ジスバルカプセル 40mg
製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.6　毒性試験の概要文

田辺三菱製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.6　毒性試験の概要文 5
2.6.6.1　まとめ 5
2.6.6.2　単回投与毒性試験 7
2.6.6.2.1　ラットを用いた単回投与毒性試験 7
2.6.6.2.2　イヌを用いた単回投与毒性試験 9
2.6.6.3　反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1　探索的反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.2　主要な反復投与毒性試験 16
2.6.6.4　遺伝毒性試験 47
2.6.6.4.1　細菌を用いた復帰突然変異試験 47
2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 48
2.6.6.4.3　ラットを用いた小核試験 48
2.6.6.5　がん原性試験 49
2.6.6.5.1　長期がん原性試験 49
2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験 53
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 60
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 60
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験 61
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 68
2.6.6.6.4　新生児を用いた試験 72
2.6.6.7　局所刺激性試験 79
2.6.6.8　その他の毒性試験 79
2.6.6.8.1　依存性試験 79
2.6.6.8.2　不純物の毒性試験 82
2.6.6.8.3　その他の試験 87
2.6.6.9　考察及び結論 87
2.6.6.9.1　薬理作用に基づいた所見 87
2.6.6.9.2　一般毒性試験 88
2.6.6.9.3　遺伝毒性試験 93
2.6.6.9.4　がん原性試験 94
2.6.6.9.5　生殖発生毒性試験 94
2.6.6.9.6　幼若動物を用いた毒性試験 96
2.6.6.9.7　光毒性試験 96

2.6.6.9.8　代謝物 NBI-136110 の全身曝露量に基づく安全域 96
2.6.6.9.9　NBI-98854 及び NBI-98782 の全身曝露量に基づく安全域 99
2.6.6.10　参考文献 103

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AUC	area under the (plasma) concentration-time curve	（血漿中）濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the (plasma) concentration-time curve from zero up to 24 hours	24 時間後までの（血漿中）濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-tau}	area under the (plasma) concentration time curve from zero up to at the end of a dosing interval	投与間隔の（血漿中）濃度-時間曲線下面積
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CSR	clinical study report	治験総括報告書
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
EEG	electroencephalography	脳波検査
EMG	electromyography	筋電図検査
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GFAP	glial fibrillary acidic protein	グリア線維性酸性たん白質
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
H&E 染色	hematoxylin and eosin staining	ヘモトキシリン・エオジン染色
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
MPCEs	micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PM	poor metabolizer	代謝能が著しく低い又は欠損
Tg	transgenic	トランスジェニック
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
t_{max}	time to reach C_{max}	最高血漿中濃度到達時間
VMAT2	vesicular monoamine transporter-2	小胞モノアミントランスポータ 2

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

主要な毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（以下，ICH）M3 (R2)ガイドライン及びその他安全性評価に関する ICH ガイドラインに従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（以下，GLP）に準拠して実施した．NBI-98854 の安全性を評価するために実施した非臨床試験の一覧を毒性試験概要表 2.6.7.1 に示す．

一般毒性試験には，一般的に汎用され，NBI-98854 の経口投与時に NBI-98854 及びその代謝物について十分な曝露が得られることから，げっ歯類としてマウス及びラットを，非げっ歯類としてイヌを用いた．また，背景データが豊富なことから，生殖発生毒性試験の非げっ歯類にはウサギを，がん原性試験にはラット及びマウスを用いた．以下に，一般毒性試験における非げっ歯類の動物種としてイヌを選択した理由を詳述する．

ヒト血漿中において，NBI-98854 並びにその代謝物である NBI-98782，NBI-136110 及び NBI-679006 が検出され，それぞれ総曝露量の 42.4%，9.9%，12.7%及び 8.2%であった（2.6.4）．これらはラット及びイヌにおける血漿中にも認められた．これらの中で，NBI-98854 及び NBI-98782 は小胞モノアミントランスポータ 2（以下，VMAT2）阻害活性を有しており，NBI-98782 の方が VMAT2 阻害作用はより強力である（2.6.2）．NBI-98782 はラットにおける *in vivo* 薬理作用の大部分に関与すると考えられるが，ヒト及びイヌでは，NBI-98854 の血漿中濃度が NBI-98782 よりも高いため，NBI-98782 とともに NBI-98854 も薬理作用に寄与する可能性がある．毒性評価のための非げっ歯類動物種としてイヌを選択した更なる理由として，(1) イヌにおける NBI-98854 のバイオアベイラビリティが高かったこと，(2) イヌにおける NBI-98854 の *in vitro* 代謝物プロファイルがヒトのプロファイルと類似していたこと，(3) イヌにおける NBI-98854 の薬物動態プロファイルがヒトのプロファイルと類似していること（NBI-98854 の血漿中濃度は NBI-98782 と比較して高い），及び (4) それにより NBI-98854 の比較的高い曝露量での評価が可能であることが挙げられる．

マウス，ラット及びイヌを用いて，NBI-98854 の一般毒性を単回経口投与並びに最長でそれぞれ 91 日間，6 ヶ月間及び 9 ヶ月間の反復経口投与により評価した．その結果，無毒性量（以下，NOAEL）はマウスでは 60 mg/kg/日，ラットでは 3 mg/kg/日，イヌでは 15 mg/kg/日であった．マウス，ラット及びイヌ反復投与時の致死量は，それぞれ 100 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び 35 mg/kg/日であった．NBI-98854 の毒性試験における主要な所見は本薬の薬理作用である神経細胞に貯蔵されているモノアミンの顕著な減少に起因するものであった．NBI-98854 の反復毒性試験において最も多く認められた一般状態の変化は，鎮静及び／又は振戦であった．また，げっ歯類では投与前の活動性増加及び高プロラクチン血症に起因する二次的な病理組織学的変化（乳腺小葉過形成，卵巣の好酸性非変性性黄体の増加及び子宮筋層の細胞小型化）が観察された．一方，詳細な病理組織学的検査を実施したが，マウス，ラット及びイヌを用いた NBI-98854 の試験のいずれにおいても，脳の病理組織学的所見は認められなかった．

NBI-98854 は遺伝毒性試験（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）において陰性であり，ラットを用いた 104 週間反復投与がん原性試験及び rasH2 トランスジェニック（以下，Tg）マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験において，投薬に起因する腫瘍発現の増加は認められなかった．

NBI-98854 の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，最高用量の 10 mg/kg/日では, NBI-98854 の薬理作用である VMAT2 阻害による高プロラクチン血症に起因したと考えられる性周期及び交配所要日数の延長, 並びに本薬の薬理作用に関連した活動性減少に起因したと考えられる受胎率低下が認められたが, 初期胚発生への影響は認められなかった．したがって，雌雄の受胎能に関する NOAEL は 3 mg/kg/日，初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった. ラット及びウサギを用いた胚及び胎児発生に関する試験において，ラット及びウサギのいずれにおいても催奇形性及び直接的な胚・胎児への影響は認められなかったことから，胚・胎児発生に対する NOAEL はラット 15 mg/kg/日，ウサギ 50 mg/kg/日であった．NBI-98854 の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において，3 mg/kg/日以上で F0 親動物では NBI-98854 の薬理作用に基づく症状変化，体重減少，体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた．F1 出生児で死亡が認められたが，F1 の発育及び機能発達などに，NBI-98854 投与に起因する変化は認められなかった．よって，F0 の一般毒性並びに F1 の発生に関する NOAEL はいずれも 1 mg/kg/日であった．

幼若マウスを用いた毒性試験を実施したが，成獣のマウス，ラット及びイヌを用いた毒性試験と比較して特有の毒性及び毒性の増強は認められなかった．

NBI-98854 は *in vitro* 光毒性試験において光毒性を示さなかった．

ヒト血漿中に認められた代謝物のうち，ICH M3 (R2)ガイドラインに基づきヒト総曝露量の 10%を超えた NBI-136110 と，強力な VMAT2 阻害活性を有する NBI-98782 については，遺伝毒性並びに安全域を評価した．また，原薬及び製剤中の不純物の安全性についても，ICH M7 (R1)ガイドラインに従って検討した．その結果，いずれの代謝物並びに不純物についても安全性が確認された．

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験の用量設定のため，これらの動物を用いて NBI-98854 の単回投与毒性試験を実施した（表 2.6.6.2－1）.

表 2.6.6.2－1　NBI-98854 のラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験

報告書番号	動物種	投与量（mg/kg）	GLP 適用
[redacted]-98854-001-TX	ラット	50，100，200	非適用
[redacted]-2059	ラット	0，60，80，100，150	非適用
[redacted]-3327	イヌ	50，80	非適用

2.6.6.2.1　ラットを用いた単回投与毒性試験

2.6.6.2.1.1　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 1

［資料番号：4.2.3.1-1，概要表：2.6.7.5.1，報告書番号：[redacted]-98854-001-TX］

目的：本試験の目的は，2.6.6.3.1.2.1 に記載したラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験の用量設定を行うことであった（表 2.6.6.2－2）.

表 2.6.6.2－2　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 1 の試験計画

報告書番号：[redacted]-98854-001-TX	**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット	**投与量：**50，100 及び 200 mg/kg
性別及び 1 群の動物数：雄 1 匹	**媒体：**0.50%（w/v）メチルセルロース水溶液
投与期間：単回投与	**投与経路：**強制経口
トキシコキネティクス（以下，TK）： 評価せず	**休薬期間：**該当せず
評価パラメータ： - 一般状態：投与の約 0.5，1 及び 24 時間後並びに剖検前	

結果：200 mg/kg まで死亡は認められなかった．投与 2 時間後までに，全例で円背位が観察された．前肢開脚，眼瞼下垂及び振戦の所見が 50 及び 100 mg/kg で認められ，100 mg/kg では異常歩行も認められた．投与 24 時間後までに，これらの変化は 50 mg/kg では完全に回復し，100 mg/kg では部分的に回復した．200 mg/kg では円背位が引き続き観察され，更に眼瞼下垂及び下痢も認められた.

結論：50 及び 100 mg/kg では投与 24 時間後に一般状態の変化の完全又は部分的な回復が認められたのに対し，200 mg/kg では一般状態の変化が引き続き認められたことから，ラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.1.2.1）の用量は，0，50 及び 100 mg/kg/日に設定された.

2.6.6.2.1.2　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 2

［資料番号：4.2.3.1-2，概要表：2.6.7.5.2，報告書番号：[redacted]-2059］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに単回経口投与したときの最大耐量（以下，MTD）を決定することであった（表 2.6.6.2－3）．

表 2.6.6.2－3　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 2 の試験計画

報告書番号：[redacted]-2059		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット		**投与量：**0，60，80，100 及び 150 mg/kg
投与開始時齢：9～10 週齢		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 3 匹		**投与経路：**強制経口
投与期間：単回投与		**休薬期間：**3 日間
TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 1 日目	**時点（投与後時間）：** 0（投与前），0.25，0.5，1，3，8，24 及び 48 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：投与 1，3，6 及び 9 時間後；非投与日は 1 日 1 回 • 身体検査：試験前に 1 回及び試験終了時 - 体重及び摂餌量：試験前及び 1 日 1 回 - 剖検：途中死亡例のみ		

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.3.8）に要約した．

結果：100 mg/kg の 1 例（雌）及び 150 mg/kg の 4 例（雄 1 例，雌 3 例）について，瀕死状態が認められたため 2 日目に安楽致死させた．生存例における一般状態の変化として，活動性減少，嗜眠，部分閉眼，立毛，円背位及び糞排泄量減少が 60 mg/kg 以上で観察された．60 mg/kg 以上では単回投与後の 2 日目に体重減少（最大で 14%）も認められた．

結論：100 mg/kg 以上で死亡が，また 60 mg/kg 以上で体重減少が認められたことから，本試験の MTD は 60 mg/kg 未満に決定された．

2.6.6.2.2　イヌを用いた単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　イヌを用いた単回経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.1-3，概要表：2.6.7.5.3，報告書番号：[redacted]-3327］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のイヌに単回経口投与したときの MTD を決定することであった（表 2.6.6.2－4）.

表 2.6.6.2－4　イヌを用いた単回経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：[redacted]-3327		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：ビーグル犬		**投与量：**50 及び 80 mg/kg
投与開始時齢：約 7 ヶ月齢		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液（50 及び 80 mg/kg/日）；カプセル（80 mg/kg/日）[a]
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 2 匹		**投与経路：**経口（強制経口又はカプセル）
投与期間：単回投与		**休薬期間：**3 日間
TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 1 日目	**時点（投与後時間）：** 0（投与前），0.25，0.5，1，2，4，8，12，24，32 及び 48 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：投与 1，3，6 及び 9 時間後 • 身体検査：試験前 1 回 - 体重及び摂餌量：試験前及び 1 日 1 回 - 臨床検査：途中死亡例のみ - 剖検：途中死亡例のみ		

a) 0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液を用いて NBI-98854 を 50 又は 80 mg/kg で投与したところ，嘔吐が高頻度に認められたため，カプセルを用いて NBI-98854 を 80 mg/kg で投与する群を別途設定した.

b) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.15）に要約した.

結果：80 mg/kg において，投与約 1 時間後｛0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液を用いて投与された雄 1 例及びカプセルを用いて投与された雌 1 例｝又は 32 時間後（カプセルを用いて投与された雄 1 例）に痙攣又は瀕死状態が認められたため，安楽致死させた．50 mg/kg 以上では，運動失調，震え，活動性減少，嗜眠，横臥，過度の流涎及び嘔吐が認められた．嘔吐の頻度及び重度は，カプセルを用いて投与した場合の方が軽度であった.

結論：NBI-98854 を雌雄のイヌに単回経口投与したときの MTD は，80 mg/kg で痙攣及び瀕死状態が認められたことから，50 mg/kg に決定された.

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　探索的反復投与毒性試験

毒性プロファイルの特定, TK 評価及び／又は GLP 適用試験の用量設定の目的で, NBI-98854 のマウス，ラット及びイヌを用いた探索的反復投与毒性試験（GLP 非適用）を実施した（表 2.6.6.3－1）．これらの用量設定試験において得られた結果の中で，主要な反復投与毒性試験の用量設定に関連のある死亡及び一般状態の変化に重点をおいてデータを提示した．

表 2.6.6.3－1　NBI-98854 の探索的反復投与毒性試験

報告書番号	動物種	投与期間（日）	投与量（mg/kg/日）	GLP 適用
[redacted]-98854-007-TX	マウス	24/25	0，30，100，300，600	非適用
[redacted]-98854-001-TX	ラット	3	0，50，100	非適用
[redacted]-2059	ラット	1/6	0，60，80，100	非適用
Tox-HTBZ-98854-07-02	ラット	12	0，15，30，60	非適用
[redacted]-3327	イヌ	7	20，40，60[a]	非適用

a)　イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験では，NBI-98782 の経口投与による評価も 5 及び 15 mg/kg/日で実施した．

2.6.6.3.1.1　マウスを用いた試験

2.6.6.3.1.1.1　マウスを用いた 24 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-1，概要表：2.6.7.6.1，報告書番号：[redacted]-98854-007-TX］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のマウスに 1 日 1 回，24 日間（雄）又は 25 日間（雌）反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，14 日間の休薬期間による所見の回復性の有無を評価することであった（表 2.6.6.3－2）.

表 2.6.6.3－2　マウスを用いた 24 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-98854-007-TX</td><td>GLP 適用：非適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：CD-1 マウス</td><td>投与量：0，30，100，300 及び 600 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 8 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：雌雄各 6 又は 10 匹 [a]</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：24/25 日間</td><td>休薬期間：14 日間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
- 300 mg/kg/日以下：24 日目（雄），25 日目（雌）
- 600 mg/kg/日：1 日目</td><td>時点（投与後時間）：
- 300 mg/kg/日以下：0.5，2，6 及び 24 時間
- 600 mg/kg/日：0.5，1，1.5，2，2.5，4，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：1 日 2 回
- 体重及び摂餌量：1 日目以降，2 日に 1 回
- 器官重量，剖検及び病理組織学的検査 [c]：投与期間終了時及び休薬期間終了時</td></tr>
</table>

a)　0，30，100 及び 300 mg/kg/日は 1 群雌雄各 10 匹；600 mg/kg/日は雌雄各 6 匹
b)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.5）に要約した.
c)　病理組織学的検査は，投与期間終了時及び休薬期間終了時の剖検後に，1 群あたり雌雄各 4 匹のマウスについて実施した（600 mg/kg/日を除く）.

結果：600 mg/kg/日では単回投与後に死亡（雄 2 例，雌 4 例）が認められたため，この群は 2 日目の投与前に安楽致死させた．300 mg/kg/日以下での死亡は 30 mg/kg/日の雄 1 例（15 日目）及び 300 mg/kg/日の雌 2 例（4 及び 25 日目）のみであり，30 mg/kg/日の雄 1 例及び 300 mg/kg/日の雌 1 例（4 日目）は投与後 15 分以内に死亡し，死亡が被験物質投与に起因したか，投与のストレスに起因したか明確ではなかった．300 mg/kg/日の雌 1 例（25 日目）は最終日の投与前に死亡していることが確認され，死因は不明であった．600 mg/kg/日で死亡前にみられた一般状態の変化は，異常歩行，活動性減少，円背位，横臥，起立不能，四肢伸展，浅い呼吸，神経過敏運動，振戦及び／又は痙攣であった.

生存例における主要な一般状態の変化は，100 mg/kg/日以上で認められた投与後の眼瞼下垂及び／又は活動性減少であった．12 日目以降に，100 mg/kg/日以上で投与前の活動性増加が連日観察された.

結論：NBI-98854 をマウスに 1 日 1 回，24 日間（雄）又は 25 日間（雌）反復経口投与したところ，より長期の試験において 300 mg/kg/日まで認容しうると考えられた．したがって，マ

ウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.1.1）における NBI-98854 の用量は，0，10，30，100 及び 300 mg/kg/日に設定された．

2.6.6.3.1.2　ラットを用いた試験

2.6.6.3.1.2.1　ラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-3，概要表：2.6.7.6.2，報告書番号：[redacted]-98854-001-TX］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雄のラットに 1 日 1 回，3 日間反復経口投与したときの MTD を検討することであった（表 2.6.6.3－3）．

表 2.6.6.3－3　ラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：[redacted]-98854-001-TX	**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット	**投与量：**0，50 及び 100 mg/kg/日
性別及び 1 群の動物数：雄 3 匹	**媒体：**0.5%（w/v）メチルセルロース水溶液
投与期間：3 日間	**投与経路：**強制経口
TK：評価せず	**休薬期間：**3 日間
評価パラメータ： - 一般状態：投与 1 及び 6 時間後 - 体重：投与期間中 1 日 1 回及び剖検前 - 摂餌量：技術員の過誤により評価せず - 剖検：7 日目	

結果：試験期間中，全例とも生存した．50 mg/kg/日以上ですべての投与日に認められた一般状態の変化は，投与 1 時間後の円背位及び振戦であった．3 日間の休薬期間後には一般状態の変化は認められなかった．最終投与日である 3 日目の 50 及び 100 mg/kg/日における体重は，対照群と比較して，それぞれ約 18%及び 23%減少した．剖検時の肉眼所見は認められなかった．

結論：NBI-98854 を雄のラットに 3 日間反復経口投与したときの MTD は 50 mg/kg/日未満に決定された．

2.6.6.3.1.2.2　ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-4，概要表：2.6.7.6.3，報告書番号：[redacted]-2059］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，7 日間反復経口投与したときの MTD を検討することであった（表 2.6.6.3－4）．

表 2.6.6.3－4　ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：[redacted]-2059		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット		**投与量：**0，60，80 及び 100 mg/kg/日
投与開始時齢：9～10 週齢		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 3 匹		**投与経路：**強制経口
投与期間：6 日間 [a]		**休薬期間：**該当せず
TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 1 日目	**時点（投与後時間）：** 0（投与前），0.25，0.5，1，3，8，24 及び 48 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：1～3 日目の投与 1，3，6 及び 9 時間後；4～6 日目の投与 0（投与前），2 及び 6 時間後 - 体重及び摂餌量：試験前及び 1 日 1 回 - 剖検：途中死亡例のみ		

a)　死亡及び／又は一般状態の毒性変化が認められたため，80 mg/kg/日以上は 2 日目の投与前に，60 mg/kg/日は 6 日目の投与後に，それぞれ投与を中止した．

b)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.3.8）に要約した．

結果：80 mg/kg/日の 1 例（雌）及び 100 mg/kg/日の 2 例（雄 1 例，雌 1 例）が，2 又は 3 日目に死亡又は瀕死状態で安楽致死させた．80 mg/kg/日以上では単回投与後に死亡が認められたため，2 日目以降の投与を中止した．一般状態の変化として，活動性減少，部分閉眼，嗜眠，円背位及び／又は糞排泄量減少が，60 mg/kg/日以上で認められた．60 mg/kg/日では 6 日目に対照群と比較して最大で 28%の体重減少が認められ，それに関連して摂餌量が約 70%減少した．

結論：NBI-98854 を雌雄のラットに最長 6 日間反復経口投与したとき，致死量は 80 mg/kg/日以上，MTD は 60 mg/kg/日未満に決定された．

2.6.6.3.1.2.3　ラットを用いた 12 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-5，概要表：2.6.7.6.4，報告書番号：Tox-HTBZ-98854-07-02］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雄のラットに 1 日 1 回，12 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価することであった（表 2.6.6.3－5）．

表 2.6.6.3－5　ラットを用いた 12 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：Tox-HTBZ-98854-07-02		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット		**投与量：**0，15，30 及び 60 mg/kg
投与開始時齢：約 8 週齢		**媒体：**0.5%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雄 4 匹		**投与経路：**強制経口
投与期間：12 日間		**休薬期間：**該当せず
TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 1 及び 12 日目	**時点（投与後時間）：** 0.25，0.5，1，2，4，6，8 及び 24 時間
評価パラメータ： - 一般状態：1 日 2 回及び 13 日目の剖検前 - 体重：試験前及び 1 日 1 回 - 摂餌量：1 日目以降，2 日に 1 回 - 血液生化学的検査及び血液学的検査：13 日目 - 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査[b]：投与期間終了時（13 日目）		

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.9）に要約した．

b)　ヘマトキシリン・エオジン染色（以下，H&E 染色）による標準的な脳組織の検査に加えて，壊死性神経細胞を検出するため，脳切片の Fluoro-Jade B 染色も実施した．

結果：60 mg/kg/日まで死亡は認められなかった．一般状態の変化として，NBI-98854 の薬理作用と考えられる眼瞼下垂，嗜眠及び異常姿勢（円背位及び開脚）が 15 mg/kg/日以上で観察された．翌日の投与前には，これらの一般状態の変化は消失していた．しかし，7 日目以降，投与前の活動性増加が 15 mg/kg/日以上で認められた．60 mg/kg/日で試験終了時の体重及び摂餌量が，いずれも対照群と比較して約 19%減少した．

少数の統計学的に有意な変化が血液生化学的検査パラメータに認められたが，これらの変化は軽微であったこと，用量依存性が認められなかったこと，及び／又は関連する病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性学的意義はないと考えられた．

病理組織検査では，ヒラメ筋の軽微な筋線維変性（対照群を含む全群）及び筋鞘核肥大（15 mg/kg/日以上）が認められたが，軽微かつ用量依存性が認められなかったことから，毒性とは判断されなかった．脳の病理組織学的検査では，H&E 染色及び特殊染色（Fluoro-Jade B 染色）において，病変は認められなかった．

結論：NBI-98854 を雄のラットに 12 日間反復経口投与したときの NOAEL は 30 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.3.1.3　イヌを用いた試験

2.6.6.3.1.3.1　イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-9，概要表：2.6.7.6.5，報告書番号：[redacted]-3327］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のイヌに 1 日 1 回，7 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価することであった．また，NBI-98782 をイヌに投与したときの影響についても評価した（表 2.6.6.3－6）．

表 2.6.6.3－6　イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-3327</td><td>GLP 適用：非適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ビーグル犬</td><td>投与量：NBI-98854：20，40 及び 60 mg/kg/日；NBI-98782：5 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 7 ヶ月齢</td><td>投与形態：カプセル</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：雌雄各 2 匹</td><td>投与経路：経口（カプセル）</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：7 日間</td><td>休薬期間：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-98782（直接投与後）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 7 日目</td><td>時点（投与後時間）：
- 1 日目：0（投与前），0.25，0.5，1，2，4，8，12 及び 24 時間
- 7 日目：0（投与前），0.25，0.5，1，2，4，8，12，24，32 及び 48 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与 1，3，6 及び 9 時間後
• 身体検査：試験前 1 回
- 体重及び摂餌量：試験前及び 1 日 1 回
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：試験前及び 8 日目（尿検査については 7 日目）
- 剖検：途中死亡例のみ</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.15）に要約した．

結果：NBI-98854 を投与した 2 例で間代性／強直性痙攣及び／又は痙攣発作様活動が認められたため，安楽致死させた（40 mg/kg/日の雌 1 例を 1 日目，60 mg/kg/日の雄 1 例を 6 日目）．その他の一般状態の変化は NBI-98854 及び NBI-98782 のすべての用量で類似しており，その内訳は，嘔吐，過度の流涎，運動失調，震え，活動性減少，嗜眠及び／又は横臥であった．これらの変化の頻度や程度は用量依存的であり，投与翌日の投与前には回復した．投与期間終了時の体重及び摂餌量は投与前値と同程度であった．

結論：NBI-98854 及び NBI-98782 を雌雄のイヌに 7 日間反復経口投与したときの MTD は，それぞれ 20 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.3.2　主要な反復投与毒性試験

NBI-98854 の毒性を評価するとともにヒトへのリスク評価を実施するため，マウス（最長 91 日間），ラット（最長 6 ヶ月間）及びイヌ（最長 9 ヶ月間）を用いて主要な反復投与毒性試験を実施した（表 2.6.6.3－7）.

