

発生に関する NOAEL は675 mg/kg/日以上（225 mg/kg TID 以上）であった。

2.6.6.6.4 出生児（幼若動物）への投与あるいは更なる評価を行った試験

MK-7264は、難治性又は原因不明の慢性咳嗽の治療薬として小児集団に投与することは意図していないため、出生児（幼若動物）に直接投与した非臨床試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

労働安全プログラムを支持するため、局所刺激性試験〔ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験及び MatTek EpiDerm™ メチルチアゾールテトラゾリウム（MTT）生存率アッセイ〕を実施した。

2.6.6.7.1 ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験（TT #■■-7821）[資料4.2.3.6.1: TT■■7821]

本試験の目的は、Draize 法の代替法を用いて眼刺激性を明らかにすることであった[2.6.7.16 項]。角膜5つを0.75 mL の20% MK-7264調製液で処理した。混濁度及びフルオレセインナトリウムの透過性を測定した。本試験において MK-7264は非刺激性であった。

2.6.6.7.2 MatTek EpiDerm™ MTT 生存率アッセイ（TT #■■-7822）[資料4.2.3.6.2: TT■■7822]

本試験の目的は、Draize 法の代替法を用いて皮膚刺激性の推定値を示すことであった[2.6.7.16 項]。MatTek EpiDerm™ MTT 生存率アッセイは、皮膚に及ぼしうる危険性を評価する定量法であることが実証されている。MatTek EpiDerm™組織試料をそれぞれ2検体、MK-7264（100 mg）で1、4及び24時間、又は1% Triton® X-100（陽性対照）で4及び9時間処理した。陰性対照（未処理の組織）も同様に4時間処理でのみ評価した。処理後、MTT の取り込みと還元反応により組織の生存率を評価した。参照波長を690 nm とし、各試料の吸光度を540 nm で測定した。その上で、生存率を陰性対照値に対する割合として示した。各時点の平均生存率を用いて EpiDerm™組織の生存率が対照組織の50%となる時間（ET₅₀）を算出した。ET₅₀スコアを刺激性区分に変換した。その結果 MK-7264は非刺激性（ET₅₀が24.0時間超）であった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性／免疫原性試験

反復投与毒性試験において、MK-7264の抗原性を示唆する所見又は変化はみられなかった[2.6.6.3 項]。したがって、抗原性の評価は実施しなかった。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

反復投与毒性試験において MK-7264の免疫毒性を示す所見は得られておらず[2.6.6.3 項]、免疫毒性学的リスクのエビデンスは得られていない。したがって、ICH S8ガイドライン「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」に従い、新たな免疫毒性試験は実施しなかった。複数の動物種を用いた反復投与試験の結果から、自己免疫性又は炎症性の有害な影響又はリンパ組織に対す

る有害な影響のエビデンスは認められなかった。これらの試験において、血液学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を組み合わせることで、MK-7264に免疫毒性は懸念されないという強固なエビデンスが得られた。

労働安全プログラムを支持するため、マウスを用いた局所リンパ節試験を実施した。これを下記[2.6.6.8.2.1 項]に示す。

2.6.6.8.2.1 マウスの局所リンパ節試験 (TT #■■■-7823) [資料4.2.3.7.2.1: TT■■■7823]

本試験の目的は、局所投与した MK-7264の感作性を明らかにすることであった[2.6.7.17 項]。MK-7264 [N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) で5%、10%及び25% (w/v) に調製]、陽性対照 (25% v/v ヘキシルシンナムアルデヒド) 又は媒体対照 (DMF) を雌 CBA/J マウス (各群5例) の一方の耳介の背側局所に、3日間連続して QD で塗布した。本試験のすべての動物を、試験期間を通して 1日1回、臨床症状、塗布部位の局所刺激性又は全身毒性のいずれか及び死亡について観察した。体重は試験1日の初回投与前、試験3日及び試験6日の安楽殺前に測定した。

本試験では、安楽殺の約5時間前に、マウスをチミジンアナログである5-ブromo-2'-デオキシウリジン (BrdU) を腹腔内注射した。安楽殺後、耳介リンパ節を摘出してリンパ節細胞 (LNC) の単一細胞懸濁液を作製し、この LNC 懸濁液をフローサイトメトリーで BrdU の取込み (%BrdU+ LNC) 及び LNC の合計数について分析した。増殖中の LNC (#BrdU+) の数を算出し、局所リンパ節の増殖反応の指標として用いた。

すべての動物は剖検まで生存し、正常であった。25% MK-7264群の1例の体重は、試験期間を通して0.3 g 減少した。その他の全例の体重変化は正常であった。耳介厚の測定値及び個々の動物の臨床症状からは、MK-7264による中等度以上の局所皮膚刺激性は認められなかった。MK-7264の局所投与 [DMF で5%、10%又は25% (w/v) に調製] による刺激指数は3.0未満であった。したがって MK-7264は皮膚感作性物質とは考えられない。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

MK-7264の作用機序を薬力学試験の一環として評価した[2.6.2 項]。その他の作用機序試験は実施していない。

2.6.6.8.4 依存性試験

動物を用いた依存性試験は実施していない。これは MK-7264が、依存性と関連する薬理作用を示さず、また、脳幹には P2X3受容体の明らかな発現はみられないという事実によるものである。

モノアミン輸送体 (ドパミン及びノルエピネフリン)、GABA チャネル/ベンゾジアゼピン部位、コリン作動性受容体、オピオイド受容体 (μ 、 δ 及び κ) 並びに N-メチル D-アスパラギン酸受容体など、依存性と関連することが既知の薬理学的標的を用いた選択性スクリーニング試験では、依存性と関連する薬理学的標的の基準範囲において、MK-7264は顕著な活性をもっていなかった。

[2.6.2.3.1 項]。

ラットに経口又は皮下投与したとき、MK-7264は中枢神経系（CNS）に顕著に移行することはなく、脳-血漿の濃度比（約0.05）及び脳脊髄液（CSF）-血漿の濃度比（約0.1）は低かった。ヒトに高い臨床用量を投与したときに予想される曝露量と同様の血漿中曝露量を達成するようデザインした、 $[^{14}\text{C}]$ MK-7264を用いたラットの定量的全身オートラジオグラフィー試験において、全脳、小脳、大脳、延髄及び脊髄中の放射能レベルは、全時点において定量下限（組織1 g あたり0.0675 μg 相当）未満であった[2.6.4.4.1 項]。

神経行動学的試験において、ラットの Irwin 法[2.6.2.4 項]及び自発運動の定量的評価試験[2.6.2.3.2.1 項]により評価したとき、CNS 活性又は薬物依存のリスクを示唆する MK-7264の影響は認められなかった。

ラット及びイヌを用いた経口投与毒性試験（それぞれ最長6ヵ月間及び9ヵ月間）において、投与量にかかわらず CNS に関連した生前所見又は病理組織学的所見は認められなかった[2.6.6.3 項]。

