56.8	43.3	51.0
AUC_{0-24}（ng·h/mL）[d]	N.C.	N.C.	43.5	99.6	71.5	218	177	200
BBI-4010[g]								
投与 28 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	2.00	0.750	1.00	2.00	2.00	2.00
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	2.35	4.51	3.58	6.86	7.26	7.03
AUC_{0-24}（ng·h/mL）[d]	N.C.	N.C.	53.1	30.4	39.5	69.1	66.3	67.9

a) 各採血時点の動物数、b) 投与 28 日目は n =3、c) 中央値、d) 平均値、e) 投与 0 時間から検出できた時点までの AUC、f) 3 匹が定量下限未満であったため 1 匹の測定値を記載
g) 投与 1 日目はいずれの群も定量下限未満が多かったため C_{max} 及び AUC は算出せず
N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.4　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]8DH（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）				76			
投与群	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤		IPM1 製剤	
動物数 （反復投与＋回復性）	雄：1 + 1		雌：1 + 1		雄：3 + 1	雌：3 + 1	雄：3 + 1	雌：3 + 0[a)]
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0		0		0	0	0	1
投与部位 [b)] 紅斑	0	1	2	2	2	4	4	3

a) 投与期間中に 1 匹を安楽殺したため、回復性試験の動物はなし、b) 発現例数

（続く）

2.6.7.7.4　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]8DH（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）				76			
投与群	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤		IPM1 製剤	
動物数（反復投与）	雄：1		雌：1		雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
病理組織学的検査 a)								
投与部位								
滲出液								
軽微	0	0	0	0	0	0	3	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	2
錯角化								
軽微	0	1	0	1	0	1	2	2
軽度	0	0	0	0	0	0	1	1

a) 発現例数

（続く）

2.6.7.7.4 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤及び IPM1 製剤） 試験番号：[redacted]8DH（続き）回復期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）				76			
投与群	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤	IPM1 製剤	DB20 製剤		IPM1 製剤	
動物数（回復性）	雄：1		雌：1		雄：1	雌：1	雄：1	雌：0[a)]
病理組織学的検査[b)]								
投与部位								
錯角化								
軽微	0	1	1	1	0	1	1	0

a) 投与期間中に 1 匹を安楽殺したため、回復性試験の動物はなし、b) 発現例数

2.6.7.7.5　　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）

報告書の表題：BBI-4000 IPM Topical Gels: A 28-day Comparative Bridging Toxicity Study of Two Formulations by Dermal (Non-Occluded) Administration to Göttingen Minipigs Followed by a 21 Day Recovery Period

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ミニブタ／Göttingen
試験開始週齢：3～4 ヵ月齢
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与期間：4 週間
休薬期間：21 日間
投与方法：経皮投与（開放塗布、1 日 1 回）
総体表面積の 10%に 0.43 mL/kg を投与
媒体／投与形態：IPM1 製剤媒体及び IPM2 製剤媒体／溶液

試験番号：[redacted]2FB
CTD における資料番号：4.2.3.2-8
GLP 適用：適

特記事項：

- トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。
- 媒体対照群では、背部皮膚の投与部位 1（右側）に IPM1 製剤媒体、投与部位 2（左側）に IPM2 製剤媒体を投与した。
- IPM1 製剤群及び IPM2 製剤群では、投与 1～16 日目は脊椎を覆う 1 ヵ所の投与部位に、投与 17～28 日目は 2 ヵ所（左右脇腹）の投与部位に被験物質を半量ずつ投与した。

（続く）

2.6.7.7.5　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）　試験番号：[redacted]2FB（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		雄：76、雌：77		雄：75、雌：76	
投与群	IPM1 製剤及び IPM2 製剤		IPM1 製剤		IPM2 製剤	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：2	雌：2	雄：4	雌：4[b]	雄：4	雌：4
BBI-4000						
投与 1 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	1.5	1	1	1
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	51.6	3.42	1.42	3.46
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）[d]	N.C.	N.C.	170	11.6	10.6	11.5
投与 15 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	105	66.5	168	50.6
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）[d]	N.C.	N.C.	434	320	581	361
投与 28 日目 T_{max}（h）[c]	N.C.	N.C.	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）[d]	N.C.	N.C.	36.3	46.0	53.5	418
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）[d]	N.C.	N.C.	215	454	373	308

a) 各採血時点の動物数、b) 投与 14 日目に 1 例を安楽死処置した、c) 中央値、d) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.5　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）　試験番号：[redacted]2FB（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		雄：76、雌：77		雄：75、雌：76	
投与群	IPM1 製剤及び IPM2 製剤		IPM1 製剤		IPM2 製剤	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：2	雌：2	雄：4	雌：4[b]	雄：4	雌：4
BBI-4010[c]						
投与 15 日目 T_{max}（h）[d]	N.C.	N.C.	2	2	2	3
C_{max}（ng/mL）[e]	N.C.	N.C.	14.5	8.40	15.7	N.C.
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）[e]	N.C.	N.C.	107	51.3	109	N.C.
投与 28 日目 T_{max}（h）[d]	N.C.	N.C.	2	1.5	3	4
C_{max}（ng/mL）[e]	N.C.	N.C.	13.6	4.25	14.6	36.7
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）[e]	N.C.	N.C.	147	13.8	89.2	28.3

a) 各採血時点の動物数、b) 投与 14 日目に 1 例を安楽死処置した、c) 投与 1 日目はいずれの群も定量下限未満であるため算出せず、d) 中央値、e) 平均値 N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.7.5　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）　試験番号：[redacted]2FB（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）				雄：76、雌：77		雄：75、雌：76	
投与群	IPM1 製剤	IPM2 製剤	IPM1 製剤	IPM2 製剤	IPM1 製剤		IPM2 製剤	
動物数 （反復投与＋回復性）	雄：1 + 1		雌：1 + 1		雄：3 + 1	雌：3[a)] + 1	雄：3 + 1	雌：3 + 1
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0		0		0	1	0	0
一般状態	―		―		―	―	―	―
投与部位 [b), c)]								
紅斑	2	2	2	2	4	4	4	4
浮腫	2	2	2	2	4	4	4	4
落屑	2	2	2	2	3	3	2	2
亀裂	0	0	0	0	0	1	0	0
痂皮	0	0	1	0	0	2	2	0
体重	―	―	―	―	―	―	―	―
摂餌量	―	―	―	―	―	―	―	―
血液学的検査	―	―	―	―	―	―	―	―
血液生化学検査	―	―	―	―	―	―	―	―
尿検査	―	―	―	―	―	―	―	―

―：特記すべき所見なし
a) 投与 14 日目に 1 例を安楽死処置した、b) 発現例数、c) 落屑を除き回復期間中に消失

（続く）

2.6.7.7.5　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験（IPM1 製剤及び IPM2 製剤）　試験番号：[redacted]2FB（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）				雄：76、雌：77		雄：75、雌：76	
投与群	IPM1 製剤	IPM2 製剤	IPM1 製剤	IPM2 製剤	IPM1 製剤		IPM2 製剤	
動物数	雄：1		雌：1		雄：3	雌：2	雄：3	雌：3
器官重量	—		—		—	—	—	—
骨髄検査	—		—		—	—	—	—
剖検 [a)]								
投与部位								
痂皮	0	0	0	0	1	2	2	0
病理組織学的検査 [a), b)]								
投与部位								
皮脂腺の過形成	0	0	0	0	1	2	0	2
痂皮	0	0	0	0	3	2	2	1
過角化	1	1	1	1	3	1	1	2
潰瘍形成	0	0	0	0	0	1	0	0
炎症	0	0	0	0	0	1	0	0

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 回復期間中に消失

2.6.7.7.6　　ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）

報告書の表題：BBI-4000: Toxicity Study by Dermal Administration to Minipigs for 39 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物
動物種／系統：ミニブタ／Göttingen　　投与期間：39 週間　　試験番号：[redacted]0025
試験開始週齢：14～16 週齢　　休薬期間：なし　　CTD における資料番号：4.2.3.2-9
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：経皮投与（半閉塞塗布、1 日 1 回）　　GLP 適用：適
総体表面積の 10%に 0.38 mL/kg を投与
媒体／投与形態：DB20 製剤媒体／溶液
特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。
無毒性量：67 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		16		32		67	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
BBI-4000								
投与 1 日目 T_{max}（h）[b]	N.C.	N.C.	2	0.5	1	0.5	1	1
C_{max}（ng/mL）[c]	N.C.	N.C.	4.00	1.95	3.09	2.86	4.24	40.5
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）[c]	N.C.	N.C.	11.2	4.90	11.6	21.7	28.0	186
投与 39 週目 T_{max}（h）[b]	N.C.	N.C.	0.5	0.5	0.5	1.5	1.25	1.25
C_{max}（ng/mL）[c]	N.C.	N.C.	22.0	10.3	57.0	13.2	71.5	36.3
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）[c]	N.C.	N.C.	72.2	83.3	98.0	54.7	331	161

a) 各採血時点の動物数、b) 中央値、c) 平均値、N.C.：算出せず
BBI-4010 については、定量下限未満が多かったため薬物動態パラメータを算出しなかった。

（続く）

2.6.7.7.6　ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤）　試験番号：[redacted]0025（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		16		32		67	
動物数（反復投与）	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
一般状態	―	―	―	―	―	―	―	―
投与部位 [a)]								
紅斑	3	2	4	1	3	3	3	2
浮腫	3	1	2	0	2	1	2	1
体重	―	―	―	―	―	―	―	―
摂餌量	―	―	―	―	―	―	―	―
眼科的検査	―	―	―	―	―	―	―	―
散瞳	―	―	―	―	―	―	―	―
心電図	―	―	―	―	―	―	―	―
血液学的検査 [b)]								
投与 13 週目								
網赤血球数（$\times 10^{12}$/L）	―	0.111	―	- 46.8%	―	- 38.7%	―	- 40.5%
投与 26 週目								
網赤血球数（$\times 10^{12}$/L）	―	0.071	―	- 8.5%	―	- 70.4%	―	- 38.0%
投与 39 週目								
網赤血球数（$\times 10^{12}$/L）	―	0.039	―	- 46.2%	―	- 2.6%	―	- 25.6%
血液生化学検査	―	―	―	―	―	―	―	―
尿検査	―	―	―	―	―	―	―	―