表 2.6.6.3－7　NBI-98854 の主要な反復投与毒性試験

報告書番号	動物種	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP 適用
20021098	マウス	91 日間	0，10，30，60，100，300	適用
[redacted]-2064	ラット	14 日間	0，15，25，50	適用
20008481	ラット	91 日間	0，1，3，10，15	適用
8271662	ラット	6 ヶ月間	0，3，10，15	適用
[redacted]-3332	イヌ	14 日間	0，5，15，35/30[a]	適用
20008482	イヌ	91 日間	0，2，5，12.5，20	適用
20028697	イヌ	9 ヶ月間	0，3，10，15	適用

a)　イヌ 14 日間反復経口投与毒性試験では，NBI-98782 の経口投与による評価も 7.5 及び 15 mg/kg/日で実施した.

2.6.6.3.2.1　マウスを用いた反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.2.1.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-2，概要表：2.6.7.7.1，報告書番号：20021098］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のマウスに 1 日 1 回，91 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 28 日間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－8）.

表 2.6.6.3－8　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：20021098		**GLP 適用：**適用
動物種／系統：CD-1 マウス		**投与量：**0，10，30，60，100 及び 300 mg/kg/日 [a]
投与開始時齢：10～11 週齢		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数： 主試験：雌雄各 10 匹 回復性試験：雌雄各 5 匹（全群）		**投与経路：**強制経口
投与期間：90/91 日間 [a]		**休薬期間：**28 日間
TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：**[c] 1 及び 91 日目	**時点（投与後時間）：** 0（投与前），0.5，1，2，6 及び 24 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：投与期間中は 1 日 2 回（投与の 0.5～1 時間後及び投与の約 7 時間後）；休薬期間中は 1 日 1 回 • 詳細観察：-1 週目以降，週 1 回 - 体重：1 日目以降，週 1 回及び剖検前 - 摂餌量：-1 週目以降，週 1 回 - 眼科学的検査：試験前及び投与最終週 - 臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査）：投与期間終了時（91/92 日目）及び休薬期間終了時（120 日目） - 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査 [d]：投与期間終了時（91/92 日目）及び休薬期間終了時（120 日目）		

a) 300 mg/kg/日で多数の死亡及び明らかな一般状態の変化が認められたため，本用量での投与は単回投与後に中止し，新たな動物を用いた 60 mg/kg/日を設置した.
b) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.6）に詳述した.
c) 300 mg/kg/日で単回投与後に死亡が認められたため，本群の TK は 1 日目のみ評価した.
d) 対照群及び 100 mg/kg/日の動物については，組織を詳細に検討するため，標準的な脳組織の検査に加えて，基底核及び黒質を含む脳の切片を作製し，星状膠細胞反応を評価するためのグリア線維性酸性たん白質（以下，GFAP）の染色，神経細胞壊死を評価するための Fluoro-Jade B 染色並びに脳のドパミン作動性ニューロンマーカーのチロシンヒドロキシラーゼ染色を実施した.

結果：投与最終日（91 日目）における NBI-98854 及びその代謝物（NBI-98782 及び NBI-136110）の血漿中曝露量を表 2.6.6.3－9 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.6）に詳述した.

表 2.6.6.3－9　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max} (ng/mL)	10	914	500	44.8	75.2	270	199
	30	2,462	3,269	119	186	764	585
	60	**5,229**	**7,012**	**196**	**227**	**1,603**	**1,076**
	100	4,290	6,026	248	207	2,089	925
最終日の AUC_{0-24} (ng·h/mL)	10	3,112	1,414	316	257	1,870	1,179
	30	11,504	8,372	980	856	7,207	4,530
	60	**29,396**	**21,161**	**1,903**	**1,360**	**16,972**	**10,489**
	100	42,580	28,507	2,736	1,810	24,131	13,553

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す.

100 及び 300 mg/kg/日で死亡が認められた．300 mg/kg/日の単回投与後に，雄 2 例が死亡し，雄 7 例及び雌 4 例が瀕死状態で安楽致死させた．300 mg/kg/日では死亡前に活動性減少，横臥／腹臥，努力性呼吸，運動失調，身体硬直，部分閉眼及び円背位などの一般状態変化が観察された．100 mg/kg/日の死亡は雌 1 例（74 日目に死亡）及び雄 1 例（89 日目に瀕死期解剖）であった．これらの動物では，死亡前に一般状態の変化として活動性減少，活動性増加，努力性呼吸，冷触感及び／又は粗毛が観察された．300 mg/kg/日の単回投与後に多数の死亡及び明らかな一般状態の変化が認められたため，本用量は単回投与後に中止し，新たな動物を用いた 60 mg/kg/日群を設置した．

100 mg/kg/日以下の生存例では，被験物質に起因した一般状態の変化である活動性減少が，主に投与の最初の数日間に観察された（表 2.6.6.3－10）．100 mg/kg/日で 18 日目以降の投与前に活動性増加が認められ，引き続き投与期間の 9 週目まで散見されたが，それ以降所見は消失した．その他の一般状態の変化（粗毛，尿による被毛の汚れ又は乱れなど）が 30 mg/kg/日以上で少数例に認められた（データは毒性試験概要表 2.6.7.7.1 に記載）．休薬期間終了時には毒性学的に意義のある一般状態の変化は認められなかった．

表 2.6.6.3－10　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における一般状態の変化

性別：	雄					雌				
投与量（mg/kg/日）：	0	10	30	60	100	0	10	30	60	100
動物数：	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
死亡	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
活動性減少	0	0	15	3	15	0	0	15	4	15
活動性増加	0	0	0	0	15	0	0	0	0	15

注：所見の総発現頻度は，ケージサイド（投与後），投与前及び週 1 回の詳細な一般状態観察を併合したものである．300 mg/kg/日では多数の死亡及び明らかな一般状態の変化が認められたため，この群の一般状態の変化は記載しなかったが，毒性試験概要表 2.6.7.7.1 に要約した．

対照群と比較して統計学的に有意な体重減少が，30 及び 100 mg/kg/日の雄で認められ，投与期間終了時には 30，60 及び 100 mg/kg/日でそれぞれ 9%，4%及び 13%の体重減少が認められた．28 日間の休薬期間中に体重関連パラメータの改善が認められ，被験物質の影響からの回復が示された．被験物質投与に起因する摂餌量の変化及び眼科学的所見は認められなかった．

血液学的及び血液生化学的検査では幾つかのパラメータにおいて，対照群と比較して統計学的に有意な変化が主に 60 mg/kg/日以上で認められたが（2.6.7.7.1），いずれも毒性学的意義のないものと考えられた．その理由として，対照群と比較した変化の差の程度が比較的小さかったこと，関連する病理組織学的変化が認められなかったこと，用量依存的な傾向が認められなかったこと，及び／又はこれらのパラメータが試験施設の背景値の範囲内であったことが挙げられる．投与期間後及び休薬期間後に，被験物質投与に起因した器官重量の変化は認められなかった．対照群と比較し統計学的に有意な絶対及び相対胸腺重量の減少（27%～40%）が，30 mg/kg/日以上の雄で投与期間終了時に観察された．関連する病理組織学的変化が認められなかったことから，この胸腺重量減少は毒性学的意義が低いと考えられた．

投与期間終了時及び休薬期間終了時において，被験物質に起因した肉眼所見は認められなかった．病理組織学的検査では，被験物質に起因した所見として軽微から軽度の乳腺の小葉過形成が 10 mg/kg/日以上の雌で認められ，発現頻度が最も高かったのは 60 mg/kg/日以上であった．28 日間の休薬期間後に部分的な回復が認められた（表 2.6.6.3－11）．雄では小葉過形成は認められなかったが，雄では乳腺組織の検索が困難な場合があり，乳腺組織を評価できたのは少数例にすぎなかった．この所見は NBI-98854 の薬理作用（ドパミン遊離抑制による二次的変化として生じたプロラクチン増加）に一致するものである（考察については 2.6.6.9.2.4 参照）．

表 2.6.6.3－11　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における乳腺の病理組織学的所見

性別：	**雌**									
計画解剖	**投与期間終了時（91/92 日目）**					**休薬期間終了時（120 日目）**				
投与量（mg/kg/日）：	**0**	**10**	**30**	**60**	**100**	**0**	**10**	**30**	**60**	**100**
評価動物数：	**10**	**10**	**9**	**10**	**9**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
乳腺										
小葉過形成（軽微から軽度）	0	2	1	6	7	0	0	0	2	1

対照群及び高用量群（100 mg/kg/日）の全例から採取した脳切片の H&E 染色及び特殊染色を用いた詳細な検討により，被験物質を 100 mg/kg/日までの用量で 91 日間反復投与しても，脳の肉眼的変化及び病理組織学的変化は誘発されないことが示された．具体的には，黒質の緻密部領域（ドパミン作動性ニューロンを有する領域），線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域における形態学的変化（光学顕微鏡で検出可能なもの）は引き起こされなかった．

結論：NBI-98854 を雌雄のマウスに 1 日 1 回，91 日間経口投与したとき，60 mg/kg/日まで良好な忍容性が認められた．100 mg/kg/日では被験物質に起因する可能性のある死亡が認められた．病理組織学的検査では，乳腺の可逆的な小葉過形成が 10 mg/kg/日以上の雌で観察され，60 mg/kg/日以上で発現頻度が最も高かったが，この所見は NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．これらの結果に基づき，NBI-98854 をマウスに 91 日間反復経口投与したときの NOAEL は 60 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.3.2.2　ラットを用いた試験

2.6.6.3.2.2.1　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-6，概要表：2.6.7.7.2，報告書番号：[redacted]-2064］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，14 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 10 日間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－12）．

表 2.6.6.3－12　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-2064</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，15，25 及び 50 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 9 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 10 匹
回復性試験：雌雄各 5 匹（0，25 及び 50 mg/kg/日）</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：14 日間</td><td>休薬期間：10 日間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 14 日目</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，2（14 日目のみ），3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与前並びに投与の 2 及び 6 時間後；休薬期間中は 1 日 1 回
• 身体検査：試験前 1 回及び週 1 回
- 眼科学的検査：試験前，12 日目及び休薬期間終了時
- 体重及び摂餌量：試験前 1 回及び試験中毎日
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：投与期間終了時（15 日目）及び休薬期間終了時（休薬 10 日目）
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査[b]：投与期間終了時（15 日目）及び休薬期間終了時（休薬 11 日目）</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.10）に要約した．

b)　対照群及び高用量群（50 mg/kg/日）の全例並びに 25 mg/kg/日の途中死亡例については，標準的な脳組織の検査に加えて，ドパミンが豊富な領域（黒質及び線条体）の検査を可能にするため脳組織の広範な切片を作製し，H&E 染色及び壊死性神経細胞を特定するための特殊染色（Fluoro-Jade B 染色）を実施した．

結果：投与最終日（14 日目）における NBI-98854 及び代謝物 NBI-98782 の曝露量を表 2.6.6.3－13 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.10）に詳述した．

表 2.6.6.3－13　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max} (ng/mL)	**15**	**1,510**	**1,400**	**502**	**645**
	25	2,030	2,030	712	880
	50	2,290	3,080	1,070	1,460
最終日の AUC_{0-24} (ng·h/mL)	**15**	**8,250**	**6,310**	**4,590**	**6,010**
	25	12,500	11,800	7,950	8,420
	50	16,500	19,800	12,700	16,900

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す．

25 mg/kg/日の雌 1 例が 14 日目に死亡し，50 mg/kg/日の雌 2 例が 2 及び 14 日目に死亡した．15 mg/kg/日以上で投与期間を通じて全例に認められた一般状態の変化は部分閉眼及び活動性減少であり，これらは NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．その他の所見として，立毛，円背位，投与前の活動性増加及び努力性呼吸が 15 mg/kg/日以上で，震えが 25 mg/kg/日以上で，冷触感，削痩，糞排泄量減少，並びに口吻，四肢及び／又は肛門生殖部位の汚れが 50 mg/kg/日で，それぞれ認められた．これらの所見は休薬期間終了時には認められなかった．投与期間終了時及び休薬期間終了時において，被験物質に起因した眼科学的所見は認められなかった．

投与期間終了時に，15 mg/kg/日以上で体重減少が認められ，対照群と比較して 15 mg/kg/日の雌（9%），25 mg/kg/日の雌雄（最大で 14%）及び 50 mg/kg/日の雌雄（最大で 23%）では統計学的に有意な減少であった．また，25 mg/kg/日以上ではそれに対応して統計学的に有意な摂餌量減少が認められた．休薬期間終了時までに摂餌量は対照群と同程度になり，体重には回復傾向が認められた．

対照群と比較して統計学的に有意かつおおむね用量依存的な変化が，多数の血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査のパラメータで認められた（2.6.7.7.2）．血液凝固パラメータには被験物質起因の変化は認められなかった．臨床検査における変化の大半は，中等度から重度の摂餌量減少及びそれに伴う体重減少による二次的な影響に一致するものであった．10 日間の休薬期間後では，体重及び摂餌量が回復し，それに伴って，多くの臨床検査パラメータも回復性を示した．対照群と比較して統計学的に有意かつ用量依存的な器官重量の減少（絶対重量，体重比重量及び／又は脳重量比重量）が認められた．25 mg/kg/日以上で，体重比重量の減少が，子宮／子宮頸部（最大で 40%）及び胸腺（最大で 29%，雌のみで有意）に認められた．50 mg/kg/日では統計学的に有意な絶対下垂体重量の減少（最大で 28%）も認められたが，体重比重量で

は認められなかった．これらの変化は休薬期間後には認められず，関連する病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性変化ではないと考えられた．

投与期間終了時及び休薬期間の終了時に，被験物質に起因した剖検所見は認められなかった．病理組織学的変化が乳腺及び骨髄に観察された（表 2.6.6.3－14）．乳腺雌型分化（小葉胞状型から管状胞状腺型への分化）の発現頻度増加が，25 mg/kg/日以上の雄で認められた．雌では，軽微から軽度の腺房過形成及び分泌増加が，15 mg/kg/日以上で観察された．骨髄（胸骨及び／又は大腿骨）における変化の特徴は細胞密度減少であり，25 mg/kg/日では軽微から軽度，50 mg/kg/日では軽微から顕著であった．10 日間の休薬期間後には，乳腺及び骨髄の変化は認められなかった．

表 2.6.6.3－14　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験における病理組織学的所見

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	15	25	50	0	15	25	50
乳腺								
評価動物数：	7	9	9	9	10	9	10	10[a]
腺房過形成（軽微から軽度）	0	0	0	0	0	8	7	8
分泌増加（軽微から軽度）	0	0	0	0	0	5	5	8
雌型分化	1	1	4	7	NA			
骨髄（胸骨）								
評価動物数：	10	10	10	10	10	10	10	10[a]
細胞密度減少　（軽微から軽度）	0	0	1	6	0	0	2	4
細胞密度減少　（中等度から顕著）	0	0	0	2	0	0	0	5
骨髄（大腿骨）								
評価動物数：	10	10	10	10	10	10	10	10[a]
細胞密度減少　（軽微から軽度）	0	0	1	5	0	0	2	2
細胞密度減少　（中等度から顕著）	0	0	0	3	0	0	0	6

NA＝ 該当せず

a)　投与期間中の 14 日目に死亡した回復群の雌 1 例を含み，2 日目に死亡した雌 1 例は除く．

乳腺の変化は，薬理作用に起因したドパミン遊離抑制及び高プロラクチン血症による二次的変化と考えられ，10 日間の休薬期間後には認められなかった．骨髄細胞密度の変化は，臨床検査の変化と同様に，大幅な摂餌量減少に起因する栄養失調及び体重増加抑制又は体重減少により予想される所見であり，実験的に 2 週間の給餌制限を受けたラット毒性試験において報告されている（Levin et al., 1993）．25 及び 50 mg/kg/日における 10 日間の休薬期間後の骨髄細胞密度の回復は，観察された摂餌量及び体重の回復とも一致する．

対照群及び高用量群（50 mg/kg/日）の全例並びに 25 mg/kg/日の途中死亡例から採取した脳切片の H&E 染色及び特殊染色を用いた詳細な脳の検査では，被験物質に起因した肉眼所見及び病理組織学的所見は認められなかった．特に黒質の緻密部領域（ドパミン作動性ニューロンを有する領域），線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域には，光学顕微鏡で検出可能な形態学的変化は認められなかった．

結論：NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回, 14 日間経口投与したところ, 25 及び 50 mg/kg/日で死亡が認められた．一般状態の変化は本薬の薬理作用に一致するものであった．可逆的な骨髄細胞密度減少が 25 mg/kg/日以上で観察されたが，これは 25 mg/kg/日以上で認められた中等度から重度の摂餌量及び体重の減少により二次的に生じた変化に一致するものであった. 乳腺の可逆的な病理組織学的変化（雌の腺房過形成及び分泌増加並びに雄の雌型分化）がすべての用量の雌及び 25 mg/kg/日以上の雄に認められたが，これらは薬理作用に起因したドパミン遊離抑制及び高プロラクチン血症による二次的変化と考えられた．NBI-98854 を雌雄のラットに 14 日間反復経口投与したときの NOAEL は, 25 mg/kg/日以上で死亡が認められたことから, 15 mg/kg/日に決定された.

2.6.6.3.2.2.2　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-7，概要表：2.6.7.7.3，報告書番号：20008481］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，91 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 6 週間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－15）.

表 2.6.6.3－15　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：20008481</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，1，3，10 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 8 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 10 匹
回復性試験：雌雄各 5 匹（0，3，10 及び 15 mg/kg/日）</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：91 日間</td><td>休薬期間：6 週間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 91 日目</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：毎日，投与日は投与後 1～4 時間（6 日目以降は投与後約 3 時間）；非投与日は 1 日 1 回
• 詳細な一般状態観察：試験前に 1 回及び試験中は週 1 回
- 体重及び摂餌量：試験前に 1 回及び試験中に週 1 回；119 日目以降は週 2 回（体重のみ）
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：投与期間終了時（92 日目）及び休薬期間終了時｛134 日目（雌）／135 日目（雄）｝
- 眼科学的検査：試験前及び投与最終週
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査[b]：投与期間終了時（92 日目）及び休薬期間終了時｛134 日目（雌）／135 日目（雄）｝</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.12）に要約した.

b)　標準的な脳組織の検査（全群）に加えて，星状膠細胞反応を評価するための GFAP に対する特殊染色，神経細胞壊死を評価するための Fluoro-Jade B 染色並びにドパミン作動性ニューロンマーカーのチロシンヒドロキシラーゼ染色を，対照群及び 15 mg/kg/日の動物の黒質及び線条体の組織切片について実施した.

結果：投与最終日（91 日目）における NBI-98854 及び代謝物 NBI-98782 の曝露量を表 2.6.6.3－16 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.12）に詳述した.

表 2.6.6.3－16　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max}（ng/mL）	1	25.9	35.8	20.8	29.9
	3	76.8	186	72.2	93.1
	10	526	686	249	404
	15	**589**	**967**	**423**	**660**
最終日の AUC_{0-24}（ng·h/mL）	1	68.8	179	226	306
	3	373	705	664	885
	10	2,271	2,226	2,913	3,123
	15	**3,210**	**3,471**	**4,320**	**5,061**

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す.