薬物依存に関連した有害事象の臨床的な評価により、開発プログラムを網羅して薬物依存性を評価したところ、MK-7264にはその徴候は認められていない[2.7.4.5.6 項]。

2.6.6.8.5 代謝物に関する試験

ヒト血漿において各代謝物の曝露量は、被験物質に関連した総曝露量の10%未満であった[2.6.4.5.1.3 項]。したがって MK-7264は ICH M3 (R2)ガイドラインの代謝物の安全性評価の要件を満たしたことから、個々の代謝物に関する試験は実施しなかった。代謝物の潜在的な毒性は反復投与毒性試験の一環として評価した[2.6.6.3 項]。

2.6.6.8.6 不純物に関する試験

MK-7264の不純物及び分解生成物は、それらがラットを用いた3ヵ月間投与毒性試験において評価したバッチ中に存在していたことを基に、ICH Q3A (R2)及び ICH Q3B (R2)に従って評価した。MK-7264に関連した各不純物又は分解生成物において、MK-7264のヒト1日投与量 [45 mg の BID 投与 (90 mg/日)] に含まれる不純物を基準としたときの用量比を[表 2.6.6-13]に示す。

さらに、各出発物質、中間体及び原薬／製剤中で同定されている不純物を含む潜在的及び実際の不純物に関しては、その変異原性について、ICH M7ガイドラインに従い、[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）の記載のとおり評価した。[表 2.6.6-13]に示した規格設定した不純物すべてを評価し、アラート構造を有しないことを確認した。ICH M7ガイドラインの注1に従い、いずれの不純物も患者に投与される1日量が1 mg 未満であることから、変異原性及び遺伝毒性に関するさらなる安全性評価は不要である。

表 2.6.6-13 MK-7264 の不純物及び用量比

Impurity	Toxicology Study Content (%) ^a	NOAEL ^a (mg/kg/day)	Qualified Level (%) ^{b, c}	Specification Limits (%)	Margin ^d
不純物A*		50			5
不純物B*		50			3.5
不純物C*		50			2.2
不純物D*		50			2.2
不純物E*		50			2
不純物F*		50			6.4

NOAEL = No-Observed-Adverse-Effect Level

a TT # [REDACTED]-1011: Three-Month Oral Toxicity Study in Rats with a One-Month Interim Necropsy [2.6.6.8.6.1 項], nonclinical Batch/Lot # [REDACTED].

b Based on a clinical dose of 45 mg BID (90 mg/day).

c Qualified level = (% impurity in toxicology study x non-clinical NOAEL dose [mg/kg/day]) / (body surface area conversion factor [i.e.5 for rats] x 1.8 mg/kg/day clinical dose [e.g., 90 mg/day / 50 kg clinical body weight]). Based on ICH impurity-related guidelines (e.g., Q3C and Q3D).

d Margin = Qualified Level/ Specification Limits.

2.6.6.8.6.1 MK-7264 : 1ヵ月後の中間剖検を含むラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験 (TT # [REDACTED]-1011) [資料4.2.3.7.6.1: TT [REDACTED] 1011]

本試験の目的は、ラットに MK-7264の新規バッチ ([REDACTED]) を QD で約1ヵ月又は3ヵ月間強制経口投与したときの潜在的な毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを明らかにすることであった[2.6.7.17 項]。

CrI:WI (Han) ラットを2群に割り付け (それぞれ雌雄各20例)、MK-7264 50 mg/kg/日 [REDACTED] [REDACTED] に懸濁] 又は媒体のみを5 mL/kg の投与容量で投与した。1群あたり雌雄各10例を約1ヵ月間の投与後に中間剖検する群 (コホート A) とし、1群あたり雌雄各10例を約3ヵ月間の投与後に最終剖検する群 (コホート B) とした。

死亡、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理及び病理検査に基づき毒性を評価した。投与群及び対照群の血漿中 MK-7264濃度を測定した。

計画外の死亡はなかった。被験物質に関連した臨床症状、体重及び摂餌量の変化は認められなかった。さらに被験物質に関連した眼科学的所見、臨床病理検査所見及び病理検査所見 (剖検、器官重量、病理組織学的所見) も認められなかった。

試験5週及び13週における MK-7264の血漿中トキシコキネティクスパラメータの平均値を[表 2.6.6-14]に示す。

* 新薬承認情報提供時に置き換え

Dose (mg/kg/day) ^a	Study Week	AUC _{0-24 hr} (ng·hr/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)
50	5	6220	2360	0.50
	13	9360	4330	0.50

AUC_{0-24 hr} = Area under the curve from 0 to 24 hours; C_{max} = Maximum observed plasma concentration; LLOQ = Lower limit of quantitation; T_{max} = Time at maximum plasma concentration

^a MK-7264 concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 hours postdose were below the lower limit of quantitation (LLOQ = 5 ng/mL) of the bioanalytical method.

生前所見及び病理検査所見が認められなかったことに基づき、NOAEL は50 mg/kg/日以上であった。

2.6.6.8.7.1.1 光毒性試驗 (in vitro) (TT # [REDACTED]-7843) [資料4.2.3.7.7.1: TT [REDACTED]-7843]

MK-7264は、0.49～300.00 µg/mL の濃度範囲で検討した。陽性対照としてクロルプロマジン塩酸塩を用いた。細胞の生存の50%阻害を誘導する MK-7264濃度 (IC₅₀値) は、非照射 (DARK) の細胞毒性対照としては300 µg/mL超であった。紫外線 A 波 (UVA) 照射細胞における IC₅₀値も300 µg/mL 超であったため、光毒性に関する DARK/UVA の判別係数は算出できなかった。

本試験の条件下では、MK-7264は *in vitro* において UVA 照射後の光毒性を示さなかった。

2.6.6.8.7.2.1 ラットを用いた7日間経口投与探索的毒性試験 (TT# [REDACTED]-7915) [資料4.2.3.7.7.2: TT# [REDACTED] 7915]

雌雄各5例の Wistar Han ラットを媒体対照群（XXXXXXXXXX）に割り付け、さらに雄35例及び雌45例のラットを MK-7264群に割り付けた。

ラットには媒体又は2000 mg/kg/日の MK-7264を QD で1又は7日間強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。臨床症状及び体重を計画した間隔で記録した。尿検体を、複数の試験日で、投

与後の様々な間隔で採取した。尿検体を用いて標準的な尿検査、尿生化学検査、標準的な病理組織学的検査及び共焦点分散型ラマン顕微鏡検査（観察された結晶の化学組成を特定するため）を行った。血漿中薬物濃度を試験1日の複数の時点と、試験7日の投与後6及び24時間時点で評価した。剖検時に採取した血液検体を用いて血清生化学的検査を実施した。試験1日の投与後3、6及び24時間、試験7日の投与後6時間及び試験8日の最終投与後24時間の時点で剖検を実施した。腎臓、尿管及び膀胱を剖検し、保存後、病理組織学的検査を行った。