―：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示

（続く）

2.6.7.7.6 ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験（DB20 製剤） 試験番号：[redacted]0025（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		16		32		67	
動物数（反復投与）	雄：4	雌：4	雄：4	雌：3	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
器官重量								
体重あたりの脾臓重量 a), b)	225.363	189.024	－	－	+ 24%	+ 32%	+ 28%	+ 35%
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査 c)								
投与部位								
上皮の潰瘍	1	1	0	0	1	0	1	0
上皮の肥厚	2	3	0	2	2	2	1	1
腋下リンパ節								
赤血球貪食	4	3	2	3	4	4	4	3

－：特記すべき所見なし
a) 体重で補正した重量、b) 媒体対照群との差を%で表示、c) 発現例数

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の表題：Bacterial Reverse Mutation Assay

被験物質：ソフピロニウム臭化物

菌株：*Salmonella typhimurium*（TA98、TA100、TA1535、TA1537）、*Escherichia coli*（WP2*uvrA*）　試験番号：[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]

独立して実施した試験数：1　プレート数：用量設定試験：1 枚/用量　CTD における資料番号：4.2.3.3.1-1

本試験：3 枚/用量　GLP 適用：適

代謝活性化系：Aroclor で誘導したラット肝 S9　処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（用量設定試験）、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（本試験）

媒体：被験物質；生理食塩液、陽性対照物質；dimethyl sulfoxide（DMSO）［sodium azide（SA）のみ滅菌水］

陽性対照物質：S9-：2-nitrofluorene（2NF）、SA、9-aminoacridine（9AAD）、methyl methanesulfonate （MMS）

S9+：2-aminoanthracene（2AA）

処理：プレート法、48～72 時間培養

細胞毒性：なし

特記事項：なし

遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]（続き）用量設定試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレート法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	103	8	22	14	10
	BBI-4000	6.7	102	16	19	12	5
		10	108	18	27	10	6
		33	121	7	20	23	5
		67	102	16	25	4	7
		100	104	10	14	14	6
		333	115	8	22	11	6
		667	109	8	20	13	2
		1000	94	7	20	17	6
		3333	90	14	19	6	6
		5000	72	8	20	18	2

a) 1 枚のプレートのコロニー数、b) 生理食塩液
BBI-4000 処理による生育阻害及び結晶の析出は認められなかった。

（続く）

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]（続き）用量設定試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレート法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	98	12	29	29	6
	BBI-4000	6.7	105	11	23	35	6
		10	104	16	35	17	8
		33	103	18	26	27	5
		67	117	5	18	25	8
		100	93	6	11	32	8
		333	105	17	26	23	5
		667	128	16	29	18	8
		1000	88	16	16	33	11
		3333	119	11	16	37	8
		5000	106	12	11	37	12

a) 1 枚のプレートのコロニー数、b) 生理食塩液
BBI-4000 処理による生育阻害及び結晶の析出は認められなかった。

（続く）

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]（続き）本試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレート法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	132 ± 14	18 ± 1	35 ± 4	26 ± 10	10 ± 5
	BBI-4000	50	104 ± 16	17 ± 4	42 ± 3	20 ± 4	13 ± 5
		150	126 ± 9	16 ± 3	39 ± 3	29 ± 8	9 ± 6
		500	107 ± 10	14 ± 3	36 ± 7	24 ± 7	8 ± 5
		1500	94 ± 21	10 ± 1	25 ± 9	17 ± 4	7 ± 2
		5000	71 ± 5	8 ± 2	21 ± 2	14 ± 3	3 ± 1
	陽性対照	名称	SA	SA	MMS	2NF	9AAD
		用量（μg/plate）	1.0	1.0	1000	1.0	75
		コロニー数	607 ± 19	280 ± 33	361 ± 54	170 ± 15	762 ± 264

a) 3 枚のプレートのコロニー数の平均 ± 標準偏差.、b) 生理食塩液
BBI-4000 処理による生育阻害及び結晶の析出は認められなかった。
SA: sodium azide、MMS: methyl methanesulfonate、2NF: 2-nitrofluorene、9AAD: 9-aminoacridine

（続く）

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：[redacted]91[redacted]502ICH[redacted]（続き）本試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレート法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	124 ± 6	17 ± 4	35 ± 6	34 ± 2	15 ± 5
	BBI-4000	50	123 ± 18	14 ± 7	26 ± 4	34 ± 6	14 ± 2
		150	148 ± 19	22 ± 4	36 ± 9	34 ± 6	13 ± 4
		500	148 ± 21	16 ± 4	31 ± 5	27 ± 8	14 ± 4
		1500	122 ± 19	12 ± 4	25 ± 5	24 ± 4	9 ± 0
		5000	114 ± 5	12 ± 4	20 ± 6	32 ± 3	14 ± 4
	陽性対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	2.0	1.0	15	1.0	2.0
		コロニー数	1331 ± 159	67 ± 1	303 ± 88	631 ± 142	64 ± 15

a) 3 枚のプレートのコロニー数の平均 ± 標準偏差.、b) 生理食塩液
BBI-4000 処理による生育阻害及び結晶の析出は認められなかった。
2AA: 2-aminoanthracene

2.6.7.8.2　　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

報告書の表題：*In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)

被験物質：ソフピロニウム臭化物

細胞：ヒト末梢血リンパ球　　試験番号：[redacted]91[redacted]341ICH[redacted]

独立して実施した試験数：1　　培養数/用量：2　　CTD における資料番号：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：Aroclor で誘導したラット肝 S9　　分析細胞数/用量：200 個　　GLP 適用：適

媒体：被験物質；生理食塩液、陽性対照物質；滅菌蒸留水　　処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

陽性対照物質：代謝活性化系の非存在下及び連続処理法：Mitomycin C
代謝活性化系の存在下：Cyclophosphamide

薬物処理条件：短時間処理法（4 時間処理-16 時間回復）；代謝活性化系の非存在下及び存在下
連続処理法（20 時間処理）；代謝活性化系の非存在下

細胞毒性：なし

特記事項：なし

遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.8.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：[redacted]91[redacted]341ICH[redacted]（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞			ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質			Mitomycin C（代謝活性化系の非存在下） Cyclophosphamide（代謝活性化系の存在下）				
試験群構成			媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000		
短時間処理法	用量（μg/mL）		0	0.6	150	350	470
	代謝活性化系の非存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	1.0	24.0**	0.0	0.5	0.0
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	用量（μg/mL）		0	5	150	350	470
	代謝活性化系の存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.0	21.0**	0.0	0.0	1.0
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

a) 生理食塩液、Fisher's Exact Test：**$p \leq 0.01$（媒体対照との比較）

（続く）

2.6.7.8.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：[redacted]91[redacted]341ICH[redacted]（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞		ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質		Mitomycin C（代謝活性化系の非存在下）				
試験群構成		媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000		
連続処理法	用量（μg/mL）	0	0.3	150	350	470
	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.5	30.0**	0.5	0.0	0.0
	染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

a) 生理食塩液、Fisher's Exact Test：**$p \leq 0.01$（媒体対照との比較）

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 ラットを用いた小核試験

報告書の表題：*In Vivo* Micronucleus Assay in Rats

被験物質：ソフピロニウム臭化物
動物種／系統／性：ラット／SD／雄　　標本作製時間：投与 24 及び 48 時間後　　試験番号：[redacted]91[redacted]125M012R[redacted]
週齢：6 週齢　　投与方法：単回皮下投与　　CTD における資料番号：4.2.3.3.2-1
陽性対照物質：シクロホスファミド（経口投与）　　分析細胞数/動物：2000 個　　GLP 適用：適
評価した細胞：多染性赤血球　　媒体：被験物質；生理食塩液、陽性対照物質；注射用滅菌水　　処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
特記事項：550 mg/kg 投与群で立毛が認められた。
遺伝毒性：なし
曝露証明：別試験（CTD における資料番号：4.2.3.1-1）でラット単回皮下投与後の血漿中濃度を測定。

ラットを用いた小核試験成績

群		媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000		
投与量（mg/kg）		0	40	115	225	550
使用動物数		5	5	5	5	5
小核を有する多染性赤血球の数 / 評価した多染性赤血球の数	投与 24 時間後	7 / 10000	258* / 10000	5 / 10000	4 / 10000	8 / 10000
	投与 48 時間後	6 / 10000				6 / 10000

a) 生理食塩液、Kastenbaum and Bowman Test：*$p \leq 0.05$（媒体対照との比較）

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1　　マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤）

報告書の表題：BBI-4000: Toxicity Study by Dermal Administration to CD-1 Mice for 13 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物
動物種／系統：マウス／ICR　　投与期間：13 週間　　試験番号：[redacted]0017
試験開始週齢：5～6 週齢　　投与方法：経皮投与（開放塗布、1 日 1 回）　　CTD における資料番号：4.2.3.4.1-1
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　総体表面積の 10%に 2 mL/kg を投与　　GLP 適用：適
媒体／投与形態：DB20 製剤媒体／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。
無毒性量：83 mg/kg/day 未満

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		83		168		353	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	2	1	2	1	8	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	71.1	547	23.7	1930	355	462
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	450	753	272	2610	4570	1490
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	8	1	24	4	0	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	203	217	13.5	14.0	227	41.9
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	2470	402	213	275	751	350

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.1　マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤）　試験番号：[redacted]0017（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		83		168		353	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
代謝物 BBI-4010[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	1	8	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	13.1	16.6	15.7
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	85.5	191	137
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	8	8	8	8	8	8
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	20.2	16.6	17.4	13.1	59.4	43.9
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	312	188	314	182	995	605