死亡が 10 mg/kg/日の雄 1 例（85 日目）及び 3 mg/kg/日の雌 1 例（89 日目）で認められた．いずれの死亡も食道穿孔に起因すると考えられ，NBI-98854 投与との関連はなかった．被験物質に起因した一般状態の変化として，部分閉眼及び活動性減少が 3 mg/kg/日以上で観察されたが，これらは NBI-98854 の予想される薬理作用に一致するものであった．4 週目前後から，3 mg/kg/日以上の動物で，投与前の活動性増加も認められた．

対照群と比較して統計学的に有意な体重増加抑制が，特に投与の最初の 3 週間に認められ，その結果，統計学的に有意かつ用量依存的な体重減少が，10 mg/kg/日以上の雄（14%～21%）及び 3 mg/kg/日以上の雌（7%～13%）で投与期間終了時に認められた．休薬期間中の体重増加量は，雌雄ともに対照群と同程度又はそれ以上であったことから，被験物質投与からの回復が示された．

対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の減少は，1 及び 2 週目に 15 mg/kg/日の雄（11%～12%）で，2 週目のみに 3 mg/kg/日以上の雌（13%）で認められ，それに関連して，これらの投与群では体重増加抑制が認められた．試験後期（7 週目より後及び休薬期間中）に，摂餌量の増加が 3 mg/kg/日以上で頻繁に認められた．これらの摂餌量の増加には観察された体重減少との相関は認められず，雌の方がより顕著であり，投与前に認められた活動性増加と関連している可能性があった．投与期間終了時には被験物質に起因した眼科学的変化は認められなかったため，回復性の評価は実施しなかった．

対照群と比較して統計学的に有意かつ用量依存的な変化が，血液学的検査，血液凝固検査及び血液生化学的検査の多数のパラメータに認められた（2.6.7.7.3）．尿検査パラメータには被験物質起因の変化は認められなかった．所見の多くは 6 週間の休薬期間後に回復した．血液学的検査及び血液生化学的検査における変化の意義については考察及び結論（2.6.6.9.2.3）で論じているが，これらの変化に毒性学的意義はないと考えられた．その理由として，対照群と比較して変化の程度が比較的小さかったこと，本薬の薬理作用に一致すること，関連する病理組織学的変化が認められなかったこと，及び／又はこれらのパラメータが試験施設における背景値の範囲内であったことが挙げられる．

対照群と比較して統計学的に有意な器官重量（絶対重量，脳重量比重量及び／又は体重比重量）の変化が，副腎，下垂体及び卵巣において認められた．統計学的に有意な副腎の体重比重量の増加（50%以下）が，雄では 10 mg/kg/日以上，雌では 1 mg/kg/日以上で認められ，卵巣の体重比重量の増加（46%以下）が 1 mg/kg/日以上で認められたが，統計学的に有意な変化が認められたのは 10 mg/kg/日以上のみであった．また，下垂体の体重比重量の減少（16%以下）が 1 mg/kg/日以上の雌に認められたが，統計学的有意差は認められなかった．これらの器官重量の変化のいずれにおいても，関連する病理組織学的変化は認められず，6 週間の休薬期間後に完全な回復が認められた．投与期間終了時及び休薬期間終了時の剖検では，肉眼所見は認められなかった．

投与期間終了時に乳腺の病理組織学的所見が観察され（表 2.6.6.3－17），その内訳は，10 mg/kg/日以上の雌における軽微から軽度の小葉胞状型の過形成であり，用量の増加に伴って発現頻度及び重症度がわずかに増加した．15 mg/kg/日の雄 1 例では乳腺の雌型分化（小葉胞状型から管状胞状腺型への分化）も観察された．これらの変化は休薬期間後には認められなかった．乳腺の変化はドパミン遊離抑制及び高プロラクチン血症による二次的変化と考えられた（2.6.6.9.2.4）．15 mg/kg/日の雄及び 3 mg/kg/日以上の雌では軽微な骨髄細胞密度増加（大腿骨及び胸骨）も観察されたが，所見は主に高用量群（15 mg/kg/日）で認められた．この骨髄細胞密度増加は，程度が軽微であったことから，毒性学的意義はないと考えられた．また，これらの病理組織学的変化は休薬期間後には認められなかった．

表 2.6.6.3－17　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における病理組織学的所見

性別：	**雄**					**雌**				
投与量（mg/kg/日）：	**0**	**1**	**3**	**10**	**15**	**0**	**1**	**3**	**10**	**15**
評価動物数：	**9/10** [a]	**10**	**9/10** [a]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
乳腺										
小葉胞状型の過形成（軽微から軽度）	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
雌型分化（軽微）	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
骨髄（大腿骨）										
細胞密度増加（軽微）	0	0	0	0	2	0	0	2	1	6
骨髄（胸骨）										
細胞密度増加（軽微）	0	0	0	0	2	0	0	2	1	6

a)　乳腺は 9 例，骨髄（大腿骨及び胸骨）は 10 例を評価した．
NA＝ 該当せず

対照群及び高用量群（15 mg/kg/日）の全例から採取した脳切片の H&E 染色及び特殊染色を用いた脳の詳細な検査では，脳における被験物質起因の肉眼病変及び組織学的病変は認められなかった．特に，黒質の緻密部領域（ドパミン作動性ニューロンを有する領域），線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域には，光学顕微鏡で検出可能な形態学

的変化は認められなかった.

結論：NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，91 日間経口投与したところ，15 mg/kg/日まで忍容性が認められた. 被験物質に起因した死亡は認められなかった. 一般状態の変化は NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．乳腺の可逆的な変化が，10 mg/kg/日以上の雌（小葉胞状型の過形成）及び 15 mg/kg/日の雄（雌型分化）で観察されたが，これらの所見は NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．最高用量まで毒性所見が認められなかったことから，NBI-98854 を雌雄のラットに 91 日間反復経口投与したときの NOAEL は 15 mg/kg/日に決定された.

2.6.6.3.2.2.3　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-8，概要表：2.6.7.7.4，報告書番号：8271662］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，6 ヶ月間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 6 週間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－18）．

表 2.6.6.3－18　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：8271662</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，3，10 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 6～7 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 10 匹
回復性試験：雌雄各 5 匹（全群）</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：6 ヶ月間</td><td>休薬期間：6 週間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 180 日目</td><td>時点（投与後時間）[b]：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回（午前及び午後）
• ケージサイド観察：投与期間中 1 日 1 回
• 詳細観察：試験前に 1 回，1 日目の投与前並びに投与期間中（投与後 2～4 時間及び 22～23 時間）及び休薬期間中に週 1 回
- 体重：試験前に 1 回，1 日目の投与前及びその後試験を通して週 1 回
- 摂餌量（定量的）：投与期間及び休薬期間を通じて週 1 回
- 眼科学的検査：試験前及び投与最終週
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：90 日目（尿検査は 86 日目），投与期間終了時（184 日目）及び休薬期間終了時（休薬 43 日目）
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査[c]及び神経病理学的検査[d]：投与期間終了時（184 日目）及び休薬期間終了時（休薬 43 日目）</td></tr>
</table>

a) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.13）に要約した．
b) 媒体対照群の動物については，血液検体を 1 時点（投与 1 時間後）に採取した．投与前検体を 180 日目にのみ採取した．
c) 通常の評価部位に加え，鼻甲介および鼻咽頭についても病理組織学的検査を実施した．
d) ドパミンが豊富な領域を含むすべての脳領域の詳細な評価を行うため，全例（投与期間終了時例及び休薬期間終了時例）の脳より冠状断 8 切片及び嗅球の矢状断 2 切片（湿組織中に存在する場合）を作成し．冠状断切片の病理組織学的検査を実施した．すべての切片をパラフィン包埋して約 5 µm の厚さに薄切し，H&E 染色を施した．

結果：投与 180 日目における NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の曝露量を表 2.6.6.3－19 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.13）に詳述した．

表 2.6.6.3－19　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max}（ng/mL）	**3**	**311**	**472**	**110**	**125**	**66.4**	**64.2**
	10	822	1,180	326	383	134	121
	15	1,570	971	412	476	208	109
最終日の AUC_{0-24}（ng·h/mL）	**3**	**954**	**1,650**	**897**	**1,150**	**472**	**599**
	10	3,940	4,840	3,050	3,350	1,560	1,350
	15	7,270	5,430	4,720	4,310	2,680	1,590

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す.

10 mg/kg/日以上で瀕死又は死亡が認められた．10 mg/kg/日の雄 1 例は，間代性痙攣が繰り返し認められたため，100 日目に安楽致死させた．15 mg/kg/日では，雄 2 例が投与 161 日目及び休薬 15 日目に死亡した．これらの動物で死亡前に認められた一般状態の変化は，活動性低下など生存例と同様であった．病理組織学的検査では，死因を明らかにすることはできなかった．この他に，10 mg/kg/日の雄 1 例が眼球突出及び右眼の破裂により 26 日目に安楽殺に至ったが，これは偶発的なものと考えられ，活動性増加によりケージ内で生じた外傷に起因する可能性が考えられた.

一般状態の変化を表 2.6.6.3－20 に要約した．3 mg/kg/日以上で，投与期間を通じて活動性減少が認められ，部分閉眼が散見されたが，これらは NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．すべての用量で，投与前に活動性増加も観察された．これらの所見は頻度／発現率の観点で用量依存的であり，休薬期間中に回復した.

ミオクローヌス発作及び／又は間代性痙攣が 10 mg/kg/日の雄 1 例及び 15 mg/kg/日の雄 3 例，雌 1 例に認められた．一部の例では攣縮も認められたが，この所見はミオクローヌス発作及び／又は間代性痙攣が認められた動物及び認められなかった動物共に発現した．ミオクローヌス発作及び痙攣の発現時期と被験物質の最高血漿中濃度到達時間（以下，t_{max}）との関連は認められなかったが，投与時及び／又は動物の取扱い時の活動性増加が認められた期間に発現した．最初の痙攣は 15 mg/kg/日の雌 1 例で投与 64 日目に認められたが，痙攣はおおむね投与期間の後半（投与 97 日目以降）に観察された．ミオクローヌス発作及び／又は間代性痙攣が認められた動物は，15 mg/kg/日の雄 1 例を除き，投与期間終了時に剖検されたため回復性を評価できなかった．15 mg/kg/日の雄 1 例は回復性試験に割付けられており，この動物では休薬期間中にミオクローヌス発作及び間代性痙攣は認められなかった．また，休薬期間までこれらの所見が認められなかった 15 mg/kg/日の雄 1 例で，休薬期間終了時近く（休薬 42 日目）にミオクローヌス発作及び間代性痙攣が 1 回観察されたが，投与期間中には認められなかったことから偶発所見と考えられた.

表 2.6.6.3－20　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における一般状態の変化

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	3	10	15	0	3	10	15
動物数：	15	15	15	15	15	15	15	15
活動性減少（投与後）	0	7	14	15	0	8	15	15
活動性増加（投与前）	0	11	15	15	1	15	15	15
部分閉眼	0	3	12	14	0	5	14	14
痙攣 [a]	0	0	1	2	0	0	0	1
ミオクローヌス発作 [b]	0	0	1	3[c]	0	0	0	1
攣縮 [d]	0	0	2	2	0	0	0	1

a)　主試験（投与期間）及び回復群（休薬期間）を併合した痙攣の所見
b)　全身又は前肢のミオクローヌス発作；主試験と回復性試験を併合した.
c)　2 例は投与期間，1 例は休薬期間に観察された.
d)　全身又は前肢の攣縮（主試験中にのみ観察された）

対照群と比較した体重減少及び体重増加抑制が，投与期間を通じて 3 mg/kg/日以上で認められ（図 2.6.6.3－1），その結果，投与期間終了時には，統計学的に有意かつ用量依存的な体重減少が，雄（21%～34%）及び雌（11%～20%）で認められた．休薬期間中の体重増加量には回復傾向が認められたが，休薬期間終了時の体重には，引き続き対照群と比較した減少が，3 mg/kg/日以上の雄（14%～31%）及び雌（15%～21%）で認められた.

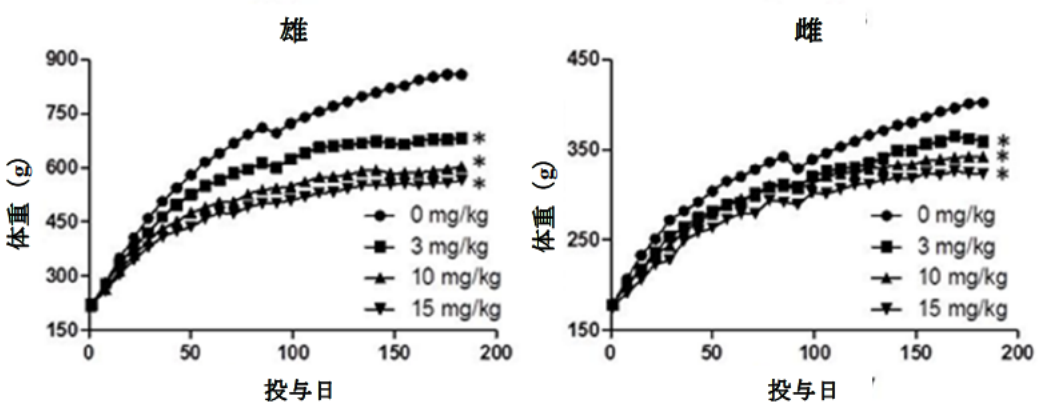


図 2.6.6.3－1　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における体重変化

*$p \leq 0.05$（対照群と比較して統計学的に有意）
約 90 日目におけるわずかな体重減少は，血液生化学的検査用の採血のために動物を夜間絶食させたことに一致する.

対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量減少が試験期間を通じて 3 mg/kg/日以上の雄で認められた（最大で 26%）．投与期間終了時に 3 mg/kg/日以上で最大 21%の摂餌量減少が認められ，それに関連してこれらの群では体重減少が認められた．休薬期間中の雄の摂餌量は対照群とほぼ同程度であった．雌の摂餌量については，投与期間の最初の 2 週間において，すべての用量で対照群より有意に減少した（11%～22%）．3 mg/kg/日の雌では，このパターンが投与 29 日目まで持続し，その後の摂餌量は対照群にほぼ一致していた．10 及び 15 mg/kg/日では，

投与 22～29 日目の週以降に摂餌量がおおむね対照群を上回り（11%～36%），多くの場合統計学的有意差が認められた．休薬期間中においては 3 mg/kg/日の雌では対照群との違いは認められなかった．一方，10 mg/kg/日の雌の摂餌量が対照群より多かったのは休薬期間の最初の 21 日間であった（第 1 週に有意差あり）のに対し，15 mg/kg/日の雌では休薬期間中に引き続き対照群より多かった（3 週間にわたって有意差あり）．

投与期間終了時に被験物質に起因した眼科学的毒性は認められなかったため，回復性の評価は実施しなかった．

NBI-98854 投与に起因したと考えられる，血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査を含む臨床検査パラメータにおける軽度から中等度の複数の変化が 184 日目に観察された（2.6.7.7.4）．変化はおおむね可逆的であり，変化の程度が小さかったこと並びに／又は関連する臨床検査所見及び病理組織学的所見が認められなかったことから，これらの変化の毒性学的意義はないと考えられた．15 mg/kg/日の雌における平均赤血球容積の変化（対照群と比較して 7%の増加）及び 3 mg/kg/日以上の群の雄におけるグルコースの変化（対照群と比較して 14%～17%の減少）を除いて，臨床検査所見は回復性を示した．

高プロラクチン血症に関連した変化は，雌の方が雄より顕著であった．ドパミン阻害によるプロラクチン放出のメカニズムに一致して，被験物質に起因した多くの変化が雌性生殖器に観察され（表 2.6.6.3－21），その内訳は，乳腺の軽微又は軽度の小葉過形成，卵巣の好酸性非変性性の黄体増加，子宮筋層の軽微から中等度の細胞小型化，子宮の脱落膜反応及び膣の粘液変性／萎縮の発現頻度増加であった．3 mg/kg/日以上で認められた乳腺の軽微又は軽度の小葉過形成の特徴は，腺房の過形成，上皮細胞の空胞化並びに腺房及び管腔における分泌物の増加であり，乳汁分泌反応に一致していた．卵巣における好酸性非変性性（非退行性）の黄体増加は 10 mg/kg/日以上の雌で観察され，この形態学的変化は多くの場合，発情間期に一致していたが，発現頻度増加は発情間期延長を示唆するものであった．10 mg/kg/日以上の雌で認められた子宮筋層の細胞小型化は卵巣のステロイド産生低下に続いて起こる萎縮に一致していた．3 mg/kg/日以上の雌で認められた膣の粘液変性／萎縮の発現頻度増加は，発情間期延長に一致する生理的反応であった．休薬期間終了時におけるこれらの所見の発現頻度は対照群と同程度であり，回復性が示された．

表 2.6.6.3－21　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における雌性生殖組織の病理組織学的所見

性別：	雌							
計画解剖：	投与期間終了時				休薬期間終了時			
投与量（mg/kg/日）：	0	3	10	15	0	3	10	15
動物数：	10	10	10	10	5	5	5[a]	5[ab]
乳腺 [a]								
小葉過形成								
軽微から軽度	2	6	10	9	2	3	0	1
卵巣								
好酸性非変性性の黄体増加	3	2	7	10	1	1	2	2
膣 [b]								
上皮粘液変性／萎縮	0	4	9	8	1	1	0	1
子宮								
子宮筋層細胞小型化								
軽微から軽度	0	0	5	2	0	0	0	0
中等度	0	0	2	5	0	0	0	0
脱落膜反応	0	0	0	1	0	0	0	0

注：重症度（軽微から中等度など）の記載なしで示した病理組織学的所見の発現頻度は，その所見がみられた動物の数を示す.

a)　4 例のみが乳腺を検査された.

b)　4 例のみが膣を検査された.

10 mg/kg/日以上で，投与期間終了時の雄において高プロラクチン血症による二次的変化と考えられる軽微な小葉過形成も観察され（表 2.6.6.3－22），休薬期間終了時に 15 mg/kg/日の雄 1 例で引き続き認められたことから，回復性は部分的であることが示された.

表 2.6.6.3－22　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における雄の乳腺の病理組織学的所見

性別：	雄							
計画解剖：	投与期間終了時				休薬期間終了時			
投与量（mg/kg/日）：	0	3	10	15	0	3	10	15
動物数：[a]	7	10	9	9	2	4	2	2
乳腺								
小葉過形成（軽微）	0	0	8	6	0	0	0	1

a)　回復性試験例として提示した雄の乳腺の数が少ないのは，雄ラットの皮膚における乳腺の局在的かつランダムな分布並びにそれに伴う検体採取の困難さを反映している可能性がある.

副腎皮質の血管拡張が，3 mg/kg/日以上の雌で観察された．血管拡張は高齢の雌ラットで一般にみられる自然発生所見であるが，対照群で類似した所見が認められなかったこと並びにおおむね用量の増加に伴って発現頻度及び重症度が増加したことから，これは被験物質に起因した一般的な背景所見の増悪であることが示唆された．また，休薬期間終了時にはこの所見が背

景レベルまで減少したことから，回復性が示唆された（表 2.6.6.3－23）．副腎皮質内の血流はホルモンの影響を受けることが報告されており（Greaves, 2012），被験物質投与による内分泌状態の変化が副腎皮質内の血管変化に寄与した可能性がある．

表 2.6.6.3－23　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における副腎の病理組織学的所見

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	3	10	15	0	3	10	15
投与期間終了時：副腎皮質血管拡張								
動物数：	10	10	9	9	10	10	10	10
軽微から軽度	0	0	0	0	0	3	3	5
中等度	0	0	0	0	0	1	0	1
休薬期間終了時：副腎皮質血管拡張								
動物数：	5	5	4	4	5	5	5	5
軽微から軽度	0	1	0	0	1	1	2	1

大腿骨及び／又は胸骨骨髄内の脂肪細胞減少が，3 mg/kg/日以上で投与期間終了時及び休薬期間終了時に観察された（表 2.6.6.3－24）．この所見は本試験で認められた体重減少に関連している可能性が考えられた．雄では，この所見は投与期間終了時及び休薬期間終了時のいずれにおいても散発的であり，用量依存性を示さなかった．雌におけるこの所見の発現頻度及び重症度は雄と比較して増加し，休薬期間終了時にも明らかであったが，発現頻度及び／又は重症度の低下が認められたことから，部分的な回復性が示された．

表 2.6.6.3－24　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験における骨髄の病理組織学的所見

性別：		雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：		0	3	10	15	0	3	10	15
投与期間終了時：骨髄脂肪細胞減少									
動物数：		10	10	9	9	10	10	10	10
大腿骨	軽微から軽度	0	1	0	1	0	4	1	2
	中等度から顕著	0	0	0	0	0	3	9	8
胸骨	軽微から軽度	0	0	0	1	0	4	1	2
	中等度から顕著	0	0	0	0	0	3	9	8
休薬期間終了時：骨髄脂肪細胞減少									
動物数：		5	5	4	4	5	5	5	5
大腿骨	軽微から軽度	0	1	1	0	0	1	4	2
	中等度から顕著	0	0	1	0	0	0	0	1
胸骨	軽微から軽度	0	1	0	0	0	1	1	0
	中等度から顕著	0	0	2	0	0	0	0	1

その他の病理組織学的所見が眼及び肺に認められたが，被験物質投与に起因するものではな

いと考えられた（2.6.7.7.4）．網膜変性が 3 mg/kg/日以上で認められ，光網膜症であると推察された．その理由として，NBI-98854 は BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験で陰性であり（2.6.6.8.3.1），光毒性のポテンシャルは有さないこと，NBI-98854 及びその代謝物は Sprague Dawley ラットにおいて眼に高濃度蓄積することはないこと（2.6.5.5.1），及び NBI-98854 の投与により投与前（明期）の活動が亢進し，ラットが透明ポリカーボネート製のケージの前面に位置することが多くなり，NBI-98854 投与群の方が対照群より投与期間を通じて飼育室光源に長時間曝露されたと推察されることが挙げられる．本試験で認められた病理組織学的変化は光受容体細胞と外顆粒層が両側性かつ対称的に変性しており，組織学的特徴も光網膜症と一致している．今回用いられた Sprague Dawley ラットのようなアルビノラットは光網膜症に対する感受性が高いことが知られている（Noell, WK. et al., 1966）．また，明期の活動亢進やケージの前面等に位置することが光網膜症リスクを増加させることが報告されている（De Vera Mudry et al., 2013）．ケージラック内での動物配置が特定できるデータは記録されていないが，試験施設の標準操作手順書に従って作業が実施されたと仮定すると，配置を推定することが可能と考えられた．特筆すべきは，光誘発性網膜症が認められた動物はいずれも穴あき天板を有するケージラックの最上部に配置されていたと推察されることである．本試験の実施施設では，通常はケージラック内でのケージのローテーションは行っていないことから，網膜変性が認められた個体はすべて投与期間を通じてケージラックの最上段に位置しており，飼育室光源への曝露量は高かったと推察された．したがって，本試験で認められた網膜変性は NBI-98854 に起因する変化と考えられたが，この所見は明期における活動亢進及びケージ配置による光曝露量の増加により，好発系統アルビノラットでの結果の可能性があることから，NOAEL の規定要因から除外した．

肺における肺胞マクロファージ浸潤の発現頻度増加が，10 mg/kg/日以上の雄及び 15 mg/kg/日の雌で認められたが，この所見は，被験物質の偶発的な誤嚥に起因すると考えられた．この所見の重症度は軽微であり，休薬期間終了時には背景レベルに戻っていた．

中枢神経系への関連の可能性がある一般状態の変化として，痙攣が 10 又は 15 mg/kg/日のそれぞれ雄 1 例以上及び 15 mg/kg/日の雌 1 例に認められたが，関連する脳の形態学的変化は認められなかった．ドパミンが豊富な領域を含む複数の脳切片を詳細に評価したところ，すべての投与期間終了時及び休薬期間終了時の脳において，被験物質に起因した脳の肉眼病変及び組織学的病変は認められなかった．

結論：NBI-98854 を雌雄のラットに 1 日 1 回，6 ヶ月間反復経口投与したところ，痙攣などによる被験物質に関連した瀕死又は死亡が 10 mg/kg/日の雄 1 例及び 15 mg/kg/日の雄 2 例に認められた．一般状態の変化として，ミオクローヌス発作及び間代性痙攣が 10 mg/kg/日以上で認められ，3 mg/kg/日以上で投与後の活動性減少及び部分閉眼に続く投与前の活動性増加，体重減少並びに関連する摂餌量減少が雄で認められたが，雌では摂餌量増加が認められた．NBI-98854 投与に起因する病理組織学的所見は，いずれも被験物質のドパミン遊離抑制作用により誘発されたプロラクチン増加による二次的変化又は体重増加抑制による二次的変化と考えられた．プロラクチン増加による影響は雄より雌でより多く認められ，その結果，病理組織学的

所見として，乳腺の小葉過形成及び膣の粘液変性／萎縮が 3 mg/kg/日以上で，卵巣の好酸性非変性性の黄体増加及び子宮筋層の細胞小型化が 10 mg/kg/日以上で，肉眼所見で認められた少数の子宮嚢胞に関連した子宮の脱落膜反応が 15 mg/kg/日の雌 1 例で，それぞれ観察された．10 mg/kg/日以上で, 雄の乳腺に小葉過形成が認められた. また, 副腎皮質の血管拡張が 3 mg/kg/日以上の雌に認められた．これらの所見はいずれも完全又は部分的な回復性を示した．体重増加抑制に関連する所見として，大腿骨及び／又は胸骨骨髄の脂肪細胞減少が，3 mg/kg/日以上で観察された．この骨髄所見は雌では部分的な回復を示したが，雄では 6 週間の休薬期間では回復性は認められなかった．

10 mg/kg/日で痙攣が認められたことから, NBI-98854 を雌雄のラットに 6 ヶ月間反復経口投与したときの NOAEL は 3 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.3.2.3　イヌを用いた試験

2.6.6.3.2.3.1　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-10，概要表：2.6.7.7.5，報告書番号：[redacted]-3332］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 及び NBI-98782 を雌雄のイヌに 1 日 1 回，14 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 1 週間以上の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－25）.