すべてのラットが、計画剖検時まで生存した。2000 mg/kg/日群のラットで試験5日以降に認められた臨床症状は、軟便、糞少量、便の変色、粗毛及び脱水であった。2000 mg/kg 群の雌雄において試験1日あるいは2日に軽度の体重減少が認められた。また雌雄とも投与後3時間ですでに結晶尿が認められた。結晶尿は、投与した雌雄両方で、試験1日及び7日の投与後3、6及び24時間で採取した尿検体で認められた。投与した動物からプールした尿検体を、共焦点ラマン分光法により分析した結果、結晶の組成は主に被験物質の MK-7264であることが示された。しかしながら、血清生化学的検査、尿生化学的検査、尿検査又は病理組織学的検査上の変化は、雌のみで認められた。このことは、過去の MK-7264試験で認められた、雌で腎臓の結晶性析出物及びネフローゼが生じやすいとする同様の所見を支持している。腎臓、尿管及び膀胱で認められた病理組織学的変化は、腎外あるいは腎内の結晶性析出物による閉塞性腎症を示すものであった。これらの変化により、特定の個々の動物において急性腎不全を示唆する BUN 及び血清クレアチニンの中等度から重度の増加が生じていた。これは尿比重及び電解質の減少によって裏付けられている。試験1日の投与後3及び6時間で採取した尿検体には、結晶尿以外特記すべき所見はなかった。投与後24時間に安楽殺した雌3例で、髓質外層の腎尿細管の軽微な拡張が認められた。これらの雌3例では、髓質の凍結切片において結晶性物質も認められた。2000 mg/kg/日を QD 投与し、試験7日及び8日に剖検した雌8例において、顕著な剖検及び病理組織学的変化が認められた。これらの雌では、尿細管、腎盂、尿管、膀胱内の結晶の形成と蓄積に伴う腎臓の変化（尿細管性のネフローゼ）が認められた。投与された雌には、特徴的な尿細管性のネフローゼが認められる動物又は影響を受けなかった動物と程度の差が認められない正常なものがいた。尿細管性のネフローゼが認められた動物では、予想されたように、腎機能の障害を示す血清生化学的検査（BUN 及びクレアチニンの増加並びにクロール及びアルブミンの減少）、尿生化学検査（尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、リン、尿酸の減少）並びに尿検査の変化（結晶尿、血尿、尿比重の低下）が認められた。

試験1日には雄ラットにおける MK-7264の曝露量（ C_{max} 及び AUC）が雌ラットに比べて高く、試験7日では雌が雄に比べて高かった。試験1日に採取した0～3時間、0～6時間及び0～24時間の尿検体中の MK-7264未変化体の回収率は、雄では約2%、雌では約4%であった。2000 mg/kg/日を QD で7日間経口投与した後では、尿検体中の未変化体の回収率は雌雄いずれでも約2%であった。

結論として、雌雄ラットの尿路において MK-7264の明らかな結晶化が生じ、それによって結晶尿が認められた。雌のみで、本薬の結晶化と析出によって一部の動物で結石が形成され、その後に閉塞性腎症とそれに関連する腎臓、尿管及び膀胱の病理学的変化が生じた。雌における尿路組織の損傷は、閉塞性腎症が発現した動物のみで認められた。

2.6.6.8.7.2.2 ラットを用いた2日間経口投与探索的毒性試験 (TT # [REDACTED]-7916) [資料4.2.3.7.7.3: TT # [REDACTED]-7916]

GLP 非適用下で実施した本試験の目的は、ラットの尿及び血漿中の MK-7264濃度と、尿中の微細結晶の形成との用量-反応関係を評価することであった[2.6.7.17 項]。

雌雄各3例の Wistar Han ラットを媒体対照群 ([REDACTED]) に割り付け、さらに1群雌雄各5例のラットを各 MK-7264群に割り付けた。ラットに媒体又は100若しくは500 mg/kg の MK-7264を、10 mL/kg の投与容量で単回強制経口投与した。臨床症状を計画した間隔で記録した。顕微鏡学的検査及び被験物質の濃度測定のため、尿検体を投与前及び投与後の計画した間隔で採取した。また被験物質の濃度測定のため血漿検体を投与後3及び24時間に採取した。各ラットを試験2日に剖検し、腎臓、尿管及び膀胱を評価した。

すべてのラットが試験期間中生存し、臨床症状は認められなかった。MK-7264の血漿中濃度は雌雄共に用量の増加に伴い増加し、雌の濃度は雄に比べて高かった。投与した MK-7264の未変化体としての尿中回収率は6%～11%であった。観察期間全体を通して両方の用量群の MK-7264投与動物で、重度の被験物質による結晶尿が一律に認められたが、高用量群ではさらに重度であった。本試験では、剖検所見は認められなかった。

2.6.6.8.7.2.3 結晶尿を評価するために実施した Wistar ラットを用いた単回強制経口投与試験 (TT # [REDACTED]-7842) [資料4.2.3.7.7.4: TT # [REDACTED]-7842]

GLP 非適用下で実施した本試験の目的は、ラットに MK-7264を単回経口投与した後の尿中結晶の特性及び程度を評価することであった[2.6.7.17 項]。

Wistar ラット8例(雌雄各4例)を用い、試験0日に媒体対照物質 ([REDACTED]) を投与し、試験1日に2000 mg/kg の MK-7264を投与した。尿検体を各投与の約0～6時間後及び6～24時間後に採取した。尿検査パラメータを測定し、尿沈査を顕微鏡下で観察し、代表的な顕微鏡写真を撮影した。尿沈査のラマン顕微鏡解析を行い、MK-7264の結晶の存在を検討した。

MK-7264の経口投与により尿中には角柱状、球晶、楕円状、針状及び三角状の5種類の結晶が形成された。媒体対照物質投与後にはいずれの結晶タイプも尿中に観察されなかった。媒体対照又は被験物質投与後の尿検体には、他の種類の結晶(三重リン酸塩、非晶質及び食品粒子結晶)が認められた。このような結晶の出現は、自然発生的な背景所見と考えられた。角柱状結晶及び球晶の顕微分光解析から、被験物質とのスペクトルの一致が示された。楕円状及び三角状の結晶では、被験物質に一致するスペクトルは認められなかった。針状結晶は顕微分光解析用の検体では確認されなかった。尿検査パラメータ(尿 pH、タンパク質、尿比重及び容量)に MK-7264の影響はみられなかった。

2.6.6.8.7.2.4 2000 mg/kg の MK-7264 を 7 日間強制経口投与した後の雌ラットの尿 pH、並びに結晶尿及び尿路結石の形成に対する食餌中塩化アンモニウムの影響
(TT # [REDACTED]-7879) [資料4.2.3.7.7.5: TT [REDACTED] 7879]

GLP 非適用下で実施した本試験の目的は、MK-7264 を QD で 7 日間強制経口投与した後の尿 pH を低下させるために必要な食餌中の塩化アンモニウム量を明らかにし、低下した尿 pH により結晶尿及び尿路結石の量が減少するかを確認することであった[2.6.7.17 項]。