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.1　マウスを用いた 13 週間反復経皮投与用量設定試験（DB20 製剤）　試験番号：[redacted]0017（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		83		168		353	
動物数 a)	雄：12（6）	雌：12（12）	雄：12（18）	雌：12（36）	雄：12（18）	雌：12（36）	雄：12（18）	雌：12（36）
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数 a)	0（1）	1（0）	0（1）	0（1）	0（0）	2（0）	0（2）	0（1）
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
投与部位	—	—	—	—	—	—	—	—
体重	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学検査 b)								
アルカリフォスファターゼ（U/L）	—	62	—	—	—	+ 23%* c)	—	+ 42%** c)
総コレステロール（mmol/L）	4.08	—	—	—	—	—	- 16%*	—
カリウム（mmol/L）	3.7	—	+ 11%*	—	+ 16%*	—	+ 8%*	—
アルブミン（g/L）	28	—	—	—	+ 4%	—	+ 7%*	—
α1 グロブリン（g/L）	5	—	—	—	- 20%*	—	- 20%**	—
α2 グロブリン（g/L）	—	2	—	+ 50%**	—	+ 50%**	—	+ 50%**
アルブミン／グロブリン比	1.31	—	—	—	+ 6%	—	+ 12%*	—
器官重量	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—

－：特記すべき所見なし
a) 括弧内はサテライト群を示す、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）、c) 対数値で検定
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

2.6.7.10.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）

報告書の表題：BBI-4000 Topical Gel IPM: Carcinogenicity Study by Dermal Administration to CD-1 Mice for 104 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物
動物種／系統：マウス／ICR　　投与期間：104 週間　　試験番号：[redacted]4GG
試験開始週齢：5 週齢　　投与方法：経皮投与（開放塗布、1 日 1 回）　　CTD における資料番号：4.2.3.4.1-2
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　総体表面積の 10%に 2 mL/kg を投与　　GLP 適用：適
媒体／投与形態：IPM1 製剤媒体／溶液
対照群の処置：陰性対照群；精製水、媒体対照群；IPM1 製剤媒体
高用量の設定根拠：マウス 13 週間反復経皮投与用量設定試験の結果に基づいて設定した。
特記事項：

- 169 及び 355 mg/kg/day 群の雄で投与期間中に生存動物数が 20 匹に到達したため、355 mg/kg/day 群では投与 78 週目、169 mg/kg/day 群では投与 92 週目に投与を中止した。また、355 mg/kg/day 群の雄で休薬期間中に生存動物数が 15 匹に到達したため、投与 90 週目に剖検した。
- トキシコキネティクス評価として、投与 13 及び 26 週目に BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]										
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2	1	2	2	8	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	9.62	17.2	11.1	30.2	40.8	59.8
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	104	157	183	267	584	673
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2	1	8	23	2	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	4.75	65.7	13.7	12.5	18.0	251
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	45.7	158	191	211	228	1260

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
代謝物 BBI-4010[b]										
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	8	8	8	8	8	8
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	9.46	8.93	16.2	26.2	24.3	23.0
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	99.3	93.8	293	283	492	352
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	8	8	8	8	8	8
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	10.4	7.72	10.9	24.1	30.7	29.5
$AUC_{0\text{-}23}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	109	81.1	149	253	500	450

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（試験開始時）	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63
死亡／瀕死屠殺動物数	19	38	24	32	42	37	46	31	48[a)]	47
最終剖検例数	44	25	39	31	21	26	17	32	15[a)]	16
生存率（%、投与 104 週）	70	41	62	49	33	41	27	51	24[a)]	25
一般状態 [b)]										
体温低下	1	10	8	7	19	14	20	5	13	7
痩せ	3	10	7	8	14	11	7	16	11	11
円背	4	16	8	18	26	13	26	19	28	14
半閉眼	0	3	3	5	7	3	10	8	12	5
呼吸促迫	3	7	4	9	10	8	3	12	3	14
軟便	1	1	1	0	4	0	7	1	14	1
糞便量の減少	0	0	3	0	14	3	19	6	17	6
一般状態（詳細観察）[b)]										
吐くような動作	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
不規則呼吸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
触知可能な腫瘤	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
投与部位 [b)]										
紅斑	1	0	1	0	1	1	0	0	4	12
暗色化	3	14	7	14	14	14	13	14	20	19

－：特記すべき所見なし
a) 投与 90 週時点、b) 発現例数

（続く）

2.6.7.10.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（試験開始時）	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63
体重増加量（g）										
投与 0～88 週	17.7	－	17.2	－	－	－	12.7**	－	13.9**	－
投与 0～104 週	16.2	－	16.3	－	－	－	13.4*	－	N.A.	－
投与 76～88 週	- 0.1	－	0.0	－	－	－	- 1.1##	－	1.6##	－
投与 92～104 週	- 0.5	－	- 1.2	－	－	－	1.1**	－	N.A.	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
N.A.：該当なし
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）、Steel 検定：##p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.10.2　マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（試験開始時）	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63
病理組織学的検査 a)										
腫瘍性病変										
副腎（評価動物数）	63	63	61	63	61	63	62	63	63	62
B-皮質腺腫	2	0	0	0	1	0	4	0	0	0
B-被膜下細胞腺腫	3	1	3	2	1	0	1	2	0	1
B-褐色細胞腫	1	1	0	2	1	2	1	0	0	1
ハーダー腺（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
B-腺腫	11	7	9	2	6	3	2	1	4	3
M-腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
造血系（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
M-リンパ腫	0	8	4	4	4	3	4	6	2	6
M-組織球肉腫	1	3	1	7	1	4	0	2	1	3
肝臓（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
B-肝細胞腺腫	14	1	14	1	12	0	1	0	3	1
M-肝細胞癌	7	1	6	0	7	0	2	0	0	0
B-血管腫	0	0	2	0	0	0	1	0	2	0
M-血管肉腫	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
肺及び気管（評価動物数）	63	63	63	63	63	62	63	63	63	63
B-細気管支肺胞上皮腺腫	10	5	8	6	11	3	3	6	1	5
M-細気管支肺胞上皮癌	3	4	4	0	2	3	0	0	1	2

a) 発現例数
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.2 マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤） 試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（試験開始時）	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63
病理組織学的検査（続き）[a]										
腫瘍性病変										
乳腺（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
B-腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
M-腺癌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
卵巣（評価動物数）		63		63		63		62		63
B-嚢胞腺腫	N.A.	0	N.A.	1	N.A.	1	N.A.	1	N.A.	0
B-黄体腫	N.A.	0	N.A.	1	N.A.	0	N.A.	4	N.A.	0
B-顆粒膜細胞腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	2	N.A.	1
B-性索間質腫瘍	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	1	N.A.	0
M-悪性莢膜細胞腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	1
下垂体（評価動物数）	63	63	60	63	63	63	63	63	63	62
B-前葉腺腫	2	2	0	2	0	1	0	0	0	1
B-中間葉腺腫	0	2	2	1	0	2	1	1	0	1
M-中間葉癌	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1
骨格筋（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
M-横紋筋肉腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
皮膚及び皮下組織（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
B-線維腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
M-線維肉腫	1	3	0	1	0	3	1	1	0	1

a) 発現例数、N.A：該当なし
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.2 マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤）　試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
動物数（試験開始時）	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63	雄：63	雌：63
病理組織学的検査（続き）[a]										
腫瘍性病変										
脾臓（評価動物数）	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
B-血管腫	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0
M-血管肉腫	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1
胃（評価動物数）	63	63	62	61	62	62	62	63	62	63
B-腺腫	0	1	1	0	2	0	2	1	1	0
B-扁平上皮乳頭腫	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1
甲状腺（評価動物数）	63	63	62	62	62	62	62	63	63	63
B-濾胞細胞腺腫	0	1	0	2	1	2	0	1	0	1
子宮（評価動物数）		63		63		63		63		63
B-平滑筋腫	N.A.	4	N.A.	4	N.A.	2	N.A.	1	N.A.	0
M-平滑筋肉腫	N.A.	2	N.A.	3	N.A.	1	N.A.	2	N.A.	1
B-子宮内膜間質ポリープ	N.A.	8	N.A.	10	N.A.	4	N.A.	10	N.A.	11
M-子宮内膜間質肉腫	N.A.	3	N.A.	2	N.A.	3	N.A.	5	N.A.	2
M-子宮内膜腺癌	N.A.	4	N.A.	2	N.A.	2	N.A.	1	N.A.	3
M-悪性神経鞘腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	1	N.A.	2	N.A.	0

a) 発現例数、N.A：該当なし
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.2 マウスを用いた 104 週間反復経皮投与がん原性試験（IPM1 製剤） 試験番号：[redacted]4GG（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（陰性対照）		0（媒体対照）		83		169		355	
評価動物数	雄：44	雌：25	雄：39	雌：31	雄：21	雌：26	雄：17[a)]	雌：32	雄：15[b)]	雌：16
病理組織学的検査（続き）[c)]										
非腫瘍性病変										
直腸										
管腔拡張	0	0	1	0	6	1	2	1	0	2
投与部位										
表皮過形成	1	1	1	1	2	13	0	14	0	9

a) 投与 92 週以降は休薬、b) 投与 78 週以降は休薬、投与 90 週に剖検
c) 発現例数

2.6.7.10.3　　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験

報告書の表題：BBI-4000: Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Sprague-Dawley Rats for 13 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ラット／SD　　投与期間：13 週間　　試験番号：[redacted]0011

試験開始週齢：6～7 週齢　　投与方法：皮下投与　　CTD における資料番号：4.2.3.4.1-3

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　媒体／投与形態：生理食塩液／溶液　　GLP 適用：適

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：0.5 mg/kg/day 未満

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	99.4	112	220	217	443	546
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	63.5	54.7	150	197	953	721
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	85.7	139	150	256	463	434
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	95.1	93.5	345	260	1460	1010

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験　試験番号：[redacted]0011（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
代謝物 BBI-4010[b]								
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.5	0.25	0.25	0.5	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	8.69	10.2	19.6	33.0	79.8	87.2
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	5.33	5.96	22.1	39.9	228	187
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	1	0.5	2	1	2	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	10.4	11.2	36.8	26.3	106	99.7
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	12.5	13.6	81.3	60.6	534	480