表 2.6.6.3－25　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-3332</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ビーグル犬</td><td>投与量：0（空のカプセル）；NBI-98854：5，15 及び 35/30[a] mg/kg/日 ；NBI-98782：7.5 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：5～6 ヶ月齢</td><td>投与形態：カプセル</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 4 匹
回復性試験：雌雄各 2 匹（媒体対照群，NBI-98854 15 及び 35/30 mg/kg/日群並びに NBI-98782 15 mg/kg/日）</td><td>投与経路：経口（カプセル）</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：14 日間</td><td>休薬期間：11～12 日間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物として生成）及び NBI-98782（直接投与後）[b]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 14 日目</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.25，0.5，1，2，4，8，12 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与前並びに投与の 1，3 及び 6 時間後
• 身体検査：試験前 2 回及び試験中週 1 回
- 体重：試験前 2 回，投与期間中週 2 回及び解剖時（絶食後）
- 摂餌量：-1 週目以降，毎日
- 呼吸の評価：薬理試験概要文（2.6.2.4.2.3.1）参照
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：14 日目（投与期間終了時）及び休薬期間終了時
- 眼科学的検査：試験前，12 又は 13 日目及び休薬期間終了時
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査[c]：計画解剖時（投与期間終了時及び休薬期間終了時）</td></tr>
</table>

a) 投与 10 又は 11 日目に 35mg/kg/日から 30mg/kg/日に投与量を変更した.
b) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.16）に要約した.
c) 標準的な脳組織の検査に加えて，本試験では対照群及び高用量群（NBI-98854 35/30 mg/kg/日及び NBI-98782 15 mg/kg/日）について，ドパミンが豊富な領域（黒質及び線条体）の検査を可能にするため広範な切片を作製し，H&E 染色及び壊死性神経細胞を特定するための特殊染色（Fluoro-Jade B 染色）を実施した.

結果：投与最終日（14 日目）における NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物として生成及び直接

投与後）の曝露量を表 2.6.6.3－26 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.16）に詳述した．

表 2.6.6.3－26　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-98782（直接投与）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max}（ng/mL）	5[a]	1,730	1,680	79.8	72.4	NA	NA
	15[a]	**6,470**	**9,410**	**298**	**290**	NA	NA
	35/30[a]	13,900	15,000	404	357	NA	NA
	7.5[b]	NA	NA	NA	NA	989	1,040
	15[b]	NA	NA	NA	NA	**2,300**	**2,570**
最終日の AUC_{0-24}（ng·h/mL）	5[a]	7,760	6,770	603	547	NA	NA
	15[a]	**31,900**	**36,400**	**2,720**	**2,320**	NA	NA
	35/30[a]	78,100	83,300	4,170	3,520	NA	NA
	7.5[b]	NA	NA	NA	NA	2,760	2,040
	15[b]	NA	NA	NA	NA	**7,070**	**7,040**

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；NA = 該当せず
NOAEL における曝露量を**太字**で示す．
a) NBI-98854 を投与
b) NBI-98782 を投与

NBI-98854 35 mg/kg/日を投与した雄 1 例について，投与 10 日目に間代性／強直性痙攣が認められ，それに伴ってスラッシング（thrashing），歯肉灰色化，弱脈及び嘔吐が観察されたため，安楽致死させた．胸腺の変化（後述）を除き，この動物には肉眼所見及び病理組織学的所見は認められなかった．NBI-98854 の 35 mg/kg/日で痙攣が認められたことから，10/11 日目に用量を 30 mg/kg/日に減量した．

NBI-98854 の 35 mg/kg/日の投与により，雌 2 例で 3 及び 6 日目に痙攣発作様活動が観察された．更に，痙攣性／非協調運動，過度の流涎，横臥，震え，弱脈，歯肉蒼白／灰色化，起立困難及び／又は首振りも認められたが，所見の多くは 30～40 分以内に回復した．NBI-98854 のすべての用量に共通する一般状態の変化として，活動性減少，嗜眠及び横臥が認められたが，これらは被験物質の薬理作用に一致していた．NBI-98854 の 15 mg/kg/日以上では運動失調，震え，頭部不安定及び過度の流涎が観察され，発現率及び頻度は用量依存的であった．その他の変化として，15 又は 35/30 mg/kg/日の少数例に硬直，眼瞼下垂，攻撃性，異常発声及び旋回が投与期間を通じて散見された．検討した最高用量（35/30 mg/kg/日）で嘔吐が認められた．NBI-98782 投与群で認められた変化は，運動失調，震え，活動性減少，嗜眠及び横臥であり，NBI-98854 投与群と同様であった．薬理作用に基づく一般状態の変化は，大部分の動物で翌朝には回復が認められた．

投与期間終了時に，対照群と比較した軽度の体重減少が，NBI-98854 35/30 mg/kg/日の雌（13%）及び NBI-98782 15 mg/kg/日の雌（11%）で認められたが，休薬期間終了時には体重減少は認められなかった．投与期間及び休薬期間の摂餌量には，被験物質投与に起因すると考えられる一

貫した傾向は認められなかった．投与期間及び休薬期間において，眼科学的検査で被験物質に起因した毒性変化は認められなかった．

NBI-98854 及び／又は NBI-98782 投与群において，血液学的，血液凝固及び血液生化学的検査に統計学的に有意な変化が少数認められたが，これらの変化は試験施設における背景値の範囲内又は投与前値と同等であったことから，毒性学的意義はないと考えられた．尿検査パラメータには被験物質に起因した変化は認められなかった．これらの変化を毒性試験概要表（2.6.7.7.5）に詳述した．

NBI-98854 及び NBI-98782 投与群において，投与期間終了時に胸腺重量の低値（絶対及び相対）が認められたが，これらの変化には用量依存性が認められなかった．また，病理組織学的検査では，NBI-98854 及び NBI-98782 投与群において，軽微から中等度の胸腺細胞密度の減少が認められた．軽微な胸腺細胞密度減少は 35 mg/kg/日群の瀕死期剖検例でも認められた．NBI-98854 15 mg/kg/日では胸腺細胞密度の完全な回復性が認められた．一方，NBI-98854 35/30 mg/kg/日及び NBI-98782 15 mg/kg/日では，頻度及び程度において部分的な回復性が認められた．この所見の特徴は，皮質リンパ球の減少を伴った胸腺小型化であった．これら胸腺における一連の変化は，NBI-98854 及び NBI-98782 の薬理作用に基づく一般状態の変化（活動性減少，嗜眠，及び横臥など）に伴うストレス性の二次的変化の可能性が考えられた．

対照群及び高用量群（NBI-98854 35/30 mg/kg/日及び NBI-98782 15 mg/kg/日）の全例から採取した脳切片の H&E 染色及び特殊染色（Fluoro-Jade B 染色）を用いた詳細な評価において，脳における被験物質に起因する肉眼病変及び組織学的病変は認められなかった．特に，黒質の緻密部領域（ドパミン作動性ニューロンを有する領域），線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域には，病理組織学的変化は認められなかった．

結論：NBI-98854 を 5，15 及び 35/30 mg/kg/日，NBI-98782 を 7.5 及び 15 mg/kg/日で，それぞれ雌雄のイヌに 1 日 1 回，14 日間反復経口投与したところ，一般状態の変化として活動性減少，嗜眠及び横臥がすべての用量で観察されたが，これらは被験物質の薬理作用に一致するものであった．痙攣が認められたため，NBI-98854 35 mg/kg/日の雄 1 例を安楽致死させた．NBI-98782 投与動物では痙攣は認められなかった．胸腺の重量減少及び細胞密度減少は，NBI-98854 及び NBI-98782 のすべての用量で認められた一般状態の変化に関連したストレス性の二次的変化の可能性が考えられた．

雌雄のイヌに 14 日間反復経口投与したときの NOAEL は，NBI-98854 については検討した最高用量で痙攣及び死亡が認められたことから 15 mg/kg/日に決定され，NBI-98782 については，検討したすべての用量で毒性変化が認められなかったことから 15 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.3.2.3.2　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-11，概要表：2.6.7.7.6，報告書番号：20008482］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のイヌに 1 日 1 回，91 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 28 日間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－27）．

表 2.6.6.3－27　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：20008482</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ビーグル犬</td><td>用量：0（空のカプセル），2，5，12.5，20 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 6 ヶ月齢</td><td>投与形態：カプセル</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 4 匹
回復性試験：雌雄各 2 匹（0，5，12.5 及び 20 mg/kg/日）</td><td>投与経路：経口（カプセル）</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：91 日間</td><td>休薬期間：28 日間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 91 日目</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与日は 1 日 1 回（投与 1～4 時間後），非投与日は 1 日 1 回
• 詳細な一般状態観察：ランダム化時及び試験前期間の最終週以降，週 1 回（投与前）
- 体重：ランダム化時，-1 日目以降，投与期間中に週 1 回及び計画解剖時（投与期間終了時及び休薬終了時）
- 摂餌量（定量的）：試験期間中 1 日 1 回（報告は週 1 回の間隔）
- 眼科学的検査：試験前及び投与最終週（雌は 89 日目，雄は 90 日目）
- 心電図検査：試験前，投与最終週（雌は 85 日目，雄は 86 日目）及び休薬期間最終週（雌は 118 日目，雄は 119 日目）
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：-1 週目，投与期間終了時（92 日目）及び休薬期間終了時（120 日目）
- 血清プロラクチン評価（1 及び 91 日目）
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査[b]：投与期間終了時（92 日目）及び休薬期間終了時（120 日目）</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.17）に要約した．

b)　標準的な脳組織の検査（全群）に加えて，星状膠細胞反応を評価するための GFAP の広範な染色，神経細胞壊死を評価するための Fluoro-Jade B 染色並びにドパミン作動性ニューロンマーカーのチロシンヒドロキシラーゼ染色を，主試験群及び回復群の全解剖例（0，12.5 及び 20 mg/kg/日）から採取した黒質及び線条体の組織切片について詳細に実施した．

結果：投与最終日（91 日目）における NBI-98854 及び代謝物 NBI-98782 の曝露量を表 2.6.6.3－28 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.17）に詳述した．

表 2.6.6.3－28　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max} (ng/mL)	2	1,037	1,162	28.3	29.8
	5	2,656	2,924	119	108
	12.5	7,110	4,762	348	227
	20	**8,189**	**7,407**	**504**	**401**
最終日の AUC_{0-24} (ng·h/mL)	2	4,090	4,010	284	266
	5	11,857	11,759	1,252	1,024
	12.5	33,885	24,285	3,808	2,474
	20	**47,649**	**49,394**	**6,457**	**5,485**

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す

全ての投与群において，死亡は認められなかった．投与期間中，被験物質に起因した一般状態の変化が 5 mg/kg/日以上で観察され，その内訳は，活動性減少，振戦及び運動失調（不安定歩行）であり，これらの変化は被験物質の薬理作用に一致するものであった．休薬期間中は毒性学的意義のある一般状態の変化は認められなかった．

対照群と比較した体重減少が投与期間中に 12.5 mg/kg/日以上で認められ，投与期間終了時までに 5%～15%の体重減少が認められた．摂餌量減少（対照群と比較して雌で 70%以下）が 12.5 mg/kg/日以上で試験の最初の 2 週間に認められ，これが体重増加抑制に寄与した可能性が高い．この期間中は投与直後から投与 4 時間後まで給餌した．しかし，給餌期間中に認められた活動性減少に起因する摂餌量の減少により，体重増加抑制が生じた可能性がある．15 日目以降は，一般状態の変化である活動性減少から回復した後にイヌが飼料を摂取できるように，飼料をケージ内に残した．この変更により，試験の残りの期間においては，体重増加抑制及び摂餌量減少が明確ではなくなった．同様の傾向は 2 及び 5 mg/kg/日でも認められたが，対照群と比較した体重差の程度はおおむね 5%未満であったことから，毒性学的意義のないものと考えられた．これらの変化は被験物質の薬理作用（活動性減少）による二次的変化と考えられた．休薬期間終了時の体重は，対照群と比較して，12.5 mg/kg/日の雄では 12%，5 mg/kg/日以上の雌では 16%～18%の減少が認められた．試験最終週の眼科学的検査では，被験物質に起因した変化は認められなかったことから，休薬期間中は眼科学的検査を実施しなかった．

心電図検査では，試験を通じて全例とも洞調律を維持していた．85 日目に 20 mg/kg/日の雌で，対照群と比較して QT 間隔（30 msec，16%）及び QTc（25 msec，11%）が統計学的に有意に延長した（表 2.6.6.3－29）．この変化は試験前の 20 mg/kg/日の雌では対照群に比べて QT 間隔及び QTc が長かったこと，雄の 20 mg/kg/日で QT 間隔及び QTc 延長が認められなかったことから毒性学的意義はないと判断した．

表 2.6.6.3－29　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験における QT 間隔及び QTc

性別：	雄					雌				
投与量（mg/kg/日）：	0	2	5	12.5	20	0	2	5	12.5	20
動物数：	6	4	6	6	6	6	4	6	6	6
QT 間隔（msec）										
試験前	196	188	182	198	188	187	198	193	193	210
85/86 日目	188	194	204	212	205	185	181	204	198	215*
対照との差の%	NA	3	9	13	9	NA	-2	10	7	16
QTc										
試験前	224	214	208	218	215	221	224	214	217	232
85/86 日目	221	231	225	232	234	220	212	222	224	245*
対照との差の%	NA	5	2	5	6	NA	-4	1	2	11

%＝ 対照群との差の%（値は切り上げ）；*＝ 対照群との統計学的有意差，$p \leq 0.01$；NA＝ 該当せず

血液学的及び血液生化学的検査パラメータにおいて，対照群と比較して少数の統計学的に有意な変化が認められた（2.6.7.7.6）．血液凝固及び尿検査パラメータには被験物質に起因した変化は認められなかった．血液学的及び血液生化学的検査パラメータにおける変化は，変化の程度が小さかったこと，試験前値と同程度であったこと，用量依存性が認められなかったこと，及び／又は試験施設の背景値の範囲内であったことから，毒性学的意義はないものと考えられた．非 GLP 適用下で測定された血清プロラクチン濃度は，対照群は 5 ng/mL 未満であり，既報の値と同程度であった（Corrada et al., 2006; de Gier et al., 2006）．明確な性差は認められなかった．投与群における血清プロラクチン濃度は 1 及び 91 日目のいずれにおいても対照群と同程度であったことから，NBI-98854 を反復投与してもイヌの血清プロラクチン濃度は変化しないことが示された．

統計学的有意差及び明確な用量依存性は認められなかったが，対照群と比較した胸腺重量の減少傾向が，2 mg/kg/日以上の雄（体重比重量で 13%～61%）及び 12.5 mg/kg/日以上の雌（21%～31%）で認められた．また，投与期間終了時の肉眼所見として，12.5 及び 20 mg/kg/日の雄で胸腺小型化が認められた．病理組織学的検査において，軽微から軽度の胸腺リンパ球減少がこれらの雄及び全投与群の計 7 例の雌（対照群の雌 1 例を含む）で認められたが，これらの雌の胸腺は肉眼的に正常であった．これら胸腺における一連の変化は，被験物質の薬理作用に基づく一般状態の変化によるストレス性の二次的変化と考えられた．休薬期間終了時に，肉眼検査及び病理組織学的検査において，胸腺の異常は認められなかったことから，胸腺リンパ球減少は可逆的な変化であると考えられた．

その他の病理組織学的所見として，20 mg/kg/日の雄 1 例で，肝臓の軽微な多巣性単核細胞浸潤，軽微な多巣性顆粒球浸潤，軽微なクッパー細胞過形成及び軽度の慢性胆管周囲炎が観察された．単核細胞浸潤は他の動物で認められたものと同程度であり，自然発生病変と考えられた．顆粒球浸潤，クッパー細胞過形成及び胆管周囲炎は異常所見と考えられた．病理組織学的検査ではこれらの病変の原因は明らかにされず，本試験の他の動物では類似した所見は認められなかった．この動物の血液生化学的及び血液学的検査パラメータには 20 mg/kg/日の他の雄と比較して明確な違いは認められず，背景値の範囲内であった．この個体におけるこれらの所見の

意義は不明であった.

卵管，心臓及び子宮頸部の血管周囲炎が，それぞれ 20 mg/kg/日，12.5 mg/kg/日及び 2 mg/kg/日の雌で観察された．これらの変化は被験物質起因ではないと考えられた．その理由として，所見の発現頻度が低かったこと，用量依存性が認められなかったこと，及びイヌ 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験で認められなかったことが挙げられる（2.6.6.3.2.3.3）.

主試験及び回復性試験の全例から採取した脳切片の H&E 染色及び特殊染色を用いた詳細な評価により, 脳における被験物質投与に起因する肉眼病変及び組織学的病変は認められなかった. 特に 20 mg/kg/日において, 黒質の緻密部領域（ドパミン作動性ニューロンを有する領域), 線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域における形態学的変化は認められなかった.

結論：NBI-98854 を雌雄のイヌに 20 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回，91 日間反復経口投与したときの忍容性は良好で, 死亡は認められなかった. 被験物質に関連した一般状態の変化は, NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．12.5 mg/kg/日以上で，被験物質に関連した軽度の体重及び摂餌量減少が認められた．胸腺の重量減少及びリンパ球減少が観察されたが，薬理作用に基づく一般状態の変化に伴うストレス性の二次的変化と考えられた. 毒性所見が認められなかったことから，NBI-98854 を雌雄のイヌに 91 日間反復経口投与したときの NOAEL は，検討した最高用量の 20 mg/kg/日に決定された.

2.6.6.3.2.3.3　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.2-12，概要表：2.6.7.7.7，報告書番号：20028697］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のイヌに 1 日 1 回，9 ヶ月間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価するとともに，変化が認められた場合の 1 ヶ月間の休薬期間による回復性を評価することであった（表 2.6.6.3－30）．

表 2.6.6.3－30　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：20028697</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ビーグル犬</td><td>投与量：0（空のカプセル），3，10 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 6 ヶ月齢</td><td>投与形態：カプセル</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：
主試験：雌雄各 5 匹
回復性試験：雌雄各 2 匹（全群）</td><td>投与経路：経口（カプセル）</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：9 ヶ月間</td><td>休薬期間：1 ヶ月間</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 273 日目</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
　• 生死確認：1 日 2 回
　• ケージサイド観察：1 日 1 回（投与日は投与 1～4 時間後）
　• 詳細観察：-1 週目以降，週 1 回
- 体重：ランダム化時，週 1 回（-1 週目以降）及び計画解剖時（投与期間終了時及び休薬終了時）
- 摂餌量：定量的に週 2 回；他の日は定性的
- 眼科学的検査：試験前，19 週目及び投与最終週
- 心電図検査：投与開始前（-4/-3 日目），第 19 週（137 日目），及び投与最終週（270 日目）の投与後約 2 時間（±1 時間）
- 脳波：各群半数の動物について，それぞれ 246/247 日目及び 254/255 日目の．投与前，投与 2 時間後及び投与 4～5 時間後
- 筋電図検査：各群半数の動物について、それぞれ 254/255 日目の投与前，投与 2 時間後及び投与 4～5 時間後
- 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査）：-6 日目，127 日目，274 日目及び 302 日目
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査 [b] 及び神経病理学的検査 [c]：計画解剖時（投与期間終了時は 274/275 日目，休薬期間終了時は 302 日目）</td></tr>
</table>

a) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.18）に要約した．
b) 鼻腔は犬歯，第 2 臼歯前縁，及び第 4 臼歯前縁の各横断面について病理組織学的検査を実施した．
c) 全例の脳を評価した．14 個以上のブロックを用いて合計 15 枚以上の脳切片を作製した．この中には前頭前野皮質から脳幹までのすべての主要な脳領域が含まれており，黒質及び線条体の領域（尾状核被殻領域）が切片中に存在するようにした．すべての切片は約 5 µm の厚さに薄切し H&E 染色を実施した．

結果：投与最終日（273 日目）における NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の曝露量を表 2.6.6.3－31 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.18）に詳述した．

表 2.6.6.3－31　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max}（ng/mL）	3	1,780	1,670	42.9	39.4	135	136
	10	6,620	6,360	175	128	423	433
	15	**10,900**	**9,730**	**290**	**238**	**677**	**539**
最終日の $AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	3	10,200	7,450	445	369	1,890	1,450
	10	36,700	28,700	2,100	1,350	6,260	5,200
	15	**73,000**	**52,200**	**3,890**	**2,880**	**10,800**	**8,350**

C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}24}$ = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL における曝露量を**太字**で示す．

全ての投与群において死亡は認められなかった．被験物質に起因した一般状態の変化が 10 mg/kg/日以上の雌雄全例で認められ，活動性減少，間欠性振戦及び部分閉眼であり，これらは被験物質の薬理作用に一致するものであった（表 2.6.6.3－32）．活動性減少及び間欠性振戦は，3 mg/kg/日の動物においても散見された．休薬期間中は毒性学的意義のある一般状態の変化は認められなかった．投薬期間中に振戦が認められたことから，振戦が痙攣発作や痙攣リスク増大に繋がる異常脳波発現と関連性があるかを確認するため，投与期間終了時に近い時期（246/247 日目及び／又は 254/255 日目）の投与 2 時間後及び投与 4～5 時間後に，脳波検査（以下，EEG）及び筋電図検査（以下，EMG）を実施した．その結果，10 及び 15 mg/kg/日において筋振戦を示唆する所見が EMG で認められたが，EEG は正常範囲内であり，痙攣発作や痙攣リスク増大に繋がる異常脳波発現との関連性は示唆されなかった．