雌の Wistar ラットを 4 群（各群 10 例）に群分けし、2000 mg/kg/日の MK-7264 を QD で 7 日間投与した。1 つの群には標準 Harlan Teklad げっ歯類用飼料（2019）（第 1 群）を給餌し、その他の群には塩化アンモニウムをそれぞれ 1%、1.25% 及び 1.5% 含有する同じ飼料を給餌した（第 2、3 及び 4 群）。塩化アンモニウムは、ラットの尿 pH を低下させることが知られている。試験 1～14 日にそれぞれの飼料を給餌し、試験 8～14 日に MK-7264 を QD 投与した。動物を毎日観察し、体重を毎週測定した。トキシコキネティクス評価用検体を採取するため、各投与群の動物を各 5 例から成る 2 つのサブグループに分けた。最終投与（試験 14 日）後、サブグループ 1（最初の 5 例／群）からの血液検体を、投与前及び投与後 2 及び 6 時間に尾静脈穿刺により採取した。サブグループ 2（最後の 5 例／群）からは、投与後 1、4 及び 24 時間に血液検体を採取した。血清生化学的パラメータ評価用の血液検体を、試験 15 日の安楽殺前にすべての動物から採取した。尿 pH を試験 1、3 及び 5 日に測定した。また pH の測定及び光学顕微鏡解析のため、尿検体を試験 7、9、12 及び 15 日にも採取した。尿 pH は午前中及び午後遅くに排出直後の新鮮尿で測定した。すべての動物を安楽殺後、腎臓、尿管及び膀胱を摘出し、保存処理の後、病理組織学的検査を行った。

試験 12 日には第 1 群（対照飼料群）の 1 例で、ケージの床敷きと泌尿生殖器部位に赤色の着色が認められ、また試験 13 日には第 3 群（1.25% 塩化アンモニウム含有飼料）の 1 例でケージの床敷きに赤色の着色が認められた。1.25% 含有飼料（第 3 群）及び 1.5% 含有飼料（第 4 群）の動物では対照飼料を給餌した動物に比べて摂餌量が統計学的に有意に増加していたが、食餌中の塩化アンモニウム濃度は体重には影響しなかった。平均値に統計学的に有意な変化は認められなかったが、対照飼料群の 2 例では試験の他の動物に比べて BUN 及びクレアチニンの増加がみられた（第 2～4 群の平均値に対して、BUN について 129%～175% の増加。クレアチニンについて 106%～130% の増加）。試験 3 日の午前までに、塩化アンモニウム含有飼料を給餌した全群で対照飼料群と比べて尿 pH の統計学的に有意な低下が認められた。対照飼料群と比べた塩化アンモニウム含有飼料群における pH 値の統計学的に有意な低下は 14 日間の試験期間を通じては維持されなかったものの、この数値はすべての塩化アンモニウム含有飼料群でおおむね低く（< 0.8 pH 単位）、概して低下は午前中でより明らかであった。全群の尿で多様な結晶が多数認められた。各飼料に応じた結晶の量及び種類の明確な差は認められなかった。剖検時に所見は認められなかった。病理組織学的な病変が 1 群（対照飼料）で最も頻発し、かつ最も程度が重かった。対照飼料群の 10 例中 2 例では腎盂結石がみられた。このうち 1 例では腎盂の上皮過形成もみられた。この 2 例では尿路の炎症、及び腎尿管上皮の変性／再生又は膀胱上皮の潰瘍もみられた。これらの変化は結石の存在に続発したものと考えられた。実際に結石は、膀胱に炎症性変化も認められた他 1 例（第 3 群）のみでみられた。検査した切片で結石は認められなかったものの、他の動物では、尿路結石に続発したと考えられ

る膀胱の炎症〔第2群（1%含有飼料）の1例及び第4群（1.5%含有飼料）の1例〕及び腎臓の炎症（第2群の2例及び第4群の1例）が認められた。第1、2、3及び4群の C_{max} はそれぞれ14400、13800、17600及び15500 ng/mLであった。第1、2、3及び4群の $AUC_{0-24\text{ hr}}$ はそれぞれ167000、166000、116000及び151000 ng·hr/mLであった。ラットへの1.0%、1.25%又は1.5%の塩化アンモニウムを含有した飼料の給餌は、MK-7264を2000 mg/kg/日で7日間投与した後の本薬の曝露量に影響しなかった。

結論として、2000 mg/kg/日の MK-7264を QD で7日間経口投与したとき、飼料に塩化アンモニウムを添加することで大半の試験日で尿 pH が低下し、動物の尿路結石の形成に対して軽度の防御効果があるようであったが、結石の存在に関連する病理組織学的変化が確実に消失することはなかった。対照群における結石及びそれに伴う病理所見の発生率は低かったことから、飼料中の塩化アンモニウムが持つ潜在的な防御効果に関しては確定的な結論を導くことはできなかった。

2.6.6.8.7.2.5 MK-7264を14日間投与したラットにおける MK-7264誘発性の結晶尿、尿路結石の形成及びそれに伴う毒性に対する2つの経口投与レジメン（QD 及び TID）の影響（TT # [REDACTED]-7874）[資料4.2.3.7.7.6: TT [REDACTED] 7874]

本試験は、ラットに MK-7264を QD 又は TID で14日間経口投与したときの結晶尿、尿路結石の形成及び毒性を比較し、関連するトキシコキネティクスパラメータを明確にするために実施した[2.6.7.17 項]。雌の Wistar Han [CrI:WI (Han)] ラットを7群（各群15例）に群分けし、65、100、150、200又は250 mg/kg TID（195、300、450、600又は750 mg/kg/日；第14、4、5、6及び7群）の被験物質を8時間（±30分）間隔で TID 投与、若しくは500又は2000 mg/kg/日（第2及び3群）を QD 投与した。その他、雌雄各15例から成る1群を対照群（第1群）として、媒体（[REDACTED]）を投与した。媒体又は被験物質を14日間連続して強制経口投与し（0及び65 mg/kg TID については後に追加した用量であったため12日間連続投与であった）、投与容量は0、65、100、150、200及び250 mg/kg の TID 群では3.3 mL/kg、500又は2000 mg/kg/日の QD 群では10 mL/kg とした。さらにトキシコキネティクス評価用の動物として各群8例の2群（第8及び9群）と各群12例の5群（第15、10、11、12及び13群）を用い、主試験と同様に被験物質を投与した。それぞれの用量は500及び2000 mg/kg/日を QD 投与（第8及び9群）、又は65、100、150、200及び250 mg/kg を8時間（±30分）間隔で TID 投与（第15、10、11、12及び13群）とした。