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験　試験番号：[redacted]0011（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数 a)	雄：10（3）	雌：10（3）	雄：10（6）	雌：10（6）	雄：10（6）	雌：10（6）	雄：10（6）	雌：10（6）
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数 a)	0（0）	0（0）	0（1）	0（0）	0（0）	0（0）	0（0）	0（0）
一般状態 b)								
半閉眼	0	0	2	0	2	0	3	0
立毛	0	0	0	0	0	0	3	0
自発運動の低下	0	0	0	0	0	0	1	0
反復運動	0	0	0	0	2	0	0	0
喘ぎ呼吸	0	0	0	0	1	0	0	0
縮瞳	0	0	0	0	2	0	0	0
投与部位 b)								
紅斑	0	0	0	1	0	0	7	6
浮腫	0	0	0	0	0	0	2	1
体重増加量 c)								
投与 0～13 週	275	—	—	—	—	—	- 19%*	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
散瞳	0	0	10	10	10	10	10	10

－：特記すべき所見なし
a) 括弧内はサテライト群を示す、b) 発現例数、c) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.10.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験　試験番号：[redacted]0011（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
血液学的検査 [a)]								
投与 6 週目								
白血球数（×10^9/L）	N.D.	7.55	N.D.	—	N.D.	+ 42%*	N.D.	+ 55%**
リンパ球数（×10^9/L）	N.D.	5.84	N.D.	—	N.D.	+ 55%**	N.D.	+ 67%**
好塩基球数（×10^9/L）	N.D.	0.01	N.D.	—	N.D.	+ 100%**	N.D.	+ 200%**
大型非染色球数（×10^9/L）	N.D.	0.05	N.D.	—	N.D.	—	N.D.	+ 140%**
血小板数（×10^9/L）	N.D.	828	N.D.	+ 27%**	N.D.	+ 25%**	N.D.	+ 30%**
投与 13 週目								
血小板数（×10^9/L）	—	876	—	+ 12%*	—	+ 14%**	—	+ 19%**
血液生化学検査 [a)]								
投与 6 週目								
尿素（mmol/L）	—	6.81	—	—	—	—	—	+ 23%**
クレアチニン（μmol/L）	43	—	- 12%*	—	- 14%**	—	- 16%**	—
カリウム（mmol/L）	5.1	—	—	—	—	—	- 14%#	—
投与 13 週目								
尿素（mmol/L）	—	5.77	—	—	—	—	—	+ 14%
カリウム（mmol/L）	—	4.6	—	- 7%	—	- 9%**	—	- 11%**

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）、N.D.：実施せず
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）、Shirley 検定：#p < 0.05（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.10.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験　試験番号：[redacted]0011（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
尿検査 a)								
投与 6 週目								
クレアチニン（μmol）	65.764	－	－	－	－	－	- 20%**	－
投与 13 週目								
クレアチニン（μmol）	81.264	－	－	－	－	－	- 19%*	－

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.10.3　ラットを用いた 13 週間反復皮下投与用量設定試験　試験番号：[redacted]0011（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
評価対象の投与部位 [a)]	60	60	60	60	60	60	60	60
剖検 [b)]								
投与部位								
肥厚	0	0	0	0	0	0	0	1
器官重量 [c)]								
脾臓（g） [d)]	0.781	0.529	—	—	—	—	+ 8%	+ 14%**
副腎（g） [e)]	0.056	—	—	—	—	—	- 18%##	—
病理組織学的検査 [f)]								
投与部位								
筋線維の変性／壊死	10	5	1	13	12	14	49	31

－：特記すべき所見なし
a) 計 10 例の 60 ヵ所の投与部位を評価（投与部位として 6 ヵ所/例を設定）、b) 発現例数、c) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
d) 相対重量、e) 絶対重量、f) 発現部位数
Williams 検定：**p < 0.01（媒体対照群との比較）、Shirley 検定：##p < 0.01（媒体対照群との比較）

2.6.7.10.4　　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験

報告書の表題：BBI-4000: Carcinogenicity Study by Subcutaneous Administration to Sprague-Dawley Rats for 104 Weeks

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ラット／SD　　投与期間：104 週間　　試験番号：[redacted]8VP

試験開始週齢：5～6 週齢　　投与方法：皮下投与　　CTD における資料番号：4.2.3.4.1-4

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　媒体／投与形態：生理食塩液／溶液　　GLP 適用：適

対照群の処置：生理食塩液

高用量の設定根拠：ラット 13 及び 26 週間反復皮下投与毒性試験の結果に基づいて設定した。

特記事項：トキシコキネティクス評価として、投与 13 及び 26 週目に BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雄：4	雌：4	雌：4
BBI-4000[b]								
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	67.9	103	223	195	235	680
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	83.9	107	266	399	368	1620
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	1	1	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	51.4	91.8	88.4	168	252	799
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	79.7	113	239	489	511	1380

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雄：4	雌：4	雌：4
BBI-4010[b]								
投与 13 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	11.1	10.7	40.0	26.0	39.7	140
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	19.3	23.7	58.9	142	86.1	560
投与 26 週目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	1	1	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	8.28	14.8	25.3	52.1	51.4	124
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	20.0	32.8	67.8	216	155	604

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
死亡／瀕死屠殺動物数	37	52	34	41	37	37	54	42
最終剖検例数	35	20	38	31	35	35	18	30
生存率（%、投与 104 週）	50	28	53	43	50	50	25	42
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
散瞳	なし	なし	あり	あり	あり	あり	あり	あり
触知可能な腫瘤	－	－	－	－	－	－	－	－
投与部位 [a)]								
挫傷	0	13	0	32	0	1	53	70
紅斑	2	9	7	4	2	7	6	44
痂皮	14	15	13	11	14	19	18	56
浮腫	0	0	1	0	1	0	0	20
体重増加量（g） [b)]								
投与 0～4 週	－	93	－	－	－	－	－	- 6%*
投与 4～8 週	－	39	－	－	－	－	－	- 15%**
投与 8～12 週	70	－	－	－	- 12%**	- 6%**	－	－
投与 16～52 週	172	101	－	- 18%**	- 11%*	- 15%**	- 23%**	- 33%**
投与 52～80 週	75	87	－	- 16%*	- 21%*	- 19%*	- 25%**	- 31%**
摂餌量（g） [b)]								
投与 1～104 週	－	146	－	－	－	－	- 6%##	- 6%##

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）、Shirley 検定：##p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
眼科的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
病理組織学的検査 a)								
腫瘍性病変								
副腎（評価動物数）	72	72	72	72	72	72	71	72
B-皮質腺腫	0	1	0	1	1	1	2	1
M-皮質癌	0	1	1	0	0	0	0	0
B-褐色細胞腫	7	2	3	1	6	6	0	1
M-悪性褐色細胞腫	0	0	2	0	1	0	0	0
脳（評価動物数）	72	72	72	72	72	72	71	72
B-顆粒細胞腫	0	0	0	0	1	1	0	0
M-悪性顆粒細胞腫	0	0	0	1	1	0	0	0
M-星状膠細胞腫	0	0	1	0	0	3	2	0
M-希突起膠細胞腫	0	0	1	1	0	1	1	0
造血系（評価動物数）	72	72	72	72	72	72	72	72
M-骨髄性白血病	0	0	0	0	0	2	1	1
M-リンパ腫	1	0	1	0	2	2	2	0
M-組織球肉腫	0	0	1	0	3	2	1	1
腸間膜リンパ節（評価動物数）	72	72	72	71	70	72	71	72
B-血管腫	1	0	2	0	1	0	0	0
M-血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0

a) 発現例数
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験 試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
病理組織学的検査（続き）[a]								
腫瘍性病変								
乳腺（評価動物数）	72	72	72	72	72	72	72	72
B-腺腫	0	6	0	2	0	0	5	5
B-線維腺腫	2	47	0	40	0	2	35	36
M-腺癌	1	25	2	23	0	0	20	20
膵臓（評価動物数）	71	72	72	72	71	72	71	72
B-腺房細胞腺腫	1	0	2	0	0	0	0	0
B-ラ氏島細胞腺腫	4	1	2	1	2	5	1	1
M-ラ氏島細胞癌	3	1	2	2	3	1	0	0
上皮小体（評価動物数）	69	69	69	70	69	71	67	69
B-主細胞腺腫	3	1	4	1	1	1	0	1
下垂体（評価動物数）	72	72	72	72	71	72	71	72
B-前葉腺腫	29	47	29	40	22	20	39	40
M-前葉癌	0	3	0	2	0	0	0	1
B-中間葉腺腫	0	0	2	0	1	0	0	1

a) 発現例数
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験 試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
病理組織学的検査（続き）[a]								
腫瘍性病変								
皮膚及び皮下組織（評価動物数）	72	72	72	72	72	72	72	71
B-線維腫	15	2	9	2	10	10	1	1
M-線維肉腫	3	0	1	1	3	2	0	3
M-多形線維肉腫	1	0	0	0	0	1	0	0
B-角化棘細胞腫	8	0	1	0	1	4	0	0
M-扁平上皮癌	5	0	1	0	2	1	0	1
B-扁平上皮乳頭腫	2	0	1	0	0	0	1	1
B-脂肪腫	4	1	4	0	1	0	3	0
B-基底細胞腫	0	0	1	1	0	0	0	0
M-悪性基底細胞腫	0	0	1	0	1	0	0	0
M-肉腫（NOS）	0	1	2	1	0	0	1	3
精巣（評価動物数）	72		72		72	72		
B-間細胞腫	3	N.A.	2	N.A.	5	0	N.A.	N.A.
甲状腺（評価動物数）	70	72	69	70	68	70	70	71
B-C 細胞腺腫	10	9	9	6	6	8	1	5
M-C 細胞癌	4	0	0	0	1	0	0	0
B-濾胞細胞腺腫	8	5	1	2	2	3	2	0
M-濾胞細胞癌	0	0	1	0	0	0	0	0

a) 発現例数、N.A：該当なし
B-：良性、M-：悪性、NOS：特定不能

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
動物数（試験開始時）	雄：72	雌：72	雄：72	雌：72	雄：72	雄：72	雌：72	雌：72
病理組織学的検査（続き）[a]								
腫瘍性病変								
子宮頸部（評価動物数）		72		71			72	72
B-子宮内膜間質ポリープ	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	N.A.	1	1
B-顆粒細胞腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	N.A.	1	1
M-悪性顆粒細胞腫	N.A.	0	N.A.	1	N.A.	N.A.	0	0
M-悪性神経鞘腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	N.A.	1	1
子宮（評価動物数）		72		71			72	72
B-子宮内膜間質ポリープ	N.A.	4	N.A.	6	N.A.	N.A.	6	8
膣（評価動物数）		72		71			72	72
B-顆粒細胞腫	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	N.A.	1	1
M-悪性顆粒細胞腫	N.A.	2	N.A.	0	N.A.	N.A.	0	0