表 2.6.6.3－32　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験における一般状態の変化

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	**0**	**3**	**10**	**15**	**0**	**3**	**10**	**15**
動物数：	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**
活動性減少	0	5	7	7	0	4	7	7
間欠性振戦	0	2	7	7	0	1	7	7
部分閉眼	0	0	7	7	0	0	7	7

雄では体重及び体重増加量に変化は認められなかった．雌では 3 mg/kg/日以上で軽度であるが統計学的に有意かつ用量依存的な体重増加抑制が，最初の 2 週間に認められ，その後，対照群と比較した体重増加抑制が散見された．これらの変化は摂餌量の低値に起因した変化と考えられた．3 日目までは給餌時間を活動性減少が発現した投与後 2～4 時間までとしていたが，4 日目以降，投与の約 2～3 時間前に給餌時間を変更したところ，体重増加抑制は対照群と NBI-

98854 投与群で同程度となった．投与期間終了時に 3 mg/kg/日以上の雌で体重減少（6%以下）が認められたが，用量依存性は認められなかった．休薬期間を通じて引き続き対照群より低い値を示した．休薬期間終了時に 3 mg/kg/日以上の雌で体重減少（10%以下）が認められたが，用量依存性は認められなかった．

投与最終週の眼科学的検査では被験物質に起因した変化が認められなかったことから，休薬期間中の眼科学的検査は実施しなかった．

心電図検査では，試験期間を通じて全例とも洞調律が維持されていた．試験を通して心室期外脱分極は認められなかった．試験前及び 270 日目のいずれにおいても，心拍数，RR 間隔，QRS 持続時間，PR 間隔及び QT/QTc 間隔には，統計学的有意差は認められなかった．137 日目には，心拍数，RR 間隔，PR 間隔，QRS 持続時間，及び QT 間隔には統計学的に有意な変化は認められなかったが，15 mg/kg/日の雄で QTc が対照群雄と比較して統計学的に有意に延長した（平均 20 msec，9%）（表 2.6.6.3－33）．この変化は 137 日目の対照群雄の QTc が他の検査日と比較して短かったことに起因するものであり，変化の程度が小さかったこと，並びに 270 日目の雄及び両試験日の雌には変化が認められなかったことから，毒性学的意義のない変化と考えられた．投与期間中の検査で明らかな心電図異常が認められなかったことから，休薬期間中の心電図検査は解析しなかった．

表 2.6.6.3－33　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験における QTc

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	3	10	15	0	3	10	15
動物数：	7	7	7	7	7	7	7	7
QTc								
試験前	221	228	220	225	224	226	214	230
137 日目	214	220	224	234*	214	211	229	221
対照群との差の%	NA	3	5	9	NA	-1	7	3
270 日目	221	219	231	229	219	222	229	230
対照群との差の%	NA	-1	5	4	NA	1	5	5

% = 対照群との差の%；（値は切り上げ）* = 対照群との統計学的有意差，$p \leq 0.01$；NA = 該当せず

血液学的，血液凝固及び血液生化学的検査パラメータに毒性学的意義のある変化は認められなかった．尿検査パラメータにおいても被験物質に起因した変化は認められなかった．休薬期間後の臨床検査パラメータには，特筆すべき所見は認められなかった．15 mg/kg/日の雄で，統計学的に有意な前立腺重量（絶対重量及び体重比重量）の減少（対照群と比較して 43%以下）が認められた．前立腺の病理組織学的変化として，一部軽微な単核細胞浸潤を伴う軽微から中等度の腺房拡張が，対照群を含むすべての投与群で観察された．腺房の変化には用量依存性は認められず，単核細胞浸潤には個々の動物における前立腺重量の変化との相関は認められなかった（表 2.6.6.3－34）．したがって，前立腺重量減少には毒性学的意義はないと考えられた．病理組織学的変化は休薬期間終了時にも認められたが，被験物質投与に起因した器官重量の変化は認められなかった．

表 2.6.6.3－34　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験における前立腺重量の変化及び病理組織学的所見

計画解剖：	投与期間終了時				休薬期間終了時			
投与量（mg/kg/日）：	**0**	**3**	**10**	**15**	**0**	**3**	**10**	**15**
動物数：	**5**	**5**	**5**	**5**	**2**	**2**	**2**	**2**
前立腺重量								
絶対重量（%）	NA	-17	-24	-43*	NA	6	13	30
体重比重量（%）	NA	-11	-25	-38*	NA	-6	-8	19
前立腺の病理組織学的所見								
拡張　（軽微から軽度）	2	4	4	2	1	1	2	2
（中等度）	0	0	1	0	0	0	0	0
単核細胞浸潤　（軽微）	0	0	0	3#	0	0	1	1

% = 対照群との差の比率（小数点以下を四捨五入）；* = 対照群との統計学的有意差；$p \leq 0.05$；NA = 該当せず；# = 動物番号 D5611, D5613 及び D5614（前立腺重量は動物番号 D5608 及び D5621 の方が低値）

15 mg/kg/日の雌 1 例で，肉眼的に蒼白部位及び同部位における表面不整が両側の腎臓に認められた．これらの変化に関連する両側性の変性性／炎症性病理組織学的変化として，皮質及び髄質の多巣性の尿細管減少，間質線維化及び散在性の単核細胞浸潤巣が認められた．これらの変化は多発性梗塞又はその慢性期の病理像に一致する所見であり，この個体特異的な偶発所見の可能性があると考えられた．この雌における血中尿素窒素（以下，BUN）及びクレアチニンは，試験前（−6 日目），127 日目及び 274 日目において，対照群雌の平均値に比べて約 2 倍高値を示し，16～50 週齢の雌イヌの背景値に関する正常値上限と同程度（試験前）又はそれを上回った（127 及び 274 日目）．また，BUN 及びクレアチニンに NBI-98854 の反復投与による明らかな増加は認められず，試験前とほぼ同程度であったことから，この個体は，被験物質投与前から腎機能がわずかに悪化していた可能性があり，投与による腎機能の増悪はなかったことが示唆された．また，休薬期間終了時において，腎臓の片側性の肉眼所見が 10 mg/kg/日の雄 1 例で認められた．病変として腎被膜の表面不整が認められ，それに関連する病理組織学的所見として，皮質及び髄質の多巣性尿細管減少を含む片側性の変性性／炎症性変化，間質線維化並びに散在性の単核細胞浸潤巣が認められた．これらの変化は 15 mg/kg/日の雌 1 例の所見と同様に，この個体特異的な偶発所見の可能性があると考えられた．投与期間終了及び休薬期間終了時に認められたこれらの腎臓の所見は，15 mg/kg/日群の雌における病理組織学的所見及び臨床検査値，並びに 10 mg/kg/日の雄における所見が片側性であったことを総合的に勘案すると，被験物質に起因した変化ではないと考えられた．

全例について 14 以上の脳ブロックから 15 枚以上の H&E 染色切片を作製し，すべての主要な脳領域を含むよう評価したところ，投与期間終了時及び休薬期間終了時に病理組織学的変化は認められなかった．特に高用量群（15 mg/kg/日）において，黒質の緻密部領域（多数のドパミン作動性ニューロンを有する領域），線条体（ドパミン作動性経路を有する領域）及び脳のその他の領域における形態学的変化は誘発されなかった．

結論：NBI-98854 を雌雄のイヌに 15 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回，9 ヶ月間反復経口投与したときの忍容性は良好であった．本試験において死亡は認められなかった．3 mg/kg/日以上で認められた被験物質起因の一般状態の変化は，NBI-98854 の薬理作用に一致する変化であったこと，及び毒性所見が認められなかったことから，NBI-98854 を雌雄のイヌに 9 ヶ月間反復経口投与したときの NOAEL は，検討した最高用量の 15 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.4　遺伝毒性試験

NBI-98854 の変異原性及び染色体異常誘発能を，細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験並びにラットを用いた小核試験で評価した（表 2.6.6.4－1）．

表 2.6.6.4－1　NBI-98854 の遺伝毒性試験

試験の種類	細胞の種類／動物種	報告書番号	GLP 適用	結果
復帰突然変異スクリーニング試験	ネズミチフス菌	Ames-Prodrugs-98854-07-01	非適用	陰性 [a]
復帰突然変異試験	ネズミチフス菌及び大腸菌	6944-354	適用	陰性
染色体異常スクリーニング試験	ヒト末梢血リンパ球	6944-352	非適用	陰性 [b]
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	6944-355	適用	陰性
小核試験	ラット	AD20XW.125[redacted]	適用	陰性

a)　この試験の結果は 2.6.6 では論じていないが，毒性試験概要表（2.6.7.8.1）に記載した（資料番号：4.2.3.3.1-1）．
b)　この試験の結果は 2.6.6 では論じていないが，毒性試験概要表（2.6.7.8.3）に記載した（資料番号：4.2.3.3.1-3）．

2.6.6.4.1　細菌を用いた復帰突然変異試験

［資料番号：4.2.3.3.1-2，概要表：2.6.7.8.2，報告書番号：6944-354］

目的：本試験の目的は，数種類のネズミチフス菌菌株（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）のヒスチジン遺伝子座及び大腸菌菌株 WP2*uvr*A のトリプトファン遺伝子座における NBI-98854 の復帰突然変異誘発能を，代謝活性化系の存在下又は非存在下で測定することにより，変異原性を評価することであった．

試験方法：NBI-98854 の細菌を用いた復帰突然変異試験を，プレート法を用いて，Aroclor 誘導ラット肝 S9 の存在下又は非存在下で実施した．用量設定試験及び初回変異原性試験の結果に基づき，NBI-98854 の確認変異原性試験を，0｛ジメチルスルホキシド（以下，DMSO）｝，11.6，41.6，100，403，1,000，2,000 及び 5,000 µg/プレートの濃度で実施した．すべての菌株について，活性化条件に基づく適切な陽性対照を同時に検査した．すべてのプレートについて背景細菌叢状態（すなわち細胞毒性及び析出物）を評価し，復帰変異コロニー数を溶媒対照と比

較した.

結果：S9 の存在下又は非存在下でのプレート当たりの平均復帰変異コロニー数の増加は，初回及び確認変異原性試験ともに，いずれの試験菌株においても認められなかった．初回及び確認変異原性試験のいずれにおいても，細胞毒性の徴候（すなわち，背景細菌叢の減少及び／又は復帰変異コロニー頻度の減少）が，S9 の存在下及び非存在下で認められた．すべての陽性対照の成績は試験の予想範囲内であり，試験の信頼性に関するすべての基準が満たされた.

結論：本試験の条件下において，NBI-98854 は細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性について陰性であった.

2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［資料番号：4.2.3.3.1-4，概要表：2.6.7.8.4，報告書番号：6944-355］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 の染色体異常誘発能を，培養ヒト末梢血リンパ球における染色体構造異常誘発能を測定することにより評価することであった.

試験方法：NBI-98854 の染色体構造異常誘発能を，培養ヒト末梢血リンパ球を用いて，Aroclor 誘導ラット肝 S9 の存在下又は非存在下で，2 つの異なる試験，すなわち初回及び確認染色体異常試験において評価した．溶解度／均一性が限定的であったため，染色体異常試験において目標濃度の 10 mmol/L 又は 5 mg/mL を達成できなかった．初回試験（3 時間処理，± S9）は 0（DMSO），42.6，57.8，78.4，108，154，207，280，402，558，672，960，1,370，1,960，2,800 及び 3,580 µg/mL の濃度で実施した．初回試験の結果に基づき，確認染色体異常試験は，S9 非存在下の約 22 時間処理では 0（DMSO），7.0，13.0，24.2，46.8，59.8，75.0，134，150，200，300 及び 400 µg/mL，S9 存在下の 3 時間処理では 0（DMSO），75，150，200，250，300，350，400，475，550 及び 650 µg/mL の濃度で実施した．処理開始の約 22 時間後に培養液を回収した.

結果：初回試験及び確認試験のいずれにおいても，解析した培養液中に，染色体異常，倍数性及び核内倍加を有する細胞の有意な増加は認められなかった．溶媒対照及び陽性対照の成績は予想どおりであり，本試験の信頼性が確認された．また，解析用に選択した高用量において 50%以上の分裂指数減少が認められ，経済協力開発機構（以下，OECD）試験ガイドラインによる高用量の推奨事項を満たしていた.

結論：本試験の条件下で，NBI-98854 は，代謝活性化の存在下及び非存在下において染色体構造異常誘発能陰性であった.

2.6.6.4.3　ラットを用いた小核試験

［資料番号：4.2.3.3.2-1，概要表：2.6.7.9.1，報告書番号：AD20XW.125[redacted]］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 の染色体構造異常／数的異常誘発能を，雄のラットの骨髄を用いて，小核を有する多染性赤血球（以下，MPCEs）の発現頻度増加作用を測定することにより評価することであった.

試験方法：先に実施したラットを用いた単回／7 日間経口投与毒性試験において，80 mg/kg

以上の単回及び 60 mg/kg の 6 回投与で，致死性が認められた（2.6.6.2.1.2／2.6.6.3.1.2.2）．このため，NBI-98854 の 0（媒体），15，30 及び 60 mg/kg での単回経口投与により試験を実施した（表 2.6.6.4－2）．安楽致死時に大腿骨骨髄を採取し，骨髄塗抹標本を作製して小核分析を実施した．

表 2.6.6.4－2　ラットを用いた小核試験の群構成

群	投与	投与量（mg/kg）	雄ラットの数 [a]	
			投与 24 時間後	投与 48 時間後
1	媒体対照 [b]	0	5	5
2	NBI-98854	15	5	0
3	NBI-98854	30	5	0
4	NBI-98854	60	5	5
5	陽性対照 [c]	40	5	0

a)　投与及び骨髄採取に使用した雄ラットの数
b)　媒体対照 ＝0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
c)　陽性対照 ＝ シクロホスファミド

結果：試験中，死亡は発現しなかった．単回投与後に観察された一般状態の変化は，15 mg/kg 以上で認められた立毛，30 mg/kg 以上で認められた嗜眠及び 60 mg/kg で認められた眼の痂疲のみであった．

NBI-98854 群での総赤血球に対する多染性赤血球の比率の減少は，対照群と比較して最大で 13%であったことから，NBI-98854 は顕著に赤血球造血を抑制しないことが示された．NBI-98854 は，投与 24 及び 48 時間後における MPCEs の発現頻度を，対照群と比較して統計学的に有意に増加させなかった．媒体対照群における MPCEs の数は背景媒体対照範囲を超えず，陽性対照（シクロホスファミド）は統計学的に有意な MPCEs の発現頻度増加を誘発したことから，試験の信頼性に関するすべての基準が満たされた．

結論：本試験の条件下において，NBI-98854 を雄のラットに 60 mg/kg までの用量で単回経口投与したところ，MPCEs の発現頻度の有意な増加を誘発しなかった．

2.6.6.5　がん原性試験

ラット及びマウスを用いて，がん原性用量設定試験及びがん原性試験を実施した．

2.6.6.5.1　長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験

［資料番号：4.2.3.4.1-1，概要表：2.6.7.10.4，報告書番号：8299648］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに 104 週間反復経口投与したときのがん原性を評価するとともに TK を評価することであった（表 2.6.6.5－1）．

表 2.6.6.5－1　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験の試験計画

報告書番号：8299648		**GLP 適用**：適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット		**投与量**：0，0.5，1 及び 2 mg/kg/日
投与開始時齢：47～55 日齢		**媒体**：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 60 匹		**投与経路**：強制経口
投与期間：91～92 週間		**休薬期間**：該当せず
TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）		
マトリックス： 血漿	**評価日**： 1 日目及び 26 週目	**時点（投与後時間）**：[a] 0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 毎日の観察：1 日 2 回（午前及び午後） • 詳細観察：試験前 1 回，1 日目の投与前及び投与期間中に週 1 回 - 体重：試験前 1 回，1～14 週目は週 1 回，その後の投与期間中は 4 週に 1 回 - 摂餌量：1～14 週目は週 1 回，その後は 4 週に 1 回 - 剖検及び病理組織学的検査：最終解剖時（633，636 又は 641 日目）		

a)　媒体対照群の動物については，1 時点（投与 1 時間後）に血液検体を採取した．投与前の検体は 26 週目のみに採取した．

結果：26 週目における NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の曝露量を表 2.6.6.5－2 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.14）に詳述した．

表 2.6.6.5－2　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験における TK パラメータ（26 週目）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
26 週目の C_{max}（ng/mL）	0.5	7.22	20.9	14.0	18.2	6.66	9.00
	1	26.4	65.4	30.3	38.5	14.2	20.3
	2	**62.6**	**181**	**66.8**	**76.8**	**30.2**	**39.2**
26 週目の $AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	0.5	22.4	119	132	177	81.7	106
	1	112	321	295	450	154	235
	2	**369**	**825**	**641**	**794**	**344**	**436**

C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}24}$ = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量における曝露量を**太字**で示す．

事前に決定された生存率のエンドポイントに従い，雄及び雌の全例を，それぞれ 91 週目及び 91～92 週目に剖検した．本試験における NBI-98854 曝露期間が 90 週間を上回ったことに基づき，すべての群でがん原性評価が成立していると考えられた．

対照群と比較した生存率増加が 2 mg/kg/日で認められ，雄では統計学的有意差が認められた．これはこの群で認められた体重増加抑制（関連する毒性のエビデンスなし）による二次的変化の可能性がある（図 2.6.6.5－1）．0.5 及び 1 mg/kg/日の生存率には，NBI-98854 の影響は認められなかった．

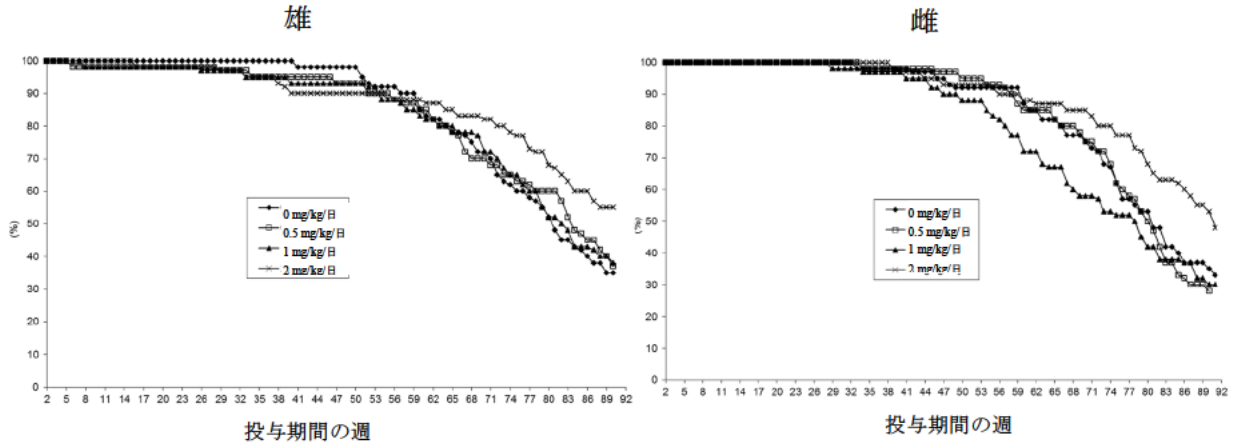


図 2.6.6.5－1　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験における補正した生存率データ

生存期間中における触知された腫瘤の所見には，NBI-98854 の明らかな影響は認められなかった．NBI-98854 投与に起因する一般状態の変化は 2 mg/kg/日で最も高頻度に観察された．これらの多くは薬理作用による二次的変化と考えられた．高頻度に認められた一般状態の変化は，刺激に対する反応性の増加（2 mg/kg/日，特に雌），活動過多（2 mg/kg/日，雌），接触過敏（2 mg/kg/日，雄）及び挙尾（主に 2 mg/kg/日群の雌にみられたが，1 mg/kg/日以上の雄にも認められた）であった．

NBI-98854 を 2 mg/kg/日で投与した結果，雌雄のいずれにおいても，対照群と比較して軽度の体重増加抑制が認められ（図 2.6.6.5－2），それに関連して雄では軽度の摂餌量減少が認められた．より軽度の体重増加抑制が 1 mg/kg/日でも認められ，それに関連して雄では摂餌量減少が散見された．0.5 mg/kg/日では体重及び摂餌量に NBI-98854 投与に起因する変化は認められなかった．

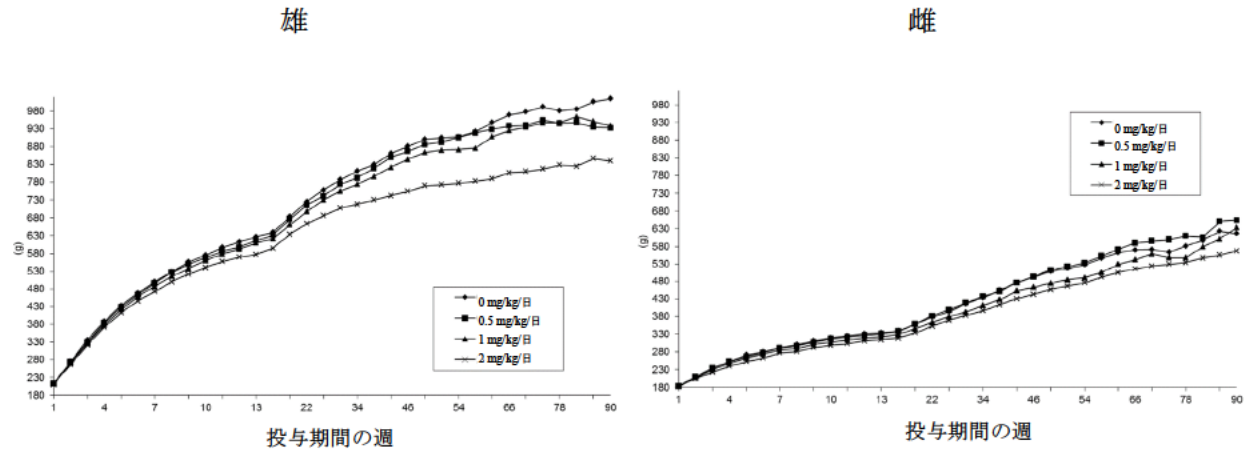


図 2.6.6.5－2　ラットを用いた 104 週間反復投与がん原性試験における体重変化

NBI-98854 2 mg/kg/日の雌において，乳腺腫瘍（線維腺腫，腺腫及び癌）の総発現頻度が増加した（表 2.6.6.5－3）．この乳腺腫瘍の発現頻度増加に関連して，肉眼的な皮膚腫瘤の発現頻度増加が 2 mg/kg/日の雌で認められた．乳腺腫瘍合計の発現頻度には統計学的有意差は認められず，個々の乳腺腫瘍で統計学的有意差が認められたのは，腺腫に関する Log-Rank 検定（有意水準 0.05 での評価）のみであった．しかし，全体の偽陽性率の制御に関する FDA 基準（FDA Draft Guidance for Industry, 2001）を適用すると，これは有意でないと解釈された．また，腫瘍発現時期｛死亡までの時間又は腫瘍検出までの時間（週）を腫瘍発現時間の代用として使用｝にも有意差は認められなかった．2 mg/kg/日で認められた他のいずれの腫瘍においても，統計学的有意差は認められなかった．一部の腫瘍の発現頻度には 0.5 及び 1 mg/kg/日で統計学的有意差がみられたが，腫瘍の発現に関して用量依存性が認められなかったことから，これらの腫瘍はいずれも NBI-98854 に起因した変化ではないと考えられた．