試験中、被験物質に関連した死亡は認められなかった。MK-7264と関連した臨床症状、平均体重又は尿検査値の変化もなかった。

250 mg/kg TID 群の1例と2000 mg/kg/日 QD 群の1例では、BUN 及びクレアチニンが予想範囲より軽度から中等度増加していた。これらの所見は被験物質に関連したものと考えられ、病理組織学的所見と関連していた。対照群の個々の腎臓重量範囲（1.414～1.944 g）を上回る、投与に関連した個別の腎臓重量の増加が、2000 mg/kg/日の QD 群の1例（2.725 g）及び250 mg/kg TID 群の1例（2.105 g）で認められた。これは、これらの動物の病理組織学的検査で認められた投与に関連した尿細管の変性／再生及び炎症（結石に伴う）を反映していると考えられた。

試験2週に実施した被験物質製剤の解析において、3つの濃度が許容基準（第2群と8群で50.5 mg/mL、第4群と10群で30.3 mg/mL、第5群と11群で45.5 mg/mL）に達していないことが明ら

かとなった。測定濃度は予定値を83.7～87.2%下回っていた。これらの原因について調査を実施した。

試験2週の製剤解析の結果及び試験動物に意図した用量を投与したか否かの疑問があるという調査結果により、本試験から結論を導くことはできなかった。その後、尿路結晶の形成及び関連する腎症に対する QD 投与と TID 投与の影響を比較検討するために、追加試験を実施した (TT # [REDACTED]-7880)。これを以下[2.6.6.8.7.2.6 項]に要約する。

2.6.6.8.7.2.6 ラットにおける尿路結石の形成及び随伴する毒性に関する14日間強制経口投与試験 (TT # []-7880) [資料4.2.3.7.7.7: TT []7880]

GLP 非適用下で実施した本試験の目的は、ラットに MK-7264 を QD 又は TID で 14 日間以上強制経口投与したときの尿路での結晶の形成及び関連する腎症に対する影響を評価し、観察された結晶性腎症と曝露量 (C_{max} 及び AUC) との関係の評価することであった[2.6.7.17 項]。

雌の Wistar Han ラット（各群15例）に媒体を TID で、又は2000 mg/kg/日の MK-7264を QD で若しくは100、167、233、300及び500 mg/kg TID（300、500、700、900及び1500 mg/kg/日）の MK-7264を14日間強制投与した。投与容量は QD 投与では10 mL/kg 及び TID 投与では3.3 mL/kg/回とした。媒体は[REDACTED]とした。死亡、臨床症状、体重、体重変化、摂餌量、臨床病理学的及び病理検査に基づき毒性を評価した。トキシコキネティクス評価のための血液検体を試験1日及び13日に採取した。剖検時に膀胱で認められた結石を回収し、MK-7264の組成について分析した。

2000 mg/kg/日群の1例で、健康状態の悪化を示す臨床症状が認められた。また1500 mg/kg/日 (500 mg/kg TID) 群と2000 mg/kg/日 QD 群の動物に、軽度の体重増加量の減少及び中等度の摂餌量の減少がみられた。結晶尿がすべての用量で認められ、腎機能不全を示す所見 (血清中のBUNあるいはクレアチニン濃度の増加) が700 mg/kg/日群 (1/15例)、900 mg/kg/日群 (4/15例)、1500 mg/kg/日群 (11/15例) 及び2000 mg/kg/日 (7/15例) の個々の動物で認められた。500 mg/kg/日以上すべての動物において、尿沈渣中の結晶の存在の程度が最高評価値に達していた。700 mg/kg/日以上で認められた腎機能不全を示す所見は、腎障害の病理組織学的所見を伴っていた。平均腎臓重量は1500又は2000 mg/kg/日群で増加していた。さらに700及び900 mg/kg/日群でも個々の動物に腎臓重量の増加が認められた。このような重量の増加は、被験物質に関連した病理組織学的所見と関連していた。剖検所見が900 mg/kg/日群の4例、1500 mg/kg/日群の9例及び2000 mg/kg/日群の4例で認められた。これらの所見は腎臓の変色、肥大あるいは硬化、腎盂の肥大、尿管内腔の拡張及び尿管肥厚であった。1500 mg/kg/日群の1例の膀胱から採取して解析した結石は、FTIRにより、MK-7264から構成されていることが確認された。700 mg/kg/日 (1/15例)、900 mg/kg/日 (4/15例)、1500 mg/kg/日 (11/15例) 又は2000 mg/kg/日 (7/15例) の動物の腎臓において、病理組織学的所見が認められた。700 mg/kg/日群の1例を除くすべての動物では、尿細管内の巨大な結晶、乳頭壊死、好塩基性あるいは平坦化した尿細管上皮細胞、腎尿細管拡張、腎皮質内の結晶、好中球浸潤 (腎盂腎炎)、腎間質の線維化、及び一部の腎臓では被膜表面上に炎症性細胞と線維性組織がみられた。また、関連する所見として尿管の拡張と炎症がみられた。700 mg/kg/日群の1例では、剖

検所見として腎臓に巨大な嚢胞が認められ、病理組織学的所見としては腎盂が極度に肥大し、腎髓質全体と腎皮質の大半が消失していた。

トキシコキネティクスパラメータを[表 2.6.6-15]に示す。MK-7264の曝露量は、100から500 mg/kg/日 TID までの増量によっておおむね増加した。この増加は、100から233 mg/kg TID までは実質的に用量比例性を示したが、それ以上の用量では用量比を下回っていた。2000 mg/kg QD 投与による曝露量は、500 mg/kg TID (1500 mg/kg/日) の投与時よりも低かった。MK-7264の C_{max} は、100から500 mg/kg TID までの増量に伴っておおむね増加した。2000 mg/kg/日 QD 投与による C_{max} は、500 mg/kg TID (1500 mg/kg/日) の投与後に比べて高かった(約20%)。反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0-24\text{ hr}}$ に一貫した変化は認められなかった(投与期間である試験1日及び13日の結果を比較による)。トキシコキネティクスの結果では、1500及び2000 mg/kg/日の1日総投与量ではある程度の蓄積が生じることを示していたが、これはおそらく、これら2群でみられた腎症の顕著な発現に続発した MK-7264の腎クリアランスの低下に起因すると考えられた。

表 2.6.6-15 MK-7264 投与後の雌ラットにおける血漿中 MK-7264 のトキシコキネティクスパラメータ (TT # -7880) : 試験 1 日及び 13 日 (平均値)

Interval	Dose (mg/kg/dose)	Dose (mg/kg/day)	$AUC_{0-24\text{ hr}}$ (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
Day 1	2000 ^a	2000	92000	19200	1
	100 ^b	300	48500	7170	1
	167 ^b	500	69800	6670	1
	233 ^b	700	98900	13600	17
	300 ^b	900	109000	15100	17
	500 ^b	1500	146000	15700	1
Day 13	2000 ^a	2000	123000	20400	1
	100 ^b	300	37800	4250	1
	167 ^b	500	59000	5440	1
	233 ^b	700	72800	7780	17
	300 ^b	900	100000	14400	17
	500 ^b	1500	211000	17900	17
$AUC_{0-24\text{ hr}}$ = Area under the curve from 0 to 24 hours; C_{max} = Maximum observed plasma concentration; T_{max} = Time at maximum plasma concentration a Dosed once daily b Dosed three times daily (every 8 hours ± 20 minutes)					