a) 発現例数、N.A：該当なし
B-：良性、M-：悪性

（続く）

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復皮下投与がん原性試験　試験番号：[redacted]8VP（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.3	0.5	0.75	1.5		5
評価動物数	雄：35	雌：20	雄：38	雌：31	雄：35	雄：35	雌：18	雌：30
評価対象の投与部位 [a]	210	120	228	186	210	210	108	180
病理組織学的検査（続き）								
非腫瘍性病変								
投与部位 [b]								
皮筋層の欠損	9	0	5	1	9	32	3	169
真皮／皮筋層／皮下の出血	9	7	17	18	16	16	8	35
皮筋層の筋線維変性／壊死	0	0	0	0	5	16	2	82
真皮／皮下への炎症性単核細胞浸潤	5	2	2	3	3	13	4	91
表皮過形成	9	11	13	24	17	11	12	81
色素を貪食したマクロファージ浸潤	3	3	9	2	10	19	4	29
真皮／皮下の線維化	5	0	4	0	11	20	0	37
血管壁の肥厚	0	0	3	1	7	19	5	44

a) 評価動物のすべての投与部位を評価（投与部位として 6 ヵ所/例を設定）、b) 発現部位数

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg）	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
ラット／SD	皮下投与（生理食塩液／溶液）	妊娠 6～17 日	1、5、10	雌 8	5 mg/kg/day 群及び 10 mg/kg/day 群で、投与部位の痂皮形成、体重及び摂餌量の減少が認められた。	[redacted]0018	4.2.3.5.2-1
ウサギ／New Zealand White	皮下投与（生理食塩液／溶液）	妊娠 6～19 日	0.5、2.5、10	雌 8	2.5 mg/kg/day 群及び 10 mg/kg/day 群で、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。	[redacted]0019	4.2.3.5.2-3
ラット／SD	皮下投与（生理食塩液／溶液）	妊娠 6～授乳 10 日	1、3、10	雌 6	10 mg/kg/day 群で、投与部位の紅斑及び痂皮形成、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。	[redacted]5RV	4.2.3.5.3-1

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

報告書の表題：BBI-4000: Study for Effects on Fertility and Early Embryonic Development in the Sprague Dawley Rat by Subcutaneous Injection Administration

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験計画：ICH S5 4.1.1 準拠

投与期間：
雄：交配 4 週間前から剖検前日まで
（48～51 日間）
雌：交配 2 週間前から妊娠 7 日目まで

試験番号：[redacted]9PL

CTD における資料番号：4.2.3.5.1-1

GLP 適用：適

動物種／系統：ラット／SD

試験開始週齢：雄 8 週齢、雌 7 週齢

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（雄）
20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（雌）

交尾成立日：妊娠 0 日起算

帝王切開日：妊娠 14 日

投与方法：皮下投与

媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：F_0 雄：10 mg/kg/day
F_0 雌：10 mg/kg/day
初期胚発生：10 mg/kg/day

（続く）

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験　試験番号：[redacted]9PL

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1		3		10	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]								
投与 1 日目								
T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	285	233	581	415	879	1190
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	225	243	772	624	3770	4450
雄：投与 7 週目、雌：妊娠 7 日目								
T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.5	0.25	2	0.25	2	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	110	232	200	571	658	1070
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	285	177	836	500	8290	2410
BBI-4010[b]								
投与 1 日目								
T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.5	2	0.5	2	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	17.2	29.1	65.0	52.3	209	161
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	39.2	35.2	163	135	1310	1520
雄：投与 7 週目、雌：妊娠 7 日目								
T_{max}（h）	N.C.	N.C.	2	0.5	2	0.5	4	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	27.7	22.2	66.7	44.0	224	134
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	62.1	24.1	333	155	2860	943

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値
N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験　試験番号：[redacted]9PL（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	10
雄	動物数	22	22	22	22
	特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	1	0	0
	一般状態 a) 喘ぎ呼吸	0	1	0	1
	投与部位 a) 紅斑	0	2	0	22
	痂皮	1	3	2	22
	浮腫	0	0	0	11
	体重増加量（g）b) 投与 1～46 日	133	- 21%*	- 35%**	- 33%**
	摂餌量（g）b) 投与 1～28 日	29	- 7%*	- 10%**	- 14%**
	交尾動物数	22	21	22	22
	授胎動物数	21	21	21	22
	剖検 a) 投与部位 痂皮	0	0	1	15
	皮下の暗色部	0	1	1	10
	器官重量	－	－	－	－
	精子検査	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験　試験番号：[redacted]9PL（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	10
雌	動物数	22	22	22	22
	特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0
	一般状態 a) 喘ぎ呼吸	0	1	0	0
	投与部位 a) 紅斑	0	2	2	19
	痂皮	3	2	3	22
	浮腫	0	0	0	1
	体重増加量（g） 投与 1～4 日	2	2	0	- 4**
	摂餌量（g） b) 投与 1～3 日	19	- 5%*	- 16%**	- 16%**
	剖検 a) 投与部位				
	痂皮	0	0	0	3
	皮下の暗色部	0	0	0	0

a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験　試験番号：[redacted]9PL（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	10
雌	動物数	22	22	22	22
	性周期	－	－	－	－
	交配所要日数 a)				
	1～4 日	22（100）	22（100）	21（95）	22（100）
	5～8 日	0	0	1（5）	0
	交尾動物数	22	22	22	22
	妊娠動物数	21	22	21	22
	平均黄体数	17.0	17.1	16.4	16.4
	平均着床数	15.8	16.3	16.0	15.5
	平均吸収胚数	1.0	0.5	0.6	0.8
	平均生存胚数	14.7	15.8	15.4	14.7
	平均死亡率（%）				
	着床前	7.7	6.1	3.9	6.8
	着床後	6.3	2.6	3.4	5.9

－：特記すべき所見なし
a) 例数（%）

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1　　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書の表題：BBI-4000: Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the Sprague Dawley Rat by Subcutaneous Injection Administration

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験計画：ICH S5 4.1.3 準拠
動物種／系統：ラット／SD
試験開始週齢：10～11 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：妊娠 6～17 日
交尾成立日：妊娠 0 日起算
帝王切開日：妊娠 20 日
投与方法：皮下投与
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

試験番号：[redacted]0CS
CTD における資料番号：4.2.3.5.2-2
GLP 適用：適

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：F_0 雌：10 mg/kg/day
　　F_1 胎児：10 mg/kg/day

（続く）

2.6.7.13.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験　試験番号：[redacted]0CS

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）	1	3	10
動物数 （トキシコキネティクス）a)	3	3	3	3
BBI-4000b)				
妊娠 6 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	231	612	1230
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	173	557	2000
妊娠 17 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.5	0.25	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	136	444	874
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	177	901	3730
BBI-4010b)				
妊娠 6 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.25	0.25	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	21.9	52.3	124
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	23.8	93.7	682
妊娠 17 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.5	2	2
C_{max}（ng/mL）	N.C.	26.9	55.1	175
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	48.1	534	1800

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値
N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.13.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験　試験番号：[redacted]0CS（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	10
母動物／雌動物	動物数（妊娠動物数）	20（20）	20（20）	20（20）	20（20）
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	一般状態 a)				
	喘ぎ呼吸	0	0	1	0
	投与部位 a)				
	紅斑	0	0	0	12
	痂皮	0	0	0	11
	体重増加量（g） b)				
	妊娠 7～18 日	85	- 7%	- 8%	- 12%*
	摂餌量（g） b)				
	妊娠 6～17 日	27	- 4%*	- 7%**	- 11%**
	剖検	—	—	—	—
	平均黄体数	18.0	17.7	17.1	18.3
	平均着床数	16.6	15.8	16.4	17.0
	平均着床前死亡率（%）	8.3	11.3	4.1	7.6

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数
b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.13.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験　試験番号：[redacted]0CS（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	10
胎児	評価母体数	20	20	20	20
	平均生存胎児数	15.9	14.8	15.6	15.9
	平均吸収胚数	0.8	1.0	0.9	1.1
	死亡胎児を有する母体数	0	0	0	0
	平均着床後死亡率（%）	4.8	6.4	5.0	6.7
	平均胎盤重量（g）	0.51	0.54	0.52	0.54
	平均胎児体重（g）	3.59	3.67	3.68	3.73*
	胎児の性比（%雄）	44.5	49.1	52.2	51.6
	外表・内臓・骨格異常	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
Williams 検定：*$p < 0.05$（媒体対照群との比較）

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書の表題：BBI-4000: Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the New Zealand White Rabbit by Subcutaneous Injection Administration

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験計画：ICH S5 4.1.3 準拠
動物種／系統：ウサギ／New Zealand White
試験開始週齢：21～23 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：妊娠 6～19 日
交尾成立日：妊娠 0 日起算
帝王切開日：妊娠 29 日
投与方法：皮下投与
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

試験番号：[redacted]0015
CTD における資料番号：4.2.3.5.2-4
GLP 適用：適

特記事項：トキシコキネティクス評価として、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：F_0 雌：0.4 mg/kg/day 未満
F_1 胎児：10 mg/kg/day

（続く）

2.6.7.13.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験　試験番号：[redacted]0015