表 2.6.6.5－3　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験における乳腺腫瘍の発現頻度

性別：		**雄**				**雌**			
投与量（mg/kg/日）：		**0**	**0.5**	**1**	**2**	**0**	**0.5**	**1**	**2**
評価動物数：		**57**	**59**	**59**	**57**	**59**	**59**	**60**	**60**
乳腺	線維腺腫	1	0	1	0	21	23	23	29
	腺腫	0	0	0	0	1	0	0	4*
	癌	3	0	2	0	17	23	19	24
	上記合計の発現頻度 [a]	4	0	3	0	32	37	31	42

* 対照群と比較した統計学的有意差（$p \leq 0.05$）は Log-Rank 検定のみで認められた．

a)　乳腺線維腺腫，腺腫又は癌がみられた動物を合わせた数

いずれの用量においても，NBI-98854 投与に起因する非腫瘍性の病理組織学的所見は認められなかった．

結論：NBI-98854 をラットに 2 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回，雄には最長 91 週間，雌には最長 92 週間経口投与したところ，腫瘍性病変の発現頻度増加は認められなかった．

2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験

NBI-98854 の用量設定試験として，野生型 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験及び TK 評価を実施した上で，rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験を実施した．

2.6.6.5.2.1　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.4.2-1，概要表：2.6.7.10.1 及び 2.6.7.10.2，報告書番号：AD20XW.2G3R[redacted]］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄の CByB6F1 マウスに 28 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性及び TK を評価することであった．表 2.6.6.5－4 に記載したように，28 日間試験の用量は 5 日間用量設定試験に基づいて設定した．

表 2.6.6.5－4　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：AD20XW.2G3R[redacted]</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：CByB6F1 マウス</td><td>投与量：
5 日間：0，30，60，100，200 及び 400 mg/kg/日
28 日間：0，50，100 及び 200 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 7 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：雌雄各 5 匹（5 日間）；雌雄各 10 匹（28 日間）</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：5 又は 28 日間 [a]</td><td>休薬期間：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 25 日目（28 日間試験のみ）</td><td>時点（投与後時間）：[c]
0（投与前），0.5，1，2，6 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回（6 時間以上の間隔で）
• ケージサイド観察：投与後 1 時間以内（5 日間試験）；投与 1 日目～4 日目（雌）／投与 1 日目～5 日目（雄）は投与後 1 時間以内，投与 5 日目（雌）／6 日目（雄）以降は投与後 1.5～2.5 時間以内（28 日間試験）
• 詳細な一般状態観察：1 日目の投与前及び投与期間終了時（5 日間試験）；1 日目の投与前及び以降週 1 回（28 日間試験）
- 体重：1 日目及び投与期間終了時（5 日間試験）；1 日目以降週 1 回及び剖検前（28 日間試験）
- 摂餌量：1 日目以降週 1 回（28 日間試験のみ）
- 臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）：最終解剖時（29 日目）
- 器官重量，剖検及び病理組織学的検査：最終解剖時（29 日目）</td></tr>
</table>

a)　投与期間は，用量設定試験では 5 日間，主毒性試験では 28 日間とした．
b)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.7）に要約した．
c)　媒体対照群の動物については，血液検体を 1 時点（投与 0.5 時間後のおおよその t_{max}）で採取した．

結果：

5 日間用量設定試験：

400 mg/kg/日の動物は，1 日目若しくは 2 日目に，死亡又は瀕死期解剖に至った．死亡前の一般状態の変化として，活動性減少，運動失調，振戦及び痙攣発作が観察された．200 mg/kg/日以下の生存例では自発運動減少が 30 mg/kg/日以上で認められ，発現頻度が最も高かったのは 200 mg/kg/日であった．200 mg/kg/日の雌では振戦（1/5 例）及び痙攣発作（2/5 例）も観察された．その他の一般状態の変化として，異常発声が 30～200 mg/kg/日の雌（1 群当たり 1～4 例）で，活動性増加が 100 mg/kg/日の雌 1 例で，浅速呼吸が 200 mg/kg/日の雄 1 例で，それぞれ認められた．試験 5 日目の生存例における体重の変化は 5%未満であった．これらの結果から，28 日間試験の用量は 0，50，100 及び 200 mg/kg/日に設定された．

28 日間反復経口投与毒性試験：

NBI-98854 並びにその代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 は，おおむね投与 2 時間後までに最高濃度に達した．NBI-98854 の曝露量は，1 日目にはおおむね用量依存的であり，25 日目には用量比を下回った．NBI-98782 及び NBI-136110 の 1 及び 25 日目における曝露量は，50～200 mg/kg/日の間で用量比を下回った. NBI-98854 及び NBI-98782 の曝露量は 25 日間投与後におおむね減少し，減少の程度は高用量でより大きかったが，代謝物 NBI-136110 の曝露量は 1 日目と 25 日目の間でほぼ同程度であった．

高用量の 200 mg/kg/日で死亡が認められ，そのうち雄 2 例は 4 及び 28 日目に，雌 4 例は 3～4 日目に，それぞれ死亡した．また，200 mg/kg/日の TK 用動物でも死亡がみられ，そのうち雄 3 例は 3～4 日目に，雌 5 例は 2～5 日目に，それぞれ死亡した．200 mg/kg/日群の TK 用雌 1 例は，10 日目に瀕死期解剖された. 死亡前に認められた一般状態の変化は，運動失調，旋回，活動性増加，円背位，努力性呼吸，粗毛及び痙攣発作／振戦であった．100 mg/kg/日以上で最も高頻度に認められた一般状態の変化は活動性減少であった．一般状態の変化は 5 日目より後には認められなかったが，これはおそらく耐性の発現によるものと考えられる．平均体重及び摂餌量には，試験を通して，NBI-98854 群と対照群の間で被験物質に起因した差は認められなかった．

血液学的及び血液生化学的検査パラメータに，対照群と比較して統計学的に有意かつ用量依存的な変化が少数認められた（2.6.7.10.2 に詳述）が，これらの変化は変化の程度が軽微であること，及び／又は被験物質投与による二次的変化の可能性があることから毒性学的に意義がないと考えられた. 被験物質の投与に起因する器官重量の変化及び肉眼病変は認められなかった．病理組織学的検査では，軽微から中等度の鼻腔の滲出性炎（表 2.6.6.5－5）が，50 mg/kg/日の雌及び 200 mg/kg/日で観察された．100 mg/kg/日の雌で同様の変化が認められなかったことから，50 mg/kg/日で認められた変化は被験物質との関連がない自然発生的変化であった可能性が考えられた．また，2.6.6.9.2.4 で考察したとおり，同様の所見はラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験では認められなかったことから，酸性の pH を有する投与液の逆流により生じた局所刺激によって生じた可能性があり，被験物質に起因する直接的な毒性変化ではないと考えられた．

表 2.6.6.5－5　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験における病理組織学的所見

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	50	100	200	0	50	100	200
動物数：	10	10	10	10	10	10	10	10
鼻腔								
滲出性炎（軽微から軽度）	0	0	0	3	0	2	0	4
滲出性炎（中等度）	0	0	0	2	0	0	0	3
肝臓								
小葉中心性肥大（軽微から軽度）	0	0	0	9	0	0	0	4
グリコーゲン減少（軽微から軽度）	0	0	0	10	2	2	5	7

肝臓の病理組織学的所見（表 2.6.6.5－5）として，軽微から軽度の小葉中心性肥大が 200 mg/kg/日で観察された．この所見は薬物曝露量の低下に関連した酵素誘導の結果であると考えられたが，小葉中心性肥大で予想される肝重量の変化は認められなかった．その理由として，軽微から軽度のグリコーゲン減少を伴っていたことが原因である可能性が高いと考えられた．

結論：200 mg/kg/日で死亡がみられたことに基づき，NBI-98854 を雌雄の CByB6F1 マウスに 28 日間経口投与したときの NOAEL は 100 mg/kg/日に決定された．

2.6.6.5.2.2　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験

［資料番号：4.2.3.4.2-2，概要表：2.6.7.10.3，報告書番号：AD20XW.7G8R[redacted]］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄の rasH2 Tg マウスに 26 週間反復経口投与したときのがん原性を評価するとともに，野生型 CByB6F1 マウスにおける TK を評価することであった（表 2.6.6.5－6）.

表 2.6.6.5－6　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験の試験計画

報告書番号：AD20XW.7G8R[redacted]		**GLP 適用：**適用
動物種／系統：rasH2 Tg マウス		**投与量：**0，10，30 及び 75 mg/kg/日 [a]
投与開始時齢：約 7～8 週齢		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 25 匹		**投与経路：**強制経口
投与期間：26 週間		**休薬期間：**該当せず
TK： NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 1 及び 177 日目	**時点（投与後時間）：**[c] 0（投与前），0.5，1，2，6 及び 24 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回（6 時間以上の間隔で） • ケージサイド観察：投与後 2 時間以内 • 詳細な一般状態観察：1 日目及びその後週 1 回 - 体重：1 日目の投与前，13 週目まで週 1 回，その後は 2 週に 1 回 - 摂餌量：1 日目及びその後週 1 回 - 器官重量，剖検及び病理組織学的検査：最終解剖時（183/184 日目）		

a) 本試験の陽性対照として，別の群（雌雄各 10 匹）にウレタンを 1,000 mg/kg/日で 3 回（1，3 及び 5 日目）腹腔内投与した.

b) TK 評価は野生型 CByB6F1 マウスを用いて実施した．TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.8）に要約した.

c) 媒体対照群の動物について，血液検体を 1 時点（おおよそ t_{max} の投与 0.5 時間後）に採取した．投与前検体を 177 日目のみに採取した.

結果：野生型 CByB6F1 マウスにおける最終日（177 日目）の NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の曝露量を表 2.6.6.5－7 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.8）に詳述した.

表 2.6.6.5－7　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験における TK パラメータ（最終日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終日の C_{max}（ng/mL）	10	699	660	47.6	47.8	263	214
	30	2,230	1,490	105	88.2	645	498
	75	**2,350**	**2,760**	**130**	**130**	**1,200**	**833**
最終日の AUC_{0-24}（ng·h/mL）	10	3,090	2,300	407	305	1,830	1,380
	30	11,300	8,150	1,000	761	6,490	4,440
	75	**19,100**	**24,900**	**1,580**	**1,460**	**14,100**	**11,300**

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量における曝露量を**太字**で示す.

30 mg/kg/日の雄 2 例が，それぞれ 94 及び 137 日目に瀕死期解剖された．また，75 mg/kg/日の 3 例（雄 1 例，雌 2 例）が，それぞれ 112（雌），151（雄）及び 165 日目（雌）に死亡した．これらの動物の死因は，統計学的に有意でない自然発生腫瘍（30 mg/kg/日の雄 1 例，75 mg/kg/日の雌 1 例）又は不明であった．また，死亡の発現頻度は，試験施設の背景値の範囲内であった．

試験中に観察された一般状態の変化は，10 mg/kg/日以上で認められた削痩及び円背位（対照群を含む）並びに 30 mg/kg/日以上で認められた眼周囲腫脹であった（表 2.6.6.5－8）．眼周囲腫脹は被験物質投与との関連は無く，一部の動物における眼周囲着色の先天的な違いによるものと考えられた．陽性対照群の動物では，ウレタンの毒性に基づいて予想される一般状態の変化である運動失調，自発運動減少及び平伏姿勢が認められた．

表 2.6.6.5－8　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験における一般状態

性別：	**雄**				**雌**			
投与量（mg/kg/日）：	**0**	**10**	**30**	**75**	**0**	**10**	**30**	**75**
動物数：	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**
削痩	6	0	4	3	0	3	2	7
円背位	5	1	1	2	2	2	0	7
腫脹（眼周囲）	0	0	2	7	0	0	1	1

投与期間終了時の 75 mg/kg/日の雌において，統計学的に有意な体重増加（5%）が認められた．雄の体重及び雌雄の摂餌量には，統計学的に有意な変化は認められなかった．

対照群と比較して統計学的に有意な器官重量（絶対重量及び／又は体重比重量）の変化が認められ，その内訳は，10 及び 30 mg/kg/日の雌における副腎重量増加（24%以下），30 mg/kg/日の雄及び 75 mg/kg/日の雌における心重量の増加（10%以下）並びに 75 mg/kg/日の雌雄における肝重量の増加（9%以下）であった．10 mg/kg/日の雌では肝重量の減少（6%以下）も認められた．これらの器官重量の変化に対応する病理組織学的変化は認められなかったことから，こ

れらの変化には生物学的及び毒性学的意義はないと考えられた.

腫瘍の発現頻度を評価し，特に肺及び脾臓における腫瘍の発現頻度については表 2.6.6.5－9 に示した．陽性対照群（ウレタン投与動物）では肺及び脾臓の腫瘍の発現頻度に媒体対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められ，本試験の信頼性が示された．肺における単発性及び多発性の腺腫の発現頻度並びにすべての肺腫瘍の発現頻度は，媒体対照群と NBI-98854 群において同程度であり，試験施設の背景値の範囲内であった（表 2.6.6.5－9）．同様に，媒体対照群及び NBI-98854 投与群の雌雄における脾臓血管肉腫の発現頻度は，試験施設の背景値の範囲内であった．肺腫瘍又は脾臓血管肉腫の雌雄の発現頻度を媒体対照群と NBI-98854 投与群との間で比較したところ，雌雄のいずれにおいても，発現頻度及び傾向についての統計学的有意差は認められなかった.

表 2.6.6.5－9　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験における肺及び脾臓の腫瘍の発現頻度

性別：		雄						雌					
投与量（mg/kg/日）：		0	10	30	75	PC	HCR	0	10	30	75	PC	HCR
動物数：		25	25	25	25	10	1,085 [a]	25	25	25	25	10	1,085 [a]
肺	単発性腺腫	1	1	3	1	0	0～6	3	0	1	1	0	0～6
	多発性腺腫	0	0	0	1	10*	0～2	0	0	0	0	10*	0～1
	腫瘍のみられた動物	1	1	3	2	10*	NA	3	0	1	1	10*	NA
脾臓	血管肉腫	1	2	0	1	7*	0～4	1	0	2	0	5*	0～4

* 対照群と比較して統計学的有意差あり；HCR = 1 試験あたりの媒体対照マウスでの試験施設の背景値範囲；NA = 該当せず；PC = 陽性対照（ウレタン 1,000 mg/kg/日）

a)　試験施設の媒体対照マウスの評価総数（38 試験分）.

脾臓を含む種々の器官における血管肉腫及び血管腫の発現頻度を，雌雄ともに媒体対照群と NBI-98854 投与群との間で比較した（表 2.6.6.5－10）．媒体対照群及び NBI-98854 投与群での脾臓を含む種々の器官における血管肉腫と血管腫を合わせた発現頻度は，雌雄ともに試験施設の背景値の範囲内であった（但し 10 mg/kg/日の雌 1 例で腹腔内腫瘍としてみられた血管腫は施設背景には認められなかった）．また，脾臓以外の器官におけるこれらの腫瘍の分布はランダムであり，特定の組織及び器官系が関与する傾向は認められなかった．脾臓を含む血管肉腫及び血管腫を合わせた雌雄の発現頻度を，媒体対照群と NBI-98854 投与群の間で比較したところ，発現頻度及び傾向のいずれにおいても統計学的有意差は認められなかった.

表 2.6.6.5－10　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験における血管肉腫及び血管腫の発現頻度

性別：	雄					雌				
投与量（mg/kg/日）：	0	10	30	75	HCR	0	10	30	75	HCR
動物数：	25	25	25	25	1,085[a]	25	25	25	25	1,085[a]
脾臓	1	2	0	1	0～4	1	0	2	0	0～4
精巣	0	1	0	0	0～1	NA	NA	NA	NA	NA
腹腔	0	0	0	0	NPR	0	1[b]	0	0	NPR
卵巣	NA	NA	NA	NA	NA	1	0	0	0	0～1
併合した発現頻度	1	3	0	1	NA	2	1[b]	2	0	NA

HCR = 1 試験あたりの媒体対照マウスでの試験施設の背景値範囲；NA＝ 該当せず；NPR＝ 試験施設の背景対照データベースにおいて過去に記録なし

a)　試験施設の媒体対照マウスの評価総数（38 試験分）.

b)　観察された腫瘍は血管腫であった．他のすべての腫瘍は血管肉腫であった.

雌雄の他のすべての腫瘍（脾臓及び肺以外の器官）について，媒体対照群と NBI-98854 投与群の間で比較し，毒性試験概要表（2.6.7.10.3）に要約した．脾臓及び肺以外で認められた腫瘍の発現頻度は低く，孤発性であり，試験施設の背景値の範囲内であった．雌雄におけるこれらの腫瘍の発現頻度を媒体対照群と NBI-98854 投与群との間で比較したところ，発現頻度及び傾向のいずれにおいても，統計学的有意差は認められなかった.

本試験において，好酸性蛋白性液，線維状フィブリン，好塩基性ムチン，脱落細胞及び変性好中球の蓄積を特徴とする鼻腔の滲出性炎が認められた（表 2.6.6.5－11）．これらの病変は全身性の変化ではなく局在性であり，投与時における被験物質投与液の鼻腔内への逆流によって生じた可能性がある．同様の病変は，28 日間用量設定試験において NBI-98854 200 mg/kg/日で観察された（2.6.6.5.2.1）．しかし，この 26 週間試験で認められた病変の重症度は，28 日間試験で認められたものより低かった.

表 2.6.6.5－11　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験における鼻腔の病理組織学的所見

性別：	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）：	0	10	30	75	0	10	30	75
動物数：	25	25	25	25	25	24	25	25
鼻腔								
滲出性炎（軽微から軽度）	3	1	6	11	3	5	9	11

結論：NBI-98854 を雌雄の rasH2 Tg マウスに 75 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回，26 週間反復経口投与したところ，腫瘍性病変の発現頻度増加は認められなかった.

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，概要表：2.6.7.12，報告書番号：8235039］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌雄のラットに交配前，交配中，更に解剖時（雄）又は妊娠初期（雌）まで反復強制経口投与したときの雌雄ラットの一般毒性，受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響の有無を評価することであった（表 2.6.6.6－1）．

表 2.6.6.6－1　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の試験計画

報告書番号：8235039	**GLP 適用：**適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット	**投与量：**0，1，3 及び 10 mg/kg/日
投与開始時齢：9～10 週齢	**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 22 匹	**投与経路：**強制経口
投与期間： - 雄：交配前 28 日間，交配期間及び安楽致死時まで - 雌：交配前 14 日間，交配期間及び妊娠 7 日まで	**剖検日：**73 日目（雄），妊娠 13 日（雌）
TK：評価せず	
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：午前中及び投与 2 時間後（投与の最初の 14 日間） • 詳細観察：試験前に 1 回及び体重測定時 - 体重： • 雄：試験前に 1 回，投与 1 日目，投与期間中週 2 回及び解剖時 • 雌：試験前 3 回以上，投与 1 日目，交配前及び交配期間中週 2 回並びに交尾が確認された雌では妊娠 0，3，7，10 及び 13 日 - 摂餌量： • 交配前期間：雌雄について週 1 回 • 交配後期間：雌について妊娠 0～3 日，3～7 日，7～10 日及び 10～13 日；雄については測定せず - 性周期判定：投与開始前 2 週間及び交配前期間中に毎日 - 交尾の確認：交配期間中に毎日 - 解剖時検査： • 雄：剖検，器官重量（生殖器官）及び生殖パラメータ • 雌：剖検，子宮重量，帝王切開データ及び生殖パラメータ	

結果：3 mg/kg/日の雄 1 例が 28 日目に死亡したが，一般状態の変化及び剖検時の肉眼所見は認められず，用量依存性もなかったことから，偶発的と考えられた．生存例における一般状態の変化として，部分閉眼が 3 mg/kg/日の一部の雌及び 10 mg/kg/日の雌雄多数例に認められた．10 mg/kg/日では，雄の少数例において交配期間終了後（42 及び 45 日目）に活動性増加が，

多くの雌において交配前投与期間の後半（12 及び 13 日目）に活動性減少が観察された.

対照群と比較して統計学的に有意な体重増加抑制が，10 mg/kg/日の雄では投与期間を通じて，雌では交配前期間及び妊娠期間中に認められ，その結果，これらの期間の終了時までに 18%（雄）及び 6%以下（雌）の体重の低値が認められた．交配前期間中の摂餌量減少（14%以下）が雌雄ともに認められたが，妊娠期間全体の摂餌量は対照群と同程度であった.

10 mg/kg/日では発情間期の持続（4 日以上連続）を示す雌の数が増加したが，性周期延長はこれらの雌の妊娠及び交尾に影響を及ぼさなかった.

剖検時には，NBI-98854 投与に起因する毒性学的に意義のある肉眼所見は認められなかった. 対照群と比較して統計学的に有意な前立腺絶対重量の減少が 10 mg/kg/日の雄で認められたが, 前立腺の相対重量は対照群と同程度であり，体重低値に起因する変化と考えられた.

10 mg/kg/日の雌の約 27%で交配所要日数の延長（9 日間以上）が認められた．交尾成立した雌雄の数はすべての群を通して同程度であったことから, 交配所要日数の延長による雌の交尾行動及び妊娠成立への影響はなかった．しかし，10 mg/kg/日の妊娠率及び受胎率が低下した．これらの雌の妊娠率及び／又は受胎率の低下と性周期又は交配所要日数の延長との間に相関は認められなかった．精子数及び精子運動能のパラメータに NBI-98854 に起因する変化は認められなかった．10 mg/kg/日の授胎率は対照群と比較して低下した.

黄体数，着床数及び胎児生存率を含む帝王切開パラメータには，NBI-98854 に起因する変化は認められなかった.

結論：10 mg/kg/日において，性周期及び交配所要日数の延長，妊娠率及び受胎率低下が認められた. 帝王切開パラメータにおいては, NBI-98854 投与に起因する所見は認められなかった. 以上のことから, 親動物の生殖能に関する NOAEL は 3 mg/kg/日, 初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった.

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

GLP 適用下で実施するラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定のために，NBI-98854 の母動物及び胚・胎児に及ぼす影響並びに TK を評価するための予備試験を非 GLP 適用で実施した.