NOAEL は500 mg/kg/日 (167 mg/kg TID) であり、この用量における試験13日の平均 $AUC_{0-24\text{ hr}}$ は59000 ng·hr/mL、 C_{max} は5440 ng/mL であった。 AUC が146000 ng·hr/mL を下回るとき、腎症の発現率は AUC よりも C_{max} との関連性が高かった。

2.6.6.8.7.2.7 結晶尿を評価するために実施したビーグル犬を用いた MK-7264の単回強制経口投与試験 (TT # [REDACTED]-7843) [資料4.2.3.7.7.8: TT [REDACTED]7843]

GLP 非適用下で実施した本試験の目的は、ビーグル犬に MK-7264を経口投与したときの尿中結晶の特性及び程度を評価することであった[2.6.7.17 項]。

6例のイヌ（雌雄各3例）を用い、試験0日に媒体（[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]）を、さらに試験1日には MK-7264を70 mg/kg で単回投与した。尿検体を各投与の約0～6時間後及び6～24時間後に採取した。尿検査パラメータを測定し、尿沈査を顕微鏡下で観察し、そして代表的な顕微鏡写真を撮影した。MK-7264が結晶の成分であることを確認するために尿沈査のラマン顕微鏡解析を実施した。

MK-7264の経口投与により、尿中には様々な角柱状及び非晶質結晶という2種類が形成された。媒体投与後にはいずれの種類の結晶も尿中に観察されなかった。被験物質投与後には大半の動物（5/6例）において、個体によってまばらから多数の量の角柱状結晶が確認された。角柱状結晶の大きさは様々で、「細長い」から「正方形」のもの、「辺縁が丸みをもった」ものや「辺縁がわずかに角ばった」もの、また個別に存在しているものや凝集しているものもあった。被験物質投与後に3/6例において、個体によってまばらから少数の量の非晶質結晶が確認された。非晶質結晶は小さく、明らかに円形のものから不規則な円形の結晶であり、内部に縞模様はなかった。白色光（明視野）と偏光下の両方で角柱状結晶は確認されたが、非晶質結晶は白色光下のみで認められた。媒体及び被験物質投与後の大半の動物の検体には、三重リン酸塩結晶（まばらから少数）が認められたため、その発生は自然発生性の背景所見であると考えられた。顕微分光解析から角柱状結晶は被験物質であるが、非晶質結晶はそうではないことが確認された。

被験物質に関連した尿検査パラメータの変化は、0～6時間で雄2/3例に認められた尿 pH の一過性の上昇のみであった。これがおそらく三重リン酸塩結晶数の増加に寄与し、さらにはこれらの検体中での角柱状結晶の形成にも寄与した可能性が考えられた。その他の尿検査パラメータ（尿タンパク質、尿比重及び容量）に、被験物質の影響は認められなかった。

結論として、イヌに MK-7264を70 mg/kg で単回経口投与したとき、角柱状結晶（これは被験物質であると判断された）及び非晶質結晶という2種類の結晶が形成された。

2.6.6.8.7.3 その他の試験

2.6.6.8.7.3.1 野生型 rasH2マウスを用いた1ヵ月間経口投与トキシコキネティクス試験 (TT # [REDACTED]-6002) [資料4.2.3.7.7.9: TT [REDACTED]6002]

本試験の目的は、野生型 rasH2マウスに MK-7264を BID で約1ヵ月間強制経口投与したときの MK-7264のトキシコキネティクスプロファイルを明らかにすることであった[2.6.7.17 項]。

CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic wt/wt マウスを3群（雌雄各11例）に割り当て（1群あたり雌雄各2例の補充動物を含む）、[REDACTED] [REDACTED]に懸濁した MK-7264を15、50又は250 mg/kg BID（30、100又は500 mg/kg/日）で、5 mL/kg/回（10 mL/kg/日）の投与容量で投与した。投与間隔は約7時間とした。

毒性評価は行わず、死後の評価としては計画外の死亡動物の剖検（誤投与の可能性を調べるため、特定の器官の剖検を実施）のみ実施した。血漿中薬物濃度を測定した。

被験物質に関連した途中死亡はみられなかった。

トキシコキネティクスパラメータを[表 2.6.6-16]に示す。

表 2.6.6-16 MK-7264 投与後のマウスにおける血漿中 MK-7264 のトキシコキネティクスパラメータ（TT # [REDACTED]-6002）：試験 5 週（雌雄合算の平均値）

Interval	Dose (mg/kg/dose) ^a	Dose (mg/kg/day)	AUC _{0-24 hr} (ng·hr/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)
Week 5	15	30	4770	1360	7.5
	50	100	12200	2650	7.5
	250	500	35100	9090	7.5
AUC _{0-24 hr} = Area under the curve from 0 to 24 hours; C _{max} = Maximum observed plasma concentration; T _{max} = Time at maximum plasma concentration a Dosed twice daily. The second dose was administered 7 hours (± 1 hour) after the first daily dose.					

血漿中 MK-7264 の平均 AUC_{0-24 hr} 及び C_{max} に、顕著な性差はみられなかった。血漿中 MK-7264 の雌雄合算での平均 AUC_{0-24 hr} 及び C_{max} は、15～250 mg/kg BID の範囲でおおむね用量に比例していた。

2.6.6.8.7.3.2 ラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験（TT # [REDACTED]-1019）[資料4.2.3.7.7.10: TT # [REDACTED] 1019]

本試験の目的は、ラットに MK-7264 を1日1回、約3ヵ月間強制経口投与したときの潜在的な毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを明らかにすることであった[2.6.7.17 項]。

CrI:WI (Han) ラットを2群（各群雌雄各10例）に割り付け、50 mg/kg/日の MK-7264 [REDACTED] 又は媒体のみを投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

死亡、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理及び病理検査に基づき毒性を評価した。投与群及び対照群の血漿中薬物濃度を測定した。被験物質に関連した結晶の存在を評価するため、尿検体を氷上で一晚採取した。

本試験では、被験物質に関連した死亡、臨床症状又は眼科学的検査所見は認められなかった。被験物質に関連した体重及び摂餌量の変化は認められなかった。器官重量若しくは臨床病理検査、剖検又は病理組織学的検査において変化は認められなかった。尿の検査で被験物質に関連した結晶はみられなかった。

トキシコキネティクスパラメータを[表 2.6.6-17]に示す。ラットに MK-7264 を50 mg/kg/日で反復経口投与したときに、血漿中 MK-7264 の平均 AUC_{0-24 hr} 及び C_{max} に顕著な性差は認められなかった。

表 2.6.6-17 MK-7264 投与後のラットにおける血漿中 MK-7264 のトキシコキネティクスパラメータ (TT # [REDACTED]-1019) : 試験 13 週 (雌雄合算の平均値)

Interval	Dose (mg/kg/day) ^a	AUC _{0-24 hr} (ng·hr/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)
Week 13	50	8150	4320	0.50
AUC _{0-24 hr} = Area under the curve from 0 to 24 hours; C _{max} = Maximum observed plasma concentration; LLOQ = Lower limit of quantitation; T _{max} = Time at maximum plasma concentration a MK-7264 concentrations in plasma from all control group animals at 1-hour postdose were below the lower limit of quantitation (LLOQ = 5 ng/mL) of the bioanalytical method.				