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）	0.4	2	10
動物数 （トキシコキネティクス）a)	3	3	3	3
BBI-4000b)				
妊娠 6 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	176	1260	5560
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	230	1050	5920
妊娠 19 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	168	1210	5100
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	211	1230	6750
BBI-4010b)				
妊娠 6 日目 T_{max}（h）	N.C.	0.5	0.5	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	17.2	102	461
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	116	234	1400
妊娠 19 日目 T_{max}（h）	N.C.	2	0.5	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	19.1	111	742
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	134	461	2430

a) 各採血時点の動物数、b) 平均値
N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.13.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験　試験番号：[redacted]0015（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	0.4	2	10
母動物／雌動物	動物数（妊娠動物数）	22（21）	22（19）	22（17）	22（19）
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	1	0	0
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	一般状態 a)				
	散瞳	0	22	22	22
	耳介の冷感又は温感	0	5	22	22
	投与部位 a)				
	紅斑	8	7	7	5
	挫傷	22	12	6	16
	浮腫	0	0	0	3
	体重増加量（kg）				
	妊娠 6～20 日	0.16	0.10	0.06*	- 0.06**
	摂餌量（g） b)				
	妊娠 6～19 日	127	- 11%	- 25%##	- 53%##
	剖検	－	－	－	－
	平均黄体数	10.5	11.2	11.1	9.9
	平均着床数	9.5	9.9	10.4	9.4
	平均着床前死亡率（%）	11.3	12.0	7.7	7.2

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数
b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Shirley 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）
Williams 検定：##p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 試験番号：[redacted]0015（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	0.4	2	10
胎児	評価母体数	21	19	17	19
	平均生存胎児数	9.2	9.5	9.7	8.5
	平均吸収胚数	0.3	0.4	0.6	0.9
	死亡胎児を有する母体数	0	0	0	0
	平均着床後死亡率（%）	4.2	3.7	5.5	8.9
	平均胎盤重量（g）	5.9	6.1	6.0	6.2
	平均胎児体重（g）	40.8	40.8	40.5	39.6
	胎児の性比（%雄）	52.5	57.4	51.2	49.3
	外表・内臓・骨格異常	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

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

報告書の表題：BBI-4000: Study for Effects on Pre- and Postnatal Development in the Sprague Dawley Rat by Subcutaneous Injection Administration

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験計画：ICH S5 4.1.2 準拠
動物種／系統：ラット／SD
試験開始週齢：10 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
特記事項：なし
無毒性量：F_0 雌：6 mg/kg/day
F_1 雄：6 mg/kg/day
F_1 雌：6 mg/kg/day

投与期間：妊娠 6 日～授乳 20 日
交尾成立日：妊娠 0 日起算
投与方法：皮下投与
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液
同腹児の調整／非調整：調整

試験番号：[redacted]1VT
CTD における資料番号：4.2.3.5.3-2
GLP 適用：適

（続く）

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験　試験番号：[redacted]1VT

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	6
F_0 雌	動物数（妊娠動物数）	22（22）	22（22）	22（22）	22（22）
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	一般状態 a)				
	喘ぎ呼吸	0	1	1	2
	投与部位 a)				
	痂皮	3	6	19	21
	体重増加量（g） b)				
	妊娠 6～20 日	113	- 4%	- 7%	- 17%**
	授乳 1～21 日	27	- 19%	+ 4%	+ 33%*
	摂餌量（g） b)				
	妊娠 6～19 日	26	- 4%	- 4%	- 8%**
	授乳 1～20 日	64	0%	0%	- 3%
	剖検	－	－	－	－
	妊娠期間（日数）	22.4	22.5	22.3	22.3
	異常分娩	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験　試験番号：[redacted]1VT（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	6
F_1 出生児（離乳前）	評価母体数	22	22	22	22
	平均着床数	16.5	16.8	16.2	15.8
	平均出生児数	16.1	15.6	16.2	15.0
	平均生存出生児数	15.8	15.2	16.0	14.6
	死亡産児を有する母体数	3	5	3	5
	出生 4 日後生存率（%）	99.1	97.7	98.9	99.7
	離乳時生存率（%）	99.5	99.1	98.6	99.1
	全同腹児死亡母体数	0	0	0	0
	出生児体重変化（g）[a)]				
	生後 1～21 日　雄	44.5	+ 1%	- 4%	- 9%**
	生後 1～21 日　雌	43.3	0%	- 6%**	- 9%**
	出生児性比（%雄）	50.3	44.0	53.3	56.4
	出生時一般状態	－	－	－	－
	出生時剖検	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験　試験番号：[redacted]1VT（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	6
F_1 雄（離乳後）	離乳後評価動物数	20	20	20	20
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	1	0
	一般状態	－	－	－	－
	剖検	－	－	－	－
	体重増加量（g）[a)] 生後 1～81 日	408	+ 7%	+ 9%*	+ 7%*
	包皮の分離	－	－	－	－
	行動	－	－	－	－
	学習及び記憶	－	－	－	－
	交配所要日数	－	－	－	－
	交尾動物数	20	20	20	20
	授胎動物数	20	19	20	20

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Williams 検定：*$p < 0.05$（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験　試験番号：[redacted]1VT（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	6
F_1 雌（離乳後）	離乳後評価動物数	20	20	20	20
	死亡及び瀕死屠殺動物数	1	0	1	0
	一般状態	－	－	－	－
	剖検	－	－	－	－
	体重増加量（g）[a]				
	交配前 1～39 日	150	+ 7%	+ 3%	+ 4%
	妊娠 0～20 日	159	+ 6%	+ 6%	+ 4%
	授乳 1～14 日	32	0%	+ 3%	0%
	膣開口までの平均日齢	－	－	－	－
	行動	－	－	－	－
	学習及び記憶	－	－	－	－
	平均交配所要日数	－	－	－	－
	精子が確認された雌動物数	20	20	20	20
	妊娠動物数	20	19	20	20
	平均妊娠期間（日数）	22.6	22.5	22.4	22.4
	異常分娩	1	0	0	0

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示

（続く）

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験　試験番号：[redacted]1VT（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）		0（媒体対照）	1	3	6
F_2 出生児	評価母体数	19	19	19	20
	平均着床数	15.7	15.8	15.9	16.4
	平均出生児数	14.4	14.6	14.9	15.5
	平均生存出生児数	14.1	14.4	14.8	15.5
	平均死亡出生児数	0.3	0.2	0.1	0.1
	出生 4 日後生存率（%）	99.7	99.3	98.2	97.6*
	離乳時生存率（%）	100	100	100	100
	出生児体重変化（g）a)				
	生後 1～14 日　雄	26.6	+ 5%	+ 2%	0%
	生後 1～14 日　雌	25.7	+ 5%	+ 2%	0%
	出生児性比（%雄）	49.7	51.7	52.5	52.2
	出生児一般状態	－	－	－	－
	出生児剖検	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示
Fisher の正確確率検定：*p < 0.05（媒体対照群との比較）

2.6.7.15 新生児を用いた試験

報告書の表題：BBI-4000: A 13-Week Repeat Dose Subcutaneous Injection Toxicity Study in Juvenile Rats with a 4-week Recovery Period

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統：ラット／SD　　投与期間：13 週間　　試験番号：[redacted]4435

試験開始週齢：生後 7 日齢　　休薬期間：4 週間　　CTD における資料番号：4.2.3.5.4-1

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：皮下投与　　GLP 適用：適

媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

特記事項：トキシコキネティクス評価としてサテライト群を設定し、BBI-4000 及び代謝物 BBI-4010 の血漿中濃度を測定した。

無毒性量：5 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]								
生後 7 日目	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
生後 98 日目	雄：3	雌：3	雄：4	雌：4[b]	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4[c]
BBI-4000[d]								
生後 7 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	867	692	1180	1080	4650	4590
AUC_{0-t}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	498	406	858	652	6290	5130
生後 98 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	90.3	93.8	246	266	434	631
AUC_{0-t}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	109	83.9	299	312	1780	1330

a) 各採血時点の動物数、b) 1 例を生後 46 日目に安楽死処置、c) 1 例が生後 40 日目に死亡、d) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.15　新生児を用いた試験　試験番号：[redacted]4435（続き）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（トキシコキネティクス）[a]								
生後 7 日目	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
生後 98 日目	雄：3	雌：3	雄：4	雌：4[b]	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4[c]
代謝物 BBI-4010[d]								
生後 7 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	29.6	19.6	30.9	32.5	121	95.8
AUC_{0-t}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	16.5	12.1	21.9	19.3	304	246
生後 98 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	1	0.25	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	8.25	7.65	22.8	26.4	71.5	97.0
AUC_{0-t}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	4.90	6.42	52.6	16.9	723	390

a) 各採血時点の動物数、b) 1 例を生後 46 日目に安楽死処置、c) 1 例が生後 40 日目に死亡、d) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.15　新生児を用いた試験　試験番号：[redacted]4435（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（反復投与＋回復性）	雄：5＋5	雌：5＋5	雄：5＋5	雌：5＋5	雄：5＋5	雌：5＋5	雄：5＋5	雌：5＋5
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	―	―	―	―	―	―	―	―
体重	―	―	―	―	―	―	―	―
摂餌量	―	―	―	―	―	―	―	―
離乳前の発達検査	―	―	―	―	―	―	―	―
性成熟検査（日齢）[a)]	43.8	30.6	42.0	30.4	42.6	31.3	43.1	31.2
眼科検査	―	―	―	―	―	―	―	―
機能観察総合評価法（FOB）	―	―	―	―	―	―	―	―
Morris 水迷路	―	―	―	―	―	―	―	―

―：特記すべき所見なし
a) 雄では包皮分離、雌では膣開口が認められた日齢

（続く）

2.6.7.15　新生児を用いた試験　試験番号：[redacted]4435（続き）投与期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（反復投与）	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－
大腿骨長	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査 [a)]								
投与部位								
炎症（皮筋）	0	2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	4	2
変性／壊死（皮筋）	0	1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2	1
萎縮（皮筋）	0	0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1	0
再生（皮筋）	0	0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	0	1
炎症（皮下組織）	4	4	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2	1

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、N.E.：実施せず

（続く）

2.6.7.15　新生児を用いた試験　試験番号：[redacted]4435（続き）回復期間

被験物質：ソフピロニウム臭化物

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		0.5		1.5		5	
動物数（回復性）	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
特記すべき所見 死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
体重	－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科検査	－	－	－	－	－	－	－	－
機能観察総合評価法（FOB）	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－
大腿骨長	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	－	－