2.6.6.6.2.1.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

［資料番号：4.2.3.5.2-1，概要表：2.6.7.11.1，報告書番号：8235040］

目的：本予備試験の目的は，NBI-98854 を胎児器官形成期（着床から硬口蓋の閉鎖まで）の妊娠ラットに強制経口投与したときの母動物及び胚･胎児の発生に及ぼす影響並びに TK を評価することであった（表 2.6.6.6－2）.

表 2.6.6.6−2　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：8235040</td><td>GLP 適用：非適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，1，3，10 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：12 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">1 群の雌動物数：6 匹</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：妊娠 6〜17 日</td><td>剖検日：妊娠 21 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
妊娠 6 日及び
妊娠 17 日</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与期間中の投与 1，2 及び 4 時間後
• 詳細観察：試験前 1 回及びそれぞれの体重測定時
- 体重：妊娠 0（供給業者による），4，6，8，10，12，14，16，18 及び 21 日
- 摂餌量：妊娠 4，6，8，10，12，14，16，18 及び 21 日
- 解剖時検査（妊娠 21 日）：剖検，子宮重量，帝王切開検査及び胎児検査</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.7.1）に要約した．

結果：妊娠 21 日の計画解剖時まで死亡は認められなかった．妊娠期間中に認められた主要な一般状態の変化は，活動性減少（3 mg/kg/日以上），円背位（10 mg/kg/日以上），不規則呼吸（10 mg/kg/日以上）及び／又は部分閉眼（10 mg/kg/日以上）であった．用量依存的な体重増加抑制が，1 mg/kg/日以上で妊娠 6〜21 日に認められた．試験終了時（妊娠 21 日）に，対照群と比較して統計学的に有意な体重の低値（19%以下）が 1 mg/kg/日以上で認められ，それに対応して統計学的に有意な摂餌量の減少（29%以下，妊娠 6〜21 日）が認められた．

母動物の剖検所見，妊娠子宮重量及び帝王切開所見には被験物質の影響は認められなかった．受胎率はすべての群で 100%であった．流産及び早産は認められず，すべての妊娠母体で生存胎児が認められた．平均吸収胚数（総，早期及び後期），着床後死亡率及び母体当たりの生存胎児数は，すべての群を通じて同程度であった．

すべての生存胎児の平均体重は 1 mg/kg/日以上で対照群と比較してわずかに低値であったが（8%以下），明らかな用量依存性は認められなかった．15 mg/kg/日の 6 母体中 1 母体から得られた全胎児で浮腫が観察された．その他には胎児異常は認められなかった．

結論：NBI-98854 を妊娠ラットに 15 mg/kg/日までの用量で器官形成期（妊娠 6〜17 日）に経口投与したとき，忍容性が認められたことから，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.2.2）における NBI-98854 の高用量は 15 mg/kg/日に設定された．

2.6.6.6.2.1.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

［資料番号：4.2.3.5.2-2，概要表：2.6.7.11.2，報告書番号：8235042］

目的：本予備試験の目的は，NBI-98854 を非妊娠ウサギに 7 日間反復経口投与したときの忍容性及び TK を評価することであった．更に，胚・胎児発生に関する試験の用量を設定する目

的で，NBI-98854 を胎児器官形成期（着床から硬口蓋の閉鎖まで）の妊娠ウサギに経口投与したときの母毒性及び胚・胎児発生に及ぼす影響並びに TK を評価した（表 2.6.6.6－3）．

表 2.6.6.6－3　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：8235042</td><td>GLP 適用：非適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ニュージーランドホワイトウサギ</td><td>投与量：0，7.5，20，50 及び 100 mg/kg/日（非妊娠）；0，25，50，75 及び 100 mg/kg/日（妊娠）</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：5～6 ヶ月齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">1 群の雌動物数：3 匹（非妊娠）；6 匹（妊娠）</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：7 日間（非妊娠）；妊娠 7～20 日（妊娠）</td><td>剖検日：8 日目（非妊娠）；妊娠 29 日（妊娠）</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
1 及び 7 日目（非妊娠）
妊娠 7 日及び妊娠 20 日（妊娠）</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，2，4，6，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与期間中の投与 1，2 及び 4 時間後
• 詳細観察：試験前に 1 回及びそれぞれの体重測定時
- 体重及び摂餌量（非妊娠）：1 日目以降，毎日
- 体重（妊娠）：妊娠 0，4，7，9，11，13，15，18，21，24，27 及び 29 日
- 摂餌量（妊娠）：妊娠 4 日以降，毎日
- 解剖時検査（妊娠例のみ：妊娠 29 日）：剖検，子宮重量，帝王切開検査及び胎児検査</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.7.3）に要約した．

結果：

非妊娠動物：被験物質投与に起因した死亡は認められなかった．100 mg/kg/日の 1 例が瀕死期解剖に至ったが，これは投与過誤によると考えられた．一般状態の変化として，100 mg/kg/日で投与 3 日目に活動性減少が，投与 1～6 日目に部分閉眼が認められた．50 mg/kg/日以上で，投与期間終了時に対照群と比較して体重の低値（3～4%）が認められ，それに対応して，20 mg/kg/日以上で摂餌量（0～7 日目）が対照群と比較して減少（19%以下）した．これらの結果に基づき，妊娠ウサギを用いた用量設定試験における NBI-98854 の用量として，0，25，50，75 及び 100 mg/kg/日を設定した．

妊娠動物：75 mg/kg/日の 1 例を，瀕死状態により妊娠 10 日に安楽致死させた．死因を示唆する剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった．50 mg/kg/日の 1 例も妊娠 15 日に死亡したが，病理組織学的検査で投与過誤を示唆する所見が認められ，被験物質投与による影響ではないと考えられた．75 mg/kg/日以上で，投与期間中（妊娠 7～21 日）に体重が減少した．また，75 mg/kg/日以上で，投与初期に摂餌量の減少（対照群の約 50%）が認められたが，その後回復傾向が認められた．

剖検時に被験物質投与に起因した剖検所見は認められなかった．流産及び早産は認められず，解剖日に全例で妊娠が認められ，すべての妊娠母体で生存胎児が認められた．平均黄体数，平均着床数，平均着床前死亡率及び平均生存胎児数には被験物質投与に関連した変化は認められなかった．平均早期吸収胚率及び平均総吸収胚率並びに平均着床後死亡率は対照群を含めて群間で同程度であったが，100 mg/kg/日では 1 母体に 3 個の早期吸収胚がみられたため，平均早期吸収胚率及び平均総吸収胚率のわずかな増加が認められた．

25 mg/kg/日以上の全生存胎児の平均体重は，対照群と比較して 8%～13%の低値が認められたが，これらの変化には用量関連性がなかった．胎児外表所見は 75 mg/kg/日の 1 母体のみで観察され，1 胎児で腹部拡張が，2 胎児で腹壁裂が認められた．これらの所見は 100 mg/kg/日では認められなかったことから，自然発生所見であり，NBI-98854 投与に起因するものではないと考えられた．

結論：NBI-98854 を 100 mg/kg/日までの用量で妊娠ウサギの器官形成期（妊娠 7～20 日）に経口投与したとき，忍容性が認められたことから，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.2.3）における NBI-98854 の高用量は 100 mg/kg/日に設定された．

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：4.2.3.5.2-3，概要表：2.6.7.13.1，報告書番号：8235041］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を妊娠ラットに胎児器官形成期（着床から硬口蓋の閉鎖まで）に経口投与したときの母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響及び TK を評価することであった（表 2.6.6.6－4）．

表 2.6.6.6－4　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：8235041</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，1，5 及び 15 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：12 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">1 群の交尾確認雌数：25 匹</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：妊娠 6～17 日</td><td>剖検日：妊娠 21 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
妊娠 6 日及び妊娠 17 日</td><td>時点（投与後時間）：
0（投与前），0.5，1，3，8 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：午前の生死確認と同時及び投与 4 時間後（妊娠 6～17 日）
• 詳細観察：試験前に 1 回及びそれぞれの体重測定時
- 体重：妊娠 0，4，6，8，10，12，14，16，18 及び 21 日
- 摂餌量：妊娠 4，6，8，10，12，14，16，18 及び 21 日
- 解剖時検査：剖検，子宮重量，帝王切開パラメータ及び胎児検査</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.7.2）に要約した．

結果：最終日（妊娠 17 日）における NBI-98854 及び代謝物 NBI-98782 の曝露量を表 2.6.6.6－5 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.7.2）に詳述した．

表 2.6.6.6－5　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における TK パラメータ（妊娠 17 日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854	NBI-98782（代謝物）
妊娠 17 日 C_{max}（ng/mL）	1	20.5	26.4
	5	141	151
	15	**480**	**362**
妊娠 17 日 $AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	1	133	274
	5	1,000	1,550
	15	**4,230**	**4,740**

C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}24}$ = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
胚・胎児発生に対する NOAEL における曝露量を**太字**で示す．

妊娠 21 日の解剖時まで死亡は認められなかった．NBI-98854 投与に起因した一般状態の変化として，活動性減少及び部分閉眼が 15 mg/kg/日で観察されたが，これらは NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．これらの一般状態の変化は投与期間終了後には認められなかった．対照群と比較して統計学的に有意な体重増加抑制が 5 mg/kg/日以上で認められ，摂餌量減少に対応していた．試験終了時の体重（妊娠 21 日）及び摂餌量（妊娠 18～21 日）には，5 mg/kg/日以上でそれぞれ 11%以下及び 30%以下の減少が認められた．

被験物質投与に起因した剖検所見は認められなかった．妊娠子宮重量には対照群と比較して差は認められなかった．帝王切開時に雌全例で妊娠が認められ，早産の発現はなく，すべての雌が生存胎児を有していた．平均胎児体重及び性比は同程度で，黄体数，着床数，着床前死亡率及び着床後死亡率には被験物質投与による変化は認められなかった．

外表検査，内臓検査及び骨格検査において，NBI-98854 投与に起因した変化は認められなかった．対照群及び 5 mg/kg/日における側脳室拡張，1 mg/kg/日における肺中間葉欠損及び大動脈弓離断及び右側大動脈弓，5 mg/kg/日における肝臓の横隔膜ヘルニア，15 mg/kg/日における多指及び第 1～3 胸骨分節の癒合は，いずれも 1 胎児のみに認められるか又は対照群及び低用量のみで認められたこと，また，その他の胎児及び同腹児において同型の発生毒性徴候を伴わなかったことから，毒性学的意義はないと考えられた．また，第 13 痕跡肋骨の発現頻度の有意な増加が，15 mg/kg/日における 4 母体の 5 胎児で観察されたが，その発生頻度は施設背景データの範囲内であり，ラットで一般にみられる変異であることから NBI-98854 投与に起因した変化ではなく，毒性学的意義はないと考えられた（Kimmel and Wilson, 1973）．

結論：母動物では，体重及び摂餌量の統計学的に有意な低値が 5 mg/kg/日以上で認められた．しかし，催奇形性を含む胚・胎児毒性は認められなかった，以上より，NOAEL は母毒性に関して 1 mg/kg/日，胚・胎児毒性に関して 15 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.2.3　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，概要表：2.6.7.13.2，報告書番号：8235046］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を胎児器官形成期（着床から硬口蓋の閉鎖まで）の妊娠ウサギに経口投与したときの母動物及び胚・胎児毒性の発生に及ぼす影響及び TK を評価することであった（表 2.6.6.6－6）.

表 2.6.6.6－6　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：8235046</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：ニュージーランドホワイトウサギ</td><td>投与量：0，20，50 及び 100 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：5 ヶ月齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">1 群の交尾確認雌数：20 匹</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：妊娠 7～20 日</td><td>剖検日：妊娠 29 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854 及び NBI-98782（代謝物）[a]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
妊娠 7 日及び妊娠 20 日</td><td>時点（投与後時間）：
0.5，2，4 及び 8</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：午前の生死確認と同時及び投与 4 時間後
• 詳細観察：それぞれの体重測定時
- 体重：妊娠 0，4，7，9，11，13，15，18，21，24，27 及び 29 日
- 摂餌量：妊娠 4 日目以降，毎日定量的に測定
- 解剖時検査：剖検，子宮重量，帝王切開パラメータ及び胎児検査</td></tr>
</table>

a)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.7.4）に要約した.

結果：最終日（妊娠 20 日）における NBI-98854 及び代謝物 NBI-98782 の曝露量を表 2.6.6.6－7 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.7.4）に詳述した.

表 2.6.6.6－7　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における TK パラメータ（妊娠 20 日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854	NBI-98782（代謝物）
妊娠 20 日 C_{max} (ng/mL)	20	299	74.5
	50	**1,530**	**174**
	100	3,520	310
妊娠 20 日 AUC_{0-24} (ng·h/mL)	20	998	425
	50	**6,030**	**1,320**
	100	32,800	3,430

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
胚・胎児発生に対する NOAEL における曝露量を**太字**で示す.

100 mg/kg/日の雌 1 例が妊娠 17 日に死亡した．生存例と同様に死亡例は，活動性減少，部分閉眼及び速呼吸が，投与期間を通じて認められた．剖検時に肉眼所見は認められなかった．生存例では主に，活動性減少，部分閉眼及び速呼吸が 50 mg/kg/日以上で観察された．また，低頻度ではあるが，運動失調，横臥，縮瞳，閉眼，呼吸雑音及び／又は軟便／糞排泄減少／無便も認められた．

対照群と比較して統計学的に有意な体重増加抑制が 50 mg/kg/日以上で認められ，摂餌量減少に対応していた．投与期間終了時に，50 mg/kg/日以上で，体重（妊娠 21 日）及び摂餌量（妊娠 7～21 日）が，それぞれ 8%以下及び 39%以下の低値を示した．投与期間終了後，すべての NBI-98854 投与群で体重の回復が認められた．剖検時に被験物質投与に起因した所見は認められず，NBI-98854 投与群の子宮重量には対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった．

妊娠数，流産数，早産数，胎児生存性，黄体数，着床数，着床前死亡率，吸収胚数，着床後死亡率及び胎児性比を含むいずれの帝王切開パラメータにも，被験物質投与に起因した変化は認められなかった．対照群と比較して統計学的に有意な平均胎児体重の減少（11%以下）が 100 mg/kg/日の雌雄胎児に認められた．本試験で認められた胎児体重の低値も，妊娠 7～21 日にみられた母体の摂餌量及び体重の減少に関連していると考えられた．

100 mg/kg/日の 2 胎児で認められた胆嚢欠損並びに 20 及び 100 mg/kg/日の各 1 胎児で認められた心室中隔欠損は発現頻度が低く，試験施設の背景値の範囲内であったことから，被験物質投与に起因した変化ではないと考えられた．

第 5/6 胸骨分節の不完全骨化及び第 6 胸骨分節の未骨化が，100 mg/kg/日において統計学的に有意に高い発現頻度で観察された．これらの変異は，100 mg/kg/日での母動物の体重減少及び摂餌量減少による二次的な胎児成長遅延に関連して生じた可能性がある（Cappon et al., 2005; Carney and Kimmel, 2007）．また，50 mg/kg/日以上の群における仙椎前椎骨数 26 及び 100 mg/kg/日における第 13 肋骨の発現頻度が統計学的に有意に増加したが，これらはウサギで一般的にみられる変異であり，その発現頻度は試験実施施設における背景値の範囲内であったことから，毒性学的意義は低いと考えられた．

100 mg/kg/日では，骨格異常として頭蓋骨の癒合を起因とする鼻及び前上顎骨の異常，椎骨異常並びに胸骨分節の癒合が各 1 胎児で観察された．これらの異常は 1 胎児のみの発現であり，背景値の範囲内であったことから，NBI-98854 投与に起因した変化ではないと考えられた．

結論：母毒性が 50 mg/kg/日以上で認められた．100 mg/kg/日で統計学的に有意な胎児体重の低値が認められ，これに関連して骨化遅延が認められた．これらは母動物の体重減少による二次的変化と考えられ，被験物質投与に起因した催奇形性を含む胚・胎児毒性は認められなかった．したがって，NOAEL は母毒性に対して 20 mg/kg/日，胚・胎児毒性に対して 50 mg/kg/日と判断した．

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試験

［資料番号：4.2.3.5.3-1，概要表：2.6.7.14，報告書番号：20068205］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を雌ラットの着床から離乳までの期間に経口投与し，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響及び TK を評価することであった（表 2.6.6.6－8）.

表 2.6.6.6－8　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の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：20068205</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：Sprague Dawley ラット</td><td>投与量：0，1，3 及び 10 mg/kg/日 [a]</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：約 11 週齢</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">1 群の交尾確認動物数：22 匹 [b]</td><td>投与経路：強制経口</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：妊娠 7 日～分娩後 20 日</td><td>剖検日：
- F0 母動物：分娩後 21 日
- F1 雄：試験 131～136 日 [c]；F1 雌：妊娠 13 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[d]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
- 血漿（F0；F1）
- 乳汁（F0）</td><td>評価日：
- 血漿：分娩後 14 日（F0）；生後 14 日（F1）
- 乳汁：分娩後 14 日</td><td>時点（投与後時間）：
- 血漿：1，3，8（F0）；解剖時採血（F1）
- 乳汁：3</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
<u>F0 世代</u>
- 一般状態：
　• 生死確認：1 日 2 回
　• 外観：入荷翌日に 1 回，毎日の投与前及び計画解剖時
　• 投与後：投与の 1 及び 2 時間後並びに通常の作業日終了時
　• 母動物：分娩後期間中毎日
- 体重：妊娠 0 日，入荷翌日，投与期間中毎日及び計画解剖時
- 摂餌量：妊娠 7，10，12，15，18，20 及び 25 日並びに分娩後 1，4，7，10 及び 14 日の 1 日量
- 分娩観察（一般状態，妊娠期間，出産児数及び出生児生存性）
- 解剖時検査：剖検，卵巣及び子宮の検査
<u>F1 世代</u>
- 一般状態：
　• 生死確認：離乳前及び離乳後期間中 1 日 2 回
　• 一般状態観察：離乳前期間中 1 日 1 回；離乳後期間中週 1 回
- 体重：
　• 離乳前：1 日目（出生時）並びに生後 4，7，10，14 及び 21 日
　• 離乳後：週 1 回；妊娠 0，7，10，13 日（雌）及び計画解剖時
- 摂餌量：離乳後期間中，交配まで週 1 回並びに妊娠 0，7，10，13 日（雌）
- 性成熟：膣開口及び包皮分離の評価（それぞれ生後 28 及び 39 日以降）
- 生後の行動／機能評価：聴覚性驚愕馴化，自発運動量及び M 型水迷路（それぞれ生後 61 ± 2 日，60 ± 2 日及び 70 ± 2 日以降）
- 性周期評価：交配開始 14 日前から毎日，更に交配中における膣垢中の精子確認及び／又は膣栓確認まで毎日
- 生殖能：生後 90 日以降に，最長 7 日間の交配
- 解剖時検査：剖検，雄の生殖器官重量並びに卵巣及び子宮の検査</td></tr>
</table>

a) 10 mg/kg/日では出生児死亡率が高かったため，この母動物投与群は離乳時に安楽致死させ，この母動物投与群からは評価継続のための出生児を選択しなかった.
b) F0 世代 = 雌のみ
c) 交配終了後の計画解剖
d) 濃度データを薬物動態試験概要表（2.6.5.12.3）に要約した.

結果: 分娩後 14 日における血漿中（母動物及び出生児）及び乳汁中（母動物）濃度を表 2.6.6.6－9 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.12.3）に詳述した．F0 母動物全例の血漿及び乳汁並びにその F1 出生児において，NBI-98854 並びにその代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 が検出された．

表 2.6.6.6－9　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における NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の血漿中及び乳汁中濃度

時点（投与後時間）	投与量（mg/kg/日）	濃度（ng/mL）[a]								
		NBI-98854			NBI-98782			NBI-136110		
		母動物血漿	出生児血漿	母動物乳汁	母動物血漿	出生児血漿	母動物乳汁	母動物血漿	出生児血漿	母動物乳汁
1	1	18.1	<LLOQ	NA	18.0	<LLOQ	NA	9.39	<LLOQ	NA
	3	41.3	<LLOQ		47.8	1.36		20.2	<LLOQ	
	10	206	<LLOQ		301	3.62		68.9	<LLOQ	
3	1	12.5	<LLOQ	53.6	23.1	<LLOQ	106	10.8	<LLOQ	23.5
	3	38.2	<LLOQ	118	62.0	1.49	265	29.6	<LLOQ	50.5
	10	130	<LLOQ	314	278	3.53	797	89.1	<LLOQ	125
8	1	<LLOQ	<LLOQ	NA	9.33	<LLOQ	NA	5.05	<LLOQ	NA
	3	12.1	<LLOQ		39.4	2.10		17.2	<LLOQ	
	10	55.0	<LLOQ		116	6.16		63.2	2.77	

LLOQ＝ 定量下限；NA＝ 該当せず
a)　血漿及び乳汁の分析は GLP 非適用で実施した．

F0 世代に関するデータの要約： F0 母動物には，被験物質に起因した死亡は認められなかった．生児を有さないため，10 mg/kg/日の F0 母動物の計 8 例を，分娩後 2～6 日に安楽致死させた．妊娠期間中及び授乳期間中における F0 母動物の一般状態の変化として，眼瞼下垂，全身振戦，立毛，軽度脱水及び円背位が 3 mg/kg/日以上で，過呼吸，赤色膣周囲物質及び自発運動減少が 10 mg/kg/日で，それぞれ観察された．

統計学的に有意な体重減少及び体重増加抑制が，妊娠期間中に 3 mg/kg/日以上で認められ，特に 10 mg/kg/日の母動物では授乳期間中も持続的に認められた．妊娠期間終了時（妊娠 20 日）及び授乳期間終了時（分娩後 21 日）に，母動物体重が 3 及び 10 mg/kg/日でそれぞれ 5%以下及び 11%以下の減少を示し，それに一致して，摂餌量減少（それぞれ 14%以下及び 29%以下）が認められた．

以下に記載した自然分娩及び同腹児所見における変化は，試験施設の背景対照データの範囲外であったことから，被験物質投与に起因した変化と考えられた．

- 10 mg/kg/日で統計学的に有意な平均妊娠期間が延長し，対照群の 22.4 日と比較して 23 日であった．
- 3 mg/kg/日以上では，対照群と比較して，死亡産児を有する母動物数並びに平均死亡児数及び比率が統計学的に有意に増加し，平均生存出生児数及び比率が統計学的に有意に減少した．
- 0，1，3 及び 10 mg/kg/日で，それぞれ計 3，7，17 及び 96 例の F1 出生児が，授乳期

間中に死亡，安楽死又は喰殺された．この出生児死亡の増加により，対照群と比較して，3 mg/kg/日では生存率が低下し，10 mg/kg/日では 4 日生存率及び離乳率が統計学的に有意に低下した．その結果，授乳期間中，母体当たりの平均生存児数及び体重測定時の平均生存同腹児数も，3 mg/kg/日以上で対照群と比較して統計学的に有意に減少した．

母体当たりの平均出生児体重が，生後 1，4，7 及び 10 日に，10 mg/kg/日で対照群と比較して統計学的に有意に減少したが，生後 14 日以降は対照群と同程度であった．分娩した母動物の数，分娩母体当たりの平均着床数及び出産率（生児出産雌数／妊娠雌数）は，すべての用量で対照群と同程度であった．

3 mg/kg/日以上で離乳前期間中の F1 出生児において，冷触感，ミルクバンドなし，軽度から重度の脱水（皮膚緊張に基づく）及び頭部又は全身の褪色／蒼白が認められた．10 mg/kg/日で認められたその他の所見は，無哺育，無営巣，自発運動減少及び努力性呼吸であった．

F0 母動物及び F1 出生児における被験物質投与に起因した肉眼所見は，F0 母動物は 10 mg/kg/日まで，F1 出生児は 3 mg/kg/日までの用量で認められなかった．

F1 世代に関するデータの要約：10 mg/kg/日では死亡児率が高かったため，当群の母動物は離乳時に解剖し，離乳後の児の評価は実施しなかった．離乳後の 3 mg/kg/日の F1 動物において，被験物質投与に起因した死亡，一般状態の変化並びに体重及び摂餌量の変化は認められなかった．

3 mg/kg/日の F1 動物において，平均膣開口日数及び平均包皮分離日数に変化は認められなかった．F1 動物の聴覚性驚愕及び自発運動量の測定値並びに水迷路成績には，生物学的に有意又は用量依存的な差は認められなかった．

F1 動物の交尾能，受胎能及び性周期には，いずれの用量においても変化が認められなかった．生殖能のすべてのパラメータ（受胎率，妊娠率，交配所要日数，交尾動物数並びに交配第 1 週及び第 2 週に交尾が成立した動物数）は全群同程度であり，対照群の値と比較して有意差は認められなかった．

3 mg/kg/日において，雄性生殖器官重量及び肉眼所見に被験物質投与に起因した変化は認められなかった．

それぞれの母動物投与群において，F1 母動物の 20～22 例（90.9%～100.0%）で妊娠が認められた．F1 母動物の帝王切開時検査では，いずれの用量においても，NBI-98854 による変化は認められなかった．

結論：母動物に関する NOAEL は 1 mg/kg/日，離乳前に出生児死亡が認められたことから，F1 出生児の発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日，F1 出生児の成長及び生殖能に関する NOAEL は，出生児の評価を行った最高用量の 3 mg/kg/日であった．

2.6.6.6.4　新生児を用いた試験

幼若マウスを用いた毒性試験を実施した（表 2.6.6.6－10）.