50 mg/kg/日群で、生前所見又は死後の評価における所見はみられなかった。

2.6.6.8.7.3.3 ビーグル犬を用いた MK-7264 用量漸増経口投与による忍容性試験 (TT # [REDACTED]-7801) [資料4.2.3.7.7.11: TT [REDACTED]-7801]

GLP 非適用下で実施した本探索的試験の目的は、ビーグル犬に MK-7264 を経口投与したときの毒性学的な影響の予備的情報を提供し、以後に実施する試験の用量選択に役立てることであった [2.6.7.17 項]。

雌雄各1例のビーグル犬に媒体 ([REDACTED]) 及び MK-7264 (30、100、300 及び 1000 mg/kg) を用量漸増で1日1回強制投与した。投与容量は5 mL/kg とした。各投与後、動物を3～5日間観察した。それぞれの投与前、媒体投与後0.5、1、2、4、8及び24時間、各用量の MK-7264 投与後0.5、1、2、4、8、24及び48時間、最終投与後96時間、及び重大な変化が発現した場合はその時点で臨床症状を記録した。体重は各投与前及び最終投与後4日に記録した。各投与日には、血漿中薬物濃度測定のための血液検体を投与前及び投与後約1、4、6、24及び48時間に採取した。試験0日 (投与初日) には媒体投与後1時間の血液検体を各イヌから1回採取した。

媒体、30 mg/kg 及び100 mg/kg 投与後にはいずれの動物も正常であった。300 mg/kg では、両動物において投与後0.5時間で嘔吐が認められ、これは投与後1時間までに消失した。また雄イヌでは、軟便あるいは粘液便が投与日及びそれ以降に認められた。1000 mg/kg では、雌雄両方で投与日に嘔吐が認められ、雌では複数回の嘔吐を繰り返した。投与日以降、1000 mg/kg 群の雌では嘔吐が認められた一方、雄では摂餌量の減少及び無便が認められた。1000 mg/kg 投与後、4日間の観察期間の終了時点では、いずれの動物も正常であった。投与期間には両方の動物に軽度で一過性の体重減少が認められたが、これは重要な所見ではなく、投与日の嘔吐によるものと考えられた。イヌに30～1000 mg/kg/日を経口投与したときの MK-7264 の曝露量は、用量比を下回って増加した。本試験に使用した動物数は限られていたため、曝露量の性差の評価は直接には実施しなかった。嘔吐が認められなかった100 mg/kg 群において、血漿中 MK-7264 の平均 AUC_{0-24 hr} 及び C_{max} はそれぞれ186000 ng·hr/mL 及び17400 ng/mL であった。1000 mg/kg 群における血漿中の平均 AUC_{0-24 hr} 及び C_{max} はそれぞれ580000 ng·hr/mL 及び46800 ng/mL であった。

さったものと考えられた：生理的な尿 pH における MK-7264 の非常に低い溶解性（溶解性は pH 依存的）、MK-7264 は主に腎臓から排泄されること及び化学構造式にスルホンアミド基を含むこと。スルホンアミドを含有する薬物及びその代謝物は結晶尿及び時に結石を引き起こすことが知られている。これは、溶解性が低く尿排泄が多いことで尿中の結晶が作られやすくなっているためである[2.6.4.8.3 項]。

結晶尿は必ずしも閉塞性尿路障害を伴うものではなかった。1日3回の用法を用いて4、12及び26週間投与した試験では、全用量群の雌雄ラットに結晶尿が認められたものの（一晚の蓄尿）、腎の病理所見が観察されたのは、4週間投与試験で4用量群のうち高い方の2用量（675及び900 mg/kg/日）、12週間投与試験の最高用量（雌で675 mg/kg/日、雄で1200 mg/kg/日）及び26週間投与試験の最高用量群（450 mg/kg/日）の雌ラットのみであった。ラットを用いた26週間投与試験において、最高用量群で認められた病理組織学的変化は、腎臓の変化（結晶性物質の存在による尿細管拡張、尿細管を被覆する上皮細胞の変性及び間質の炎症）、尿管（拡張及び炎症）及び膀胱（移行上皮細胞の過形成）であり、これらは8週間の休薬期間後には回復したか又は回復する傾向が認められた。さらに、最高用量では、関連する変性性の変化を伴わない、唾液腺腺房細胞の空胞化という病理組織学的所見が認められた。26週間投与試験の NOAEL は225 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ4倍及び7倍）であった。ラットを用いた2年間投与ががん原性試験において、その最高用量である300 mg/kg/日（BID）の投与により、類似する MK-7264 と関連した尿路の病理組織学的変化が認められ、これは1つ以上の組織における被験物質と関連した結晶又は結石を伴っていた。非腫瘍性所見の NOAEL は、300 mg/kg/日で認められた、MK-7264 と関連した死亡、体重変化及び非腫瘍性の病理組織学的所見に基づき、中用量の100 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ3倍及び5倍）であった。

イヌを用いた最長28日間の初回の試験において標的器官毒性は確認されなかった。しかしながら、BID 投与レジメンと合わせ [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] バイオアベイラビリティのより高い媒体を用いたとき、12週間投与試験の100 mg/kg/日以上で結晶と関連した尿路障害が認められた。イヌを用いた39週間慢性毒性試験では、すべての用量群（100 mg/kg/日までの）で尿中に結晶が認められたが、尿路又は膀胱の病理組織学的所見は伴っていなかった。39週間の投与期間終了時点では、高用量群（100 mg/kg/日）の雄1匹の左右の腎臓に被験物質に関連する病理組織学的所見（時に腎皮質尿細管に及ぶ限局的で軽微な尿細管変性）が認められた。イヌにおける NOAEL は50 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ26倍及び25倍）であった。

マウスでは、野生型 rasH2マウスを用いた初回の1ヵ月間投与用量設定試験において、高用量である1500 mg/kg/日（12時間間隔で BID 投与）で、尿路毒性（早期死亡した1例の腎臓の乳頭壊死、時に腎盂の炎症を伴う腎尿細管上皮の変性／再生並びに尿管及び膀胱の炎症）が認められた。本試験の NOAEL は、500 mg/kg/日であった。その後実施した野生型 rasH2マウスを用いた1ヵ月間投与用量設定試験及び CD-1マウスを用いた3ヵ月間投与試験において、動物に1500 mg/kg/日までを BID（7時間間隔）投与した。これらの試験ではすべての用量で尿中に結晶が認められたが、尿路組織の変化はみられなかった。rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間投与ががん原性