－：特記すべき所見なし
N.E.：実施せず

2.6.7.16 局所刺激性試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統	投与方法 （媒体／投与形態）	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
ウシ角膜	10 分間（IPM1 製剤媒体／溶液）	生理食塩液、媒体、20%	3 例/群	BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%の処置後、角膜は不透明となり、生理食塩液（陰性対照）に比較して透過性及び混濁度の上昇が認められた。BBI-4000 gel（IPM1 製剤）20%の刺激性スコアは 61.0 ± 9.8 であり、「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）」の刺激性区分で区分 1 に識別され、眼に対する不可逆的な影響を有すると考えられた。	[redacted]4MS	4.2.3.6-1
ウサギ／New Zealand White	経皮、開放塗布、7 日間（IPM1 製剤媒体及び IPM2 製剤媒体／溶液）	15%（0.2 mL/部位）	雄 4 例/群	BBI-4000 gel（IPM1 製剤）15%及び BBI-4000 gel（IPM2 製剤）15%の皮膚刺激性の差は小さいと考えられた。	NT[redacted]002	4.2.3.6-2

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1　　皮膚感作性試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

動物種／系統	投与方法 （媒体／投与形態）	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
モルモット	感作及び誘発：経皮投与、閉塞塗布 （DB20 製剤媒体／溶液）	Buehler 法 感作 3 回（0.4 mL/部位）：媒体、10% 誘発（0.4 mL/部位）：媒体、10%	雌 媒体：11 例/群 10%：21 例/群	BBI-4000 gel（DB20 製剤）10%には皮膚感作性はないと考えられた。	[redacted]969	4.2.3.7.1-1
マウス／CBA/Ca	経皮投与、3 日間 （IPM2 製剤媒体／溶液）	アセトン／オリーブ油の 4:1 混合液、媒体、5%、10%、20%（25 µL/耳介、合計 50 µL）	雌 4 例/群	BBI-4000 gel（IPM2 製剤）にはいずれの濃度でも皮膚感作性はないと考えられた。	[redacted]7LK	4.2.3.7.1-2

2.6.7.17.2　不純物の毒性試験

2.6.7.17.2.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験

報告書の表題：BBI-4000及びBBI-4000[redacted]不純物（[redacted]及び[redacted]）のラットにおける4週間反復皮下投与毒性試験

被験物質：不純物含 BBI-4000

動物種／系統：ラット／SD
試験開始週齢：6 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：28 日間
休薬期間：なし
投与方法：皮下投与
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

試験番号：KP[redacted]215
CTD における資料番号：4.2.3.7.6-1
GLP 適用：適

特記事項：

- トキシコキネティクス評価としてサテライト群を設定し、BBI-4000 の血漿中濃度を測定した。
- BBI-4000[redacted]不純物（BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2）の毒性を検討するため、BBI-4000-B1 及び BBI-4000-B2 を BBI-4000 に対してそれぞれ 0.8%（w/w）、計 1.6%（w/w）添加した BBI-4000（不純物含 BBI-4000）を用いた。

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1（BBI-4000）		10（BBI-4000）		1（不純物含 BBI-4000）		10（不純物含 BBI-4000）	
動物数（トキシコキネティクス）[a]	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
BBI-4000[b]										
投与 1 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.3	0.3	0.7	0.3	0.3	0.3	0.6	0.3
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	171	191	961	1077	158	165	609	1080
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	99.7	94.6	1405	1173	86.6	81.1	1126	1164
投与 28 日目 T_{max}（h）	N.C.	N.C.	0.3	0.3	0.8	0.3	0.3	0.3	0.8	0.5
C_{max}（ng/mL）	N.C.	N.C.	253	275	1085	2167	214	278	1469	1347
AUC_{0-24}（ng·h/mL）	N.C.	N.C.	213	225	2676	3558	205	182	3091	2808

a) 各採血時点の評価動物数、b) 平均値、N.C.：算出せず

（続く）

2.6.7.17.2.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：KF[redacted]215（続き）投与期間

被験物質：不純物含 BBI-4000

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1（BBI-4000）		10（BBI-4000）		1（不純物含 BBI-4000）		10（不純物含 BBI-4000）	
動物数（反復投与）	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
投与部位 a)										
痂皮	0	0	0	0	1	2	0	0	3	1
体重（g） b)										
投与 28 日目	383	—	—	—	- 7%	—	—	—	- 6%	—
摂餌量（g） b)										
投与 4 日目	26.6	19.3	—	—	- 12%**	—	—	—	- 10%**	- 12%**
投与 8 日目	28.2	—	—	—	- 8%*	—	—	—	—	—
投与 11 日目	29.7	—	—	—	- 10%*	—	—	—	—	—
眼科的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
散瞳 a)	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10

－：特記すべき所見なし
a) 発現例数、b) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
Dunnett 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

（続く）

2.6.7.17.2.1　ラットを用いた 28 日間反復皮下投与毒性試験　試験番号：KF[redacted]215（続き）投与期間

被験物質：不純物含 BBI-4000

投与量（mg/kg/day）	0（媒体対照）		1（BBI-4000）		10（BBI-4000）		1（不純物含 BBI-4000）		10（不純物含 BBI-4000）	
動物数（反復投与）	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学検査 a)										
AST（U/L）	76	66	－	－	+ 16%*	+ 20%**	－	－	+ 17%**	+ 15%**
尿検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
剖検 b)										
投与部位										
痂皮	0	0	0	0	1	2	0	0	3	0
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査 b)										
投与部位										
炎症	2	5	0	0	7	7	0	0	9	9
筋線維の壊死／再生	0	2	0	0	10	10	0	0	10	10
痂皮	0	0	0	0	2	2	0	0	4	1

－：特記すべき所見なし
a) 媒体対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）
b) 発現例数
Dunnett 検定：*p < 0.05、**p < 0.01（媒体対照群との比較）

2.6.7.17.2.2　BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の表題：BBI-4000[redacted]不純物（[redacted]）の細菌を用いる復帰突然変異試験

被験物質：BBI-4000-B1
菌株：*Salmonella typhimurium*（TA98、TA100、TA1535、TA1537）、*Escherichia coli*（WP2*uvrA*）
試験番号：KF[redacted]212
独立して実施した試験数：2
プレート数：用量設定試験：2 枚/用量
本試験：2 枚/用量
CTD における資料番号：4.2.3.7.6-2
GLP 適用：適
代謝活性化系：Phenobarbital 及び 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝 S9
処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（用量設定試験）、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（本試験）
媒体：dimethyl sulfoxide（DMSO）［sodium azide（NaN_3）のみ注射用水］
陽性対照物質：S9-：2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide（AF-2）、NaN_3、9-aminoacridine hydrochloride（9AA）
S9+：2-aminoanthracene（2AA）
処理：プレインキュベーション法（37℃、20 分間）、48～50 時間培養
細胞毒性：用量設定試験　S9-：TA100、TA1535 及び TA1537；556 μg/plate 以上、WP2*uvrA* 及び TA98；5000 μg/plate
S9+：TA1535 及び TA1537；185 μg/plate 以上、TA100；556 μg/plate 以上、WP2*uvrA* 及び TA98；1667 μg/plate 以上
本試験　S9-：TA1535 及び TA1537；313 μg/plate 以上、TA100；625 μg/plate、WP2*uvrA* 及び TA98；5000 μg/plate
S9+：TA1535 及び TA1537；156 μg/plate 以上、TA100；625 μg/plate、WP2*uvrA* 及び TA98；2500 μg/plate
特記事項：なし
遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.17.2.2　BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]212（続き）用量設定試験

被験物質：BBI-4000-B1

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	123	8	21	19	6
	BBI-4000-B1	0.762	135	7	25	23	7
		2.29	131	10	24	20	5
		6.86	125	11	20	17	3
		20.6	115	11	23	17	5
		61.7	123	7	26	21	6
		185	129	7	26	17	6
		556	101*	9*	19	18	3*
		1667	99*	9*	16	17	2*
		5000	58*	0*	13*	15*	2*
	陽性対照	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9AA
		用量（μg/plate）	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数	957	393	111	462	317

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B1 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.2　BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]212（続き）用量設定試験

被験物質：BBI-4000-B1

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	117	8	22	33	11
	BBI-4000-B1	0.762	113	9	21	27	13
		2.29	121	10	22	31	13
		6.86	123	9	30	30	10
		20.6	129	8	29	27	11
		61.7	121	9	31	31	10
		185	121	5*	30	27	10*
		556	111*	4*	24	33	7*
		1667	103*	6*	25*	21*	10*
		5000	96*	6*	12*	20*	5*
	陽性対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	1	2	10	0.5	2
		コロニー数	883	145	678	241	149

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B1 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.2　BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]212（続き）本試験

被験物質：BBI-4000-B1

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	117	8	23	23	5
	BBI-4000-B1	19.5	118	7	N.T.	N.T.	5
		39.1	119	8	N.T.	N.T.	6
		78.1	122	8	N.T.	N.T.	5
		156	121	11	24	24	5
		313	105	7*	26	17	6*
		625	109*	8*	21	17	3*
		1250	N.T.	N.T.	22	20	N.T.
		2500	N.T.	N.T.	20	19	N.T.
		5000	N.T.	N.T.	13*	11*	N.T.
	陽性対照	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9AA
		用量（μg/plate）	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数	937	380	141	520	337

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO、N.T.：実施せず
*：BBI-4000-B1 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.2　BBI-4000-B1 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]212（続き）本試験

被験物質：BBI-4000-B1

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	115	9	25	33	9
	BBI-4000-B1	4.88	N.T.	9	N.T.	N.T.	9
		9.77	N.T.	11	N.T.	N.T.	11
		19.5	115	9	N.T.	N.T.	10
		39.1	125	7	27	28	8
		78.1	125	6	24	30	12
		156	122	7*	25	28	9*
		313	113	7*	25	31	9*
		625	105*	N.T.	25	30	N.T.
		1250	N.T.	N.T.	26	25	N.T.
		2500	N.T.	N.T.	22*	23*	N.T.
	陽性対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	1	2	10	0.5	2
		コロニー数	975	140	796	233	148

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO、N.T.：実施せず
*：BBI-4000-B1 処理による生育阻害が認められた。

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の表題：BBI-4000[redacted]不純物（[redacted]）の細菌を用いる復帰突然変異試験

被験物質：BBI-4000-B2
菌株：*Salmonella typhimurium*（TA98、TA100、TA1535、TA1537）、*Escherichia coli*（WP2*uvrA*）
試験番号：KF[redacted]211
独立して実施した試験数：2
プレート数：用量設定試験：2 枚/用量
本試験：2 枚/用量
CTD における資料番号：4.2.3.7.6-3
GLP 適用：適

代謝活性化系：Phenobarbital 及び 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝 S9
処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（用量設定試験）、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（用量設定試験の再試験）、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（本試験）
媒体：dimethyl sulfoxide（DMSO）［sodium azide（NaN_3）のみ注射用水］
陽性対照物質：S9-：2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide（AF-2）、NaN_3、9-aminoacridine hydrochloride（9AA）
S9+：2-aminoanthracene（2AA）
処理：プレインキュベーション法（37℃、20 分間）、48～52 時間培養
細胞毒性：用量設定試験　S9-：TA1535 及び TA1537；185 µg/plate 以上、TA100；556 µg/plate 以上、TA98；1667 µg/plate 以上、WP2*uvrA*；5000 µg/plate
S9+：TA1535 及び TA1537；185 µg/plate 以上、TA100；556 µg/plate 以上、WP2*uvrA* 及び TA98；1667 µg/plate 以上
本試験　S9-：TA1535；156 µg/plate 以上、TA1537；313 µg/plate 以上、TA100；625 µg/plate、TA98；2500 µg/plate、WP2*uvrA*；5000 µg/plate
S9+：TA1535 及び TA1537；156 µg/plate 以上、TA100；625 µg/plate、TA98；1250 µg/plate 以上、WP2*uvrA*；2500 µg/plate
特記事項：用量設定試験において、TA1535 及び TA1537 では生育阻害が認められない用量が 4 用量以上とならなかったため、低用量を追加して再試験を実施した。
遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）用量設定試験

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	116	7	21	24	6
	BBI-4000-B2	6.86	131	7	20	18	4
		20.6	114	6	16	17	5
		61.7	125	7	22	15	2
		185	134	7*	20	21	6*
		556	94*	3*	14	11	3*
		1667	91*	4*	20	11*	0*
		5000	71*	0*	13*	12*	0*
	陽性対照	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9AA
		用量（μg/plate）	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数	708	341	117	390	306

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）用量設定試験

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	126	9	25	27	7
	BBI-4000-B2	6.86	137	6	23	28	8
		20.6	137	10	20	27	6
		61.7	128	8	17	31	8
		185	133	4*	18	24	7*
		556	99*	8*	27	29	9*
		1667	86*	6*	21*	15*	5*
		5000	82*	2*	16*	18*	4*
	陽性対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	1	2	10	0.5	2
		コロニー数	842	155	663	242	146

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）用量設定試験（再試験）

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレインキュベーション法		
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート	
			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA1535	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	12	5
	BBI-4000-B2	0.762	14	2
		2.29	18	5
		6.86	14	3
		20.6	15	2
		61.7	11	4
		185	10*	7
		556	7*	3*
	陽性対照	名称	NaN_3	9AA
		用量（μg/plate）	0.5	80
		コロニー数	379	276

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）用量設定試験（再試験）

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレインキュベーション法		
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート	
			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA1535	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	9	8
	BBI-4000-B2	0.762	10	7
		2.29	12	11
		6.86	9	7
		20.6	10	5
		61.7	9	8
		185	7*	7*
		556	5*	6*
	陽性対照	名称	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	2	2
		コロニー数	158	115

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）本試験

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の非存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の非存在下	媒体対照 b)	0	106	8	24	15	7
	BBI-4000-B2	4.88	N.T.	8	N.T.	N.T.	7
		9.77	N.T.	4	N.T.	N.T.	5
		19.5	129	9	N.T.	N.T.	4
		39.1	128	8	N.T.	16	4
		78.1	124	6	N.T.	16	5
		156	127	5*	20	18	9
		313	125	6*	19	17	3*
		625	103*	N.T.	23	13	3*
		1250	N.T.	N.T.	20	19	N.T.
		2500	N.T.	N.T.	20	9*	N.T.
		5000	N.T.	N.T.	17*	N.T.	N.T.
	陽性対照	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9AA
		用量（μg/plate）	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数	724	442	145	416	340

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO、N.T.：実施せず
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

（続く）

2.6.7.17.2.3　BBI-4000-B2 の細菌を用いた復帰突然変異試験　試験番号：KF[redacted]211（続き）本試験

被験物質：BBI-4000-B2

細菌を用いた復帰突然変異試験成績（代謝活性化系の存在下）

試験方法		プレインキュベーション法					
試験物質		用量（μg/plate）	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化系の存在下	媒体対照 b)	0	139	9	20	30	9
	BBI-4000-B2	4.88	N.T.	11	N.T.	N.T.	8
		9.77	N.T.	7	N.T.	N.T.	13
		19.5	136	9	N.T.	N.T.	11
		39.1	120	6	30	29	11
		78.1	119	8	28	26	11
		156	135	6*	26	31	9*
		313	118	6*	27	24	11*
		625	93*	N.T.	27	35	N.T.
		1250	N.T.	N.T.	23	25*	N.T.
		2500	N.T.	N.T.	22*	22*	N.T.
	陽性対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量（μg/plate）	1	2	10	0.5	2
		コロニー数	843	135	556	239	158

a) 2 枚のプレートのコロニー数の平均値、b) DMSO、N.T.：実施せず
*：BBI-4000-B2 処理による生育阻害が認められた。

2.6.7.17.2.4　BBI-4000-B1 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

報告書の表題：BBI-4000[redacted]不純物（[redacted]）のヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

被験物質：BBI-4000-B1
細胞：ヒト末梢血リンパ球
試験番号：KP[redacted]214
独立して実施した試験数：1　　培養数/用量：2
CTD における資料番号：4.2.3.7.6-4
代謝活性化系：Phenobarbital 及び 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝 S9
GLP 適用：適
分析細胞数/用量：300 個
処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
媒体：被験物質；dimethyl sulfoxide（DMSO）
　　陽性対照物質；Methyl methanesulfonate（MMS）は生理食塩液、Cyclophosphamide monohydrate（CP）は注射用水
陽性対照物質：代謝活性化系の非存在下及び連続処理法：MMS
　　代謝活性化系の存在下：CP
薬物処理条件：短時間処理法（3 時間処理-21 時間回復）；代謝活性化系の非存在下及び存在下
　　連続処理法（24 時間処理）；代謝活性化系の非存在下
細胞毒性：なし
特記事項：なし
遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.17.2.4　BBI-4000-B1 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：KF[redacted]214（続き）

被験物質：BBI-4000-B1

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞			ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質			MMS（代謝活性化系の非存在下） CP（代謝活性化系の存在下）				
試験群構成			媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000-B1		
短時間処理法	用量（μg/mL）		0	75	118	235	470
	代謝活性化系の非存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.00	27.33**	0.00	0.33	0.67
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	用量（μg/mL）		0	10	118	235	470
	代謝活性化系の存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.00	50.33**	0.00	0.00	0.00
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00

a) DMSO
Fisher's Exact Test：**p < 0.01（媒体対照との比較）

（続く）

2.6.7.17.2.4　BBI-4000-B1 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：KF[redacted]214（続き）

被験物質：BBI-4000-B1

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞		ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質		MMS（代謝活性化系の非存在下）				
試験群構成		媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000-B1		
連続処理法	用量（μg/mL）	0	37.5	118	235	470
	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.00	28.00**	0.00	0.00	0.33
	染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00

a) DMSO
Fisher’s Exact Test：**p < 0.01（媒体対照との比較）

2.6.7.17.2.5　BBI-4000-B2 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

報告書の表題：BBI-4000[redacted]不純物（[redacted]）のヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

被験物質：BBI-4000-B2
細胞：ヒト末梢血リンパ球
試験番号：KP[redacted]213
独立して実施した試験数：1　　培養数/用量：2
CTD における資料番号：4.2.3.7.6-5
代謝活性化系：Phenobarbital 及び 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝 S9
GLP 適用：適
分析細胞数/用量：300 個
処理年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
媒体：被験物質；dimethyl sulfoxide（DMSO）
　　陽性対照物質；Methyl methanesulfonate（MMS）は生理食塩液、Cyclophosphamide monohydrate（CP）は注射用水
陽性対照物質：代謝活性化系の非存在下及び連続処理法：MMS
　　代謝活性化系の存在下：CP
薬物処理条件：短時間処理法（3 時間処理-21 時間回復）；代謝活性化系の非存在下及び存在下
　　連続処理法（24 時間処理）；代謝活性化系の非存在下
細胞毒性：なし
特記事項：なし
遺伝毒性：なし

（続く）

2.6.7.17.2.5　BBI-4000-B2 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：KF[redacted]213（続き）

被験物質：BBI-4000-B2

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞			ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質			MMS（代謝活性化系の非存在下） CP（代謝活性化系の存在下）				
試験群構成			媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000-B2		
短時間処理法	用量（μg/mL）		0	75	118	235	470
	代謝活性化系の非存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.00	45.67**	0.67	0.33	0.67
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33
	用量（μg/mL）		0	10	118	235	470
	代謝活性化系の存在下	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.00	56.33**	0.00	0.00	0.00
		染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.00	0.67	0.00

a) DMSO
Fisher's Exact Test：**p < 0.01（媒体対照との比較）

（続く）

2.6.7.17.2.5　BBI-4000-B2 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　試験番号：KF[redacted]213（続き）

被験物質：BBI-4000-B2

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験成績

使用細胞		ヒト末梢血リンパ球				
陽性対照物質		MMS（代謝活性化系の非存在下）				
試験群構成		媒体対照 a)	陽性対照	BBI-4000-B2		
連続処理法	用量（μg/mL）	0	37.5	118	235	470
	染色体構造異常細胞の出現頻度（%）	0.33	45.67**	0.00	0.00	0.33
	染色体数的異常細胞の出現頻度（%）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

a) DMSO
Fisher’s Exact Test：**p < 0.01（媒体対照との比較）

2.6.7.18 参考文献

1) [redacted]、[redacted]、科研製薬株式会社社内資料、試験番号：A[redacted]052、20[redacted] 年.
2) BBI-4000 gel IND 申請資料、Brickell Biotech 社、IND [redacted]、[redacted]、20[redacted] 年.