試験では、500 mg/kg/日までの投与により被験物質に関連した病理組織学的な所見は認められなかった。

ICH ガイドラインに準拠して実施した標準的な一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験〔細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）、染色体異常試験及びラット骨髄を用いた *in vivo* の小核試験〕において、MK-7264は変異原性及び遺伝毒性を示さなかった。rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間投与がん原性試験又はラットを用いた2年間投与がん原性試験において、それぞれ500 mg/kg/日（250 mg/kg BID）及び300 mg/kg/日（150 mg/kg BID）まで投与した結果、がん原性は確認されなかった。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、675 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} の、それぞれ推定で10倍及び18倍）までの用量では、MK-7264は雌雄ラットの交尾能及び受胎能に対して有害な影響を示さなかった。ラット又はウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、ラットの675 mg/kg/日（225 mg/kg BID）群において、母動物毒性（摂餌量及び体重増加量の減少）に伴う胎児体重の軽度の減少が認められたことを除いて、いずれの用量でも発生毒性は認められなかった。ウサギでは、母動物の毒性用量（摂餌量の減少、体重減少、1件の流産が認められたため）である1500 mg/kg/日投与により、胚・胎児発生に関して有害な影響は認められなかった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において、母動物毒性及び発生毒性の NOAEL は300 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ7倍及び9倍）であった。ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において、母動物毒性の NOAEL は、高用量である1500 mg/kg/日において体重又は体重増加量の減少及び摂餌量の減少が認められたことに基づき、400 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ24倍及び86倍）であった。ウサギの発生毒性に関する NOAEL は1500 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} のそれぞれ37倍及び88倍）以上であった。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、675 mg/kg/日で投与した F₀ラットに母動物毒性（低頻度の死亡、臨床症状、体重増加量及び摂餌量の減少並びに腎臓、尿管及び膀胱の剖検所見）が認められたものの、F₁ラットの出生前及び出生後の発生に対する影響は、675 mg/kg/日（ヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} の、それぞれ推定12倍及び20倍）までの用量で認められなかった。生殖発生毒性試験に選択した用量は、非妊娠動物における MK-7264の忍容性に基づいていた。

MK-7264は *in vitro* で光毒性を示さず、労働安全プログラムのための分析において非刺激性及び非皮膚感作性物質であった。

ラットを用いて50 mg/kg/日の用量で実施した不純物の3ヵ月間投与安全性確認試験において、投与と関連する所見は認められなかった。

ラット及びイヌを用いてそれぞれ最長26週間及び39週間投与した重要な試験並びに生殖発生毒性試験において確立した NOAEL 及びヒトに45 mg で BID 投与したときの $AUC_{0-24\text{ hr}}$ 及び C_{max} を基にした MK-7264の曝露量比を[表 2.6.6-18]に示す。

表 2.6.6-18 MK-7264 の AUC_{0-24 hr} と C_{max} の曝露量比

Species	Study Duration	Dose Levels (mg/kg/day)	AUC _{0-24 hr} (ng·hr/mL)	AUC _{0-24 hr} Multiple ^a	C _{max} (ng/mL)	C _{max} Multiple ^a
Rat	12-week (TID dosing) TT # ■-7816	225	28600	4	3095	6
		450 (NOAEL)	57800	8	7155	13
		1200/675 (M/F)	167000 / 73700	22/10	14300/9460	27/18
	26-week (TID dosing) TT # ■-9025	75	16100	2	1470	3
		225 (NOAEL)	33800	4	3910	7
		450	70700	9	5900	11
Dog	12-week (BID dosing) TT # ■-7814	40 (NOAEL)	158000	21	9890	18
		100	349500	46	21650	40
		200	547500	71	33800	63
	39-week (BID dosing) TT # ■-9023	25	105000	14	7270	14
		50 (NOAEL)	203000	26	13600	25
		100	292000	38	19200	36
Rat	Male and Female Fertility (TID Dosing) TT # ■-7802	120	20293 ^b	3 ^b	1902 ^b	4 ^b
		300 (NOAEL for maternal toxicity)	38333 ^b	5 ^b	4448 ^b	8 ^b
		675 NOAEL for paternal toxicity and male/female fertility)	73700 ^b	10 ^b	9460 ^b	18 ^b
Rat	Embryo-Fetal Development (TID Dosing) TT # ■-7817	120	28400	4	4510	8
		300 (NOAEL for maternal and EFD toxicity)	53000	7	4870	9
		675	91200	12	10900	20
Rabbit	Embryo-Fetal Development (QD Dosing) TT # ■-7818	100	37200	5	13100	24
		400 (NOAEL for maternal toxicity)	187000	24	46100	86
		1500 (NOAEL for EFD toxicity)	282000	37	47100	88
Rat	Pre- and Post-Natal Development (TID Dosing) TT # ■-9000	120 (NOAEL for maternal toxicity)	28400 ^c	4 ^c	4510 ^c	8 ^c
		300	53000 ^c	7 ^c	4870 ^c	9 ^c
		675 (NOAEL for F ₁ toxicity)	91200 ^c	12 ^c	10900 ^c	20 ^c

EFD = Embryo-fetal development; AUC_{0-24 hr} = Area under the curve from 0 to 24 hours; C_{max} = Maximum observed plasma concentration; NOAEL = No-observed-adverse-effect level; QD = Once daily; BID = Twice daily; TID = Three times daily

^a Margins estimated based on a clinical AUC_{0-24 hr} of 7664 ng·hr/mL (AUC_{0-12 hr} of 3832 ng·hr/mL multiplied by 2) and C_{max} of 538 ng/mL following the multiple oral administration of 45 mg MK-7264 twice daily in Japanese patients with refractory or unexplained chronic cough [資料5.3.3.5.1: 05HB0V].

^b In the rat male/female fertility study, no toxicokinetics were performed. At 675 mg/kg/day, exposure multiples were based on AUC and C_{max} at 675 mg/kg/day in the 12-week rat oral toxicity study (TT # ■-7816, [2.6.7.7.F 項]). Exposure multiples at 120 and 300 mg/kg/day were based on extrapolated AUC and C_{max} values using toxicokinetic results from 12-week rat oral toxicity study (TT # ■-7816, [2.6.7.7.F 項]).

^c In the rat pre- & post-natal development study, no toxicokinetics were performed; exposure multiples were based on those measured in the rat embryo-fetal developmental study (TT # ■-7817, [2.6.7.13.A 項]).

以上のように、広範な非臨床毒性プロファイルの評価により、成人の難治性又は原因不明の慢性咳嗽の治療薬として、MK-7264（45 mg BID）の安全な使用が支持される。

2.6.6.10 参考文献

参考文献は、Module 1.12「4.3 参考文献」に示した。