表 2.6.6.6－10　NBI-98854 の幼若マウスを用いた毒性試験

報告書番号	試験期間（生後日）	投与量（mg/kg/日）	GLP 適用
[redacted]-866003	14 日間 [a]（生後 21～27 日）	0，15，30，60，90	適用
[redacted]-98854-008-TX	4 日間（生後 21～24 日）	0，90，120[b]	非適用
[redacted]-866004	4 日間（生後 21～24 日）	0，90	非適用
[redacted]-866005	14 日間（生後 21～34 日）	0，30，60，90	非適用
[redacted]-866006	10 週間（生後 21～91 日）	0，30，60，90	適用

a)　30 mg/kg/日以上で死亡が認められたため，本試験は生後 28 日に終了し，動物への投与回数は計 1～7 回であった.
b)　NBI-98782 の 30 mg/kg/日での経口投与も実施した.

2.6.6.6.4.1　探索的な幼若マウスを用いた毒性試験

幼若マウスを用いた 14 日間試験（2.6.6.6.4.1.3）は，投与過誤による死亡が頻発し，被験物質の影響を評価できなかった. そのため，投与過誤を低減するために，4 日間試験（2.6.6.6.4.1.1 及び 2.6.6.6.4.1.2）にて，投与器具を含む投与条件を検討した. その後，改良した方法を用いて，幼若マウスを用いた 14 日間用量設定試験（2.6.6.6.4.1.4）を実施し，幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.6.4.2）の投与量を設定した.

2.6.6.6.4.1.1　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 1

［資料番号：4.2.3.5.4-1，概要表：2.6.7.15.1，報告書番号：[redacted]-98854-008-TX］

目的：この試験の目的は，NBI-98854 を幼若 CD-1 マウスに生後 21 日から生後 24 日まで 4 日間経口投与した際に発現しうる NBI-98854 及び NBI-98782 の毒性及び TK を検討することであった（表 2.6.6.6－11）.

表 2.6.6.6－11　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 1 の試験計画

報告書番号：[redacted]-98854-008-TX		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：CD-1 マウス		**投与量：**0（媒体）；NBI-98854 90 及び 120 mg/kg/日；NBI-98782 30 mg/kg/日
投与開始時齢：生後 21 日又は生後 22 日 [a]		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 6～12 匹		**投与経路：**強制経口 [b]
投与期間：生後 21～24 日 [a]		**剖検日：**生後 24 日（検査なし）
TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[c]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 生後 23 日又は生後 24 日	**時点（投与後時間）：** 0.08，0.25，0.5，1，2 及び 4 時間 [d]
評価パラメータ： - 一般状態：投与 4 時間後まで継続的 - 体重：毎日 - 剖検：途中死亡例のみ		

a) 120 mg/kg/日を試験の 2 日目（生後 22 日）に追加し，計 3 日間（生後 22～24 日）投与した.
b) 動物への投与は，柔軟なポリプロピレンシャフト付きのシリコンバルブ型チップ付きカニューレを用いて，投与容量 10 mL/kg で実施した.
c) TK データを報告書[redacted]-98854-008-TX（付表 3，表 13）に要約した.
d) NBI-98854 120 mg/kg/日で，血液検体を投与 0.5，1，2 及び 4 時間後に採取した.

結果：被験物質投与に起因した死亡は認められなかった．1 日目の投与直後に死亡した NBI-98854 の 90 mg/kg/日の 2 例（雌雄各 1 例）の死亡は投与過誤に起因するものであり，被験物質投与に起因したものではないと考えられた．一般状態の変化として，眼瞼下垂，活動性減少，粗毛及び活動性増加が，NBI-98854 の 90 mg/kg/日以上及び NBI-98782 の 30 mg/kg/日で観察された．NBI-98854 120 mg/kg/日では異常歩行も認められた．3 又は 4 日間の投与後の体重は，NBI-98854 の 90 mg/kg/日以上で，対照群と比較して，雄では−16%～−18%，雌では−2%以下であった．NBI-98782 を直接投与した場合は，対照群と比較して−6%以下であった.

結論：幼若マウスについて，NBI-98854 の 90 mg/kg/日（4 日間）及び 120 mg/kg/日（3 日間），又は NBI-98782 の 30 mg/kg/日（4 日間）の忍容性が認められた．また，本試験で用いた投与手技により投与過誤が改善された.

2.6.6.6.4.1.2　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 2

［資料番号：4.2.3.5.4-2，概要表：2.6.7.15.2，報告書番号：[redacted]-866004］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を幼若マウスに生後 21 日から生後 24 日まで 4 日間経口投与した際に発現しうる毒性を検討することであった（表 2.6.6.6－12）.

表 2.6.6.6－12　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 2 の試験計画

報告書番号：[redacted]-866004		**GLP 適用：**非適用
動物種／系統：CD-1 マウス		**投与量：**0 及び 90 mg/kg/日 [a]
投与開始時齢：生後 21 日		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 5 匹		**投与経路：**強制経口 [a]
投与期間：生後 21～24 日		**剖検日：**生後 24 日（検査なし）
TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 生後 24 日	**時点（投与後時間）：** 0.5 時間
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：生後 21 日は投与 4 時間後まで継続的，生後 22～24 日は投与 1 時間後まで - 体重：毎日 - 剖検：途中死亡例のみ		

a) 本試験は 3 群構成（媒体対照群が 1 群及び 90 mg/kg/日が 2 群の計 3 群）で実施した．媒体対照群及び 90 mg/kg/日の一方には，当初，柔軟なテフロン®シャフト付き投与カニューレを用いて，生後 21 日に 5 mL/kg の投与容量で強制経口投与したが，90 mg/kg/日の雌 1 例が生後 21 日の投与直後に死亡した．この死亡は挿管過誤の結果と考えられたため，その後，柔軟なポリプロピレンシャフト付きシリコンバルブ型チップ付きカニューレを用いて，生後 22～24 日に 10 mL/kg の投与容量に変更し，投与した．もう一方の 90 mg/kg/日には，柔軟なポリプロピレンシャフト付きシリコンバルブ型チップ付きカニューレを用いて，投与期間（生後 21～24 日）を通して 10 mL/kg の投与容量で投与した．

b) 検体採取が 1 時点（投与 0.5 時間後）のみであったため，TK 評価は実施しなかった．濃度データを報告書[redacted]-866004（付表 A）に要約した．

結果：被験物質投与に起因した死亡は認められなかった．生後 21 日における 90 mg/kg/日（投与容量 5 mL/kg）雌 1 例の死亡は，柔軟なテフロン®シャフト付き投与カニューレによる挿管過誤に起因すると考えられた．この動物では死亡前に間代性痙攣が観察された．生後 22 日より，ポリプロピレンシャフト付きシリコンバルブ型チップ付きカニューレを用い，投与容量を 10 mL/kg に変更して動物に投与したところ，死亡は認められなかった．90 mg/kg/日における一般状態の変化として，活動性減少，振戦，身体平坦化及び／又は部分閉眼が観察された．投与期間終了時（生後 24 日）に，対照群と比較した体重減少が 90 mg/kg/日の雄（14%以下）及び雌（10%以下）で認められた．

結論：NBI-98854 を幼若マウスに 90 mg/kg/日で 4 日間反復経口投与したときの忍容性は良好であった．本試験のデータにより，バルブ型チップ付きカニューレ及び／又はより高い投与容量を使用することで，幼若マウスにおける投与過誤を最小化できると考えられた．

2.6.6.6.4.1.3　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 1

［資料番号：4.2.3.5.4-3，概要表：2.6.7.15.3，報告書番号：[redacted]-866003］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を幼若マウスに生後 21 日から生後 34 日まで 14 日間経口投与した際に発現しうるマウスの成長及び発達に対する毒性並びに TK を評価することで

あった（表 2.6.6.6－13）．本試験は最初に実施された幼若マウスを用いた試験である．本試験で挿管過誤による死亡が認められたため，これらの過誤の低減策を探求することを目的に，2.6.6.6.4.1.1 及び 2.6.6.6.4.1.2 に示した 4 日間毒性試験が実施された．

表 2.6.6.6－13　幼若マウスを用いた 14 日間反復投与試験 1 の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-866003</td><td>GLP 適用：適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：CD-1 マウス</td><td>投与量：0，15，30，60，90 mg/kg/日 [a]</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：生後 21 日</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：雌雄各 2～5</td><td>投与経路：強制経口 [b]</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：生後 21～27 日 [a]</td><td>剖検日：生後 28 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[c]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
生後 21 日</td><td>時点（投与後時間）：
0.5，1，2，6 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与 1 時間後；生後 21～24 日の投与 4 時間後まで継続的（0 及び 60 mg/kg/日のみ）
- 体重：毎日
- 剖検：途中死亡例並びに 0 及び 60 mg/kg/日の主試験用動物</td></tr>
</table>

a)　終了時において，計画解剖まで生存した主試験用動物への総投与回数は以下のとおりであった：0 mg/kg/日 ＝7 回，15 mg/kg/日 ＝1 回，30 mg/kg/日 ＝3 回，60 mg/kg/日 ＝7 回及び 90 mg/kg/日 ＝2 回
b)　動物には，幼若動物に適したサイズのステンレス製投与針又は柔軟なテフロンシャフト付き投与針並びに注射筒を用いて，投与容量 5 mL/kg で投与した．
c)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.3.4）に要約した．

結果及び結論：主試験用動物及び TK 用動物のいずれにおいても，死亡が投与 1 日目（生後 21 日）に，30 mg/kg/日（TK 用動物 2 例），60 mg/kg/日（主試験用動物 1 例，TK 用動物 7 例）及び 90 mg/kg/日（主試験用動物 3 例，TK 用動物 1 例）で認められた．これらの死亡発現により，90 mg/kg/日の投与を 2 回投与後に中止し，15 mg/kg/日を追加した．また，60 mg/kg/日での反復投与後に死亡が認められたため，試験を早期終了した．

2.6.6.6.4.1.4　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 2

［資料番号：4.2.3.5.4-4，概要表：2.6.7.15.4，報告書番号：[redacted]-866005］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を幼若マウスに 14 日間経口投与した際に発現しうる毒性並びに TK を評価することであった（表 2.6.6.6－14）．この試験では，幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験試験（2.6.6.6.4.1.2）で明らかとなった投与過誤の，発現頻度が減少した投与手順で実施した．

表 2.6.6.6－14　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 2 の試験計画

<table>
<tr><td colspan="2">報告書番号：[redacted]-866005</td><td>GLP 適用：非適用</td></tr>
<tr><td colspan="2">動物種／系統：CD-1 マウス</td><td>投与量：0，30，60 及び 90 mg/kg/日</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与開始時齢：生後 21 日</td><td>媒体：0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液</td></tr>
<tr><td colspan="2">性別及び 1 群の動物数：雌雄各 8 匹</td><td>投与経路：強制経口 [a]</td></tr>
<tr><td colspan="2">投与期間：生後 21～34 日</td><td>剖検日：生後 35 日</td></tr>
<tr><td colspan="3">TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]</td></tr>
<tr><td>マトリックス：
血漿</td><td>評価日：
生後 21 日及び生後 34 日</td><td>時点（投与後時間）：[c]
0（投与前），0.5，1，2，6 及び 24 時間</td></tr>
<tr><td colspan="3">評価パラメータ：
- 一般状態：
• 生死確認：1 日 2 回
• ケージサイド観察：投与前及び投与 2 時間後まで継続的
- 体重：毎日
- 摂餌量：週 2 回
- 剖検：途中死亡例及び計画解剖の主試験動物（生後 35 日）</td></tr>
</table>

a)　動物への投与は，プラスチック栄養チューブを用いて，投与容量 10 mL/kg で実施した．
b)　TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.3）に要約した．
c)　投与前の時点で採取したのは生後 34 日のみ

結果：本試験において，被験物質投与に起因した死亡は認められなかった．30 mg/kg/日の雌 1 例（生後 27 日）及び 60 mg/kg/日の雌 1 例（生後 23 日）が死亡したが，これらの死亡は投与直後（5～9 分以内）に認められたことから，投与過誤に起因するものであり，被験物質に関連したものではないと考えられた．死亡直前に一般状態の変化は認められなかった．一般状態の変化（振戦及び部分閉眼）は他の投与日の生存例と同様であった．剖検時に，これらのマウスで肉眼所見は認められなかった．

一般状態の変化として，部分閉眼，振戦及び挙動抑制が，30 mg/kg/日以上において用量依存的な発現頻度で観察された．体重減少が特に投与第 1 週に認められたが，投与期間終了時（生後 34 日）には，60 mg/kg/日以上で統計学的有意差のないわずかな体重減少（対照群と比較しておおむね 6%以下）が認められたのみであった．被験物質投与に起因した摂餌量の変化及び肉眼所見は認められなかった．

結論：NBI-98854 を 0，30，60 及び 90 mg/kg/日で幼若マウスに 14 日間反復経口投与したときの忍容性は良好であったことから，幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.6.4.2）の用量として，本試験と同じ用量を設定した．

2.6.6.6.4.2　幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.5.4-5，概要表：2.6.7.15.5，報告書番号：[redacted]-866006］

目的：本試験の目的は，NBI-98854 を幼若マウスに生後 21 日から生後 91 日まで経口投与した際に発現しうる成長及び発達に対する毒性（生殖，神経行動及び神経毒性を含む）並びに TK を評価することであった（表 2.6.6.6－15）．

表 2.6.6.6－15　幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：[redacted]-866006		**GLP 適用：**適用
動物種／系統：CD-1 マウス		**投与量：**0，30，60 及び 90 mg/kg/日 [a]
投与開始時齢：生後 21 日		**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 40 匹		**投与経路：**強制経口
投与期間：生後 21～91 日		**休薬期間：** 113～120 日
剖検日：生後 92 日，生後 204～211 日		
TK：NBI-98854，NBI-98782（代謝物）及び NBI-136110（代謝物）[b]		
マトリックス： 血漿	**評価日：** 生後 21 日及び生後 91 日	**時点（投与後時間）：** 0（投与前）[c]，0.5，1，2，6 及び 24 時間

評価パラメータ：

主試験 [a] - F_0 出生児

- 一般状態：
  - 生死確認：1 日 2 回
  - ケージサイド観察：投与前（生後 19 日以降）並びに投与 30 分後及び 2 時間後の継続的観察（生後 21 日以降）
- 体重：生後 19 日以降，毎日；25 週目以降は週 2 回
- 摂餌量：生後 28 日から交配期間を除いて解剖時まで週 2 回
- 性成熟（亀頭包皮分離及び膣開口）を，生後 21 日（雌）及び生後 25 日（雄）以降，陽性になるまで継続
- 機能観察総合評価法（生後 80/112 日），自発運動量（生後 80/112/154～163/190～195 日），聴覚性驚愕反応（生後 81/113 日），学習及び記憶（生後 82/114 日）を，投与期間／休薬期間／生殖評価終了時／休薬期間終了時に実施
- 生殖評価：
  - 性周期：交配前 10 日間連日及び交尾確認まで又は交配期間終了まで毎日
  - 交尾確認：各交配ペアについて，交尾（膣栓）を確認するまで
- 分娩観察：予想分娩期間中 1 日 2 回
  - 生後 0 日（分娩開始日）に F_1 出生児の性別判定，外表奇形及び死産児／生存児数を調べた．
- 臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）及び精子検査項目の評価：主試験の剖検前（生後 92 日）及び休薬期間終了時（生後 204～211 日）
- 器官重量，剖検，病理組織学的検査及び神経病理学的検査 [d]：主試験の剖検時（生後 92 日）及び休薬期間終了時（生後 204～211 日）

主試験 - F_1 出生児

- 一般状態：毎日の生死確認／ケージサイド観察（生後 1～4 日）及び詳細な身体検査（生後 1 及び 4 日）
- 体重：生後 1 及び 4 日
- 性別判定：生後 0 及び 4 日
- 剖検：生後 0～4 日の死亡例のみ

a) 主試験の投与開始前に予備試験を実施した．予備試験では生後 21～28 日に媒体及び NBI-98854 90 mg/kg/日を投与し，生後 29 日に安楽致死させて更なる検査は実施しなかった．

b) TK データを薬物動態試験概要表（2.6.5.4.4）に要約した．

c) 生後 91 日のみ

d) 対照群及び 90 mg/kg/日の動物について，脳組織の標準的検査に加えて，基底核及び黒質を含む切片を含めた脳切片を作製し，星状膠細胞反応を評価するための GFAP に対する特殊染色，神経細胞壊死を評価するための Fluoro-Jade B 染色，ミエリン変化を評価するための Luxol Fast Blue 染色並びに脳のドパミン作動性ニューロンマーカーのチロシンヒドロキシラーゼ染色を実施した．

結果：

生後 91 日における NBI-98854 並びに代謝物 NBI-98782 及び NBI-136110 の曝露量を表 2.6.6.6－16 に要約し，薬物動態試験概要表（2.6.5.4.4）に詳述した．

表 2.6.6.6－16　幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ（生後 91 日）の要約

パラメータ	投与量（mg/kg/日）	NBI-98854		NBI-98782（代謝物）		NBI-136110（代謝物）	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
生後 91 日 C_{max}（ng/mL）	30	1,760	2,160	135	169	890	855
	60	**5,340**	**4,260**	**247**	**240**	**2,240**	**1,400**
	90	4,640	4,720	322	271	2,190	1,760
生後 91 日 $AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	30	6,630	5,090	775	632	6,850	5,080
	60	**14,300**	**13,500**	**1,270**	**1,140**	**12,700**	**11,400**
	90	20,000	21,000	1,640	1,630	17,700	17,000

C_{max} = 最高血漿中濃度；$AUC_{0\text{-}24}$ = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
NOAEL（一般毒性のみ）における曝露量を**太字**で示す．

対照群を含むすべての投与群で，計 15 例，TK 群で 19 例が死亡又は瀕死状態で安楽致死させた．死亡例の多くの原因は，投与過誤であることが確認された．残りの途中死亡例については，剖検及び病理組織学的検査により死因を判定できなかったが，曝露量の低値から大半では投与過誤が疑われた．しかし，90 mg/kg 日における生後 63 及び 76 日目の死亡例については，被験物質の影響を否定できなかった．

休薬期間中に，30 mg/kg/日の雌 3 例が，死亡又は瀕死期解剖に至った．しかし，60 及び 90 mg/kg/日で死亡がみられなかったことから，NBI-98854 投与に起因するものではないと考えられた．主に投与第 1 週に，30 mg/kg/日以上で，活動性減少，ごく軽度から中等度の振戦及び部分閉眼が認められた．これらの変化は NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．

投与第 1 週に，すべての NBI-98854 投与群で，対照群と比較した体重増加の抑制が認められ，60 mg/kg/日以上の雄及び 90 mg/kg/日の雌で統計学的に有意な体重低値が認められたが．変化の程度が小さかったことから，これらの体重の変化は毒性変化ではないと考えられた．対照群と比較した摂餌量減少が，60 mg/kg/日以上で一過性に生後 28～91 日に認められた．休薬期間（雌では妊娠期間及び授乳／分娩後期間を含む）における 30，60 及び 90 mg/kg/日の平均体重，体重増加量及び摂餌量は，対照群と同程度であった．

血液学的及び血液生化学的検査パラメータ，器官重量及び大腿骨長，生殖発達及び受胎能に被験物質の影響は認められなかった．

30 mg/kg/日以上で肝臓において，肝重量の増加，並びに小葉中心性肝細胞肥大及び小葉中心性肝細胞空胞化が認められたが，休薬期間終了後に回復傾向が認められた．脳を含むその他の臓器に病理組織学的変化は認められなかった．

神経行動評価では，30 mg/kg/日以上において，機能観察総合評価法，学習及び記憶（Biel 迷路）及び聴覚驚愕反応に対する被験物質に関連した影響は認められなかった．

自発運動量において，対照群と比較して統計学的に有意な全体の平均総カウント数及び歩行カウント数の増加（1.9～3.9 倍）が，投与期間中（生後 80 日）に 30 mg/kg/日以上で認められた．生後 112 日までの休薬期間中に，雌動物は回復した．一方，雄動物は回復傾向を示したが完全な回復は認められなかった．雄動物でこの変化が完全に回復することを確認するため，休薬期間を生後 190～195 日に延長した．休薬期間終了時（生後 190～195 日）には，平均総カウント数及び歩行カウント数について，30 mg/kg/日の雌雄では回復の徴候が認められたが，60 mg/kg/日以上の雌雄では統計学的に有意な増加が認められた．自発運動量の増加は，成獣ラット及びマウスで観察されている（2.6.6.3.1.1.1，2.6.6.3.2.2.2，2.6.6.3.2.2.3 及び 2.6.6.3.2.1.1）．幼若マウスの試験では自発運動量増加の評価を高感度かつ客観的な方法（自発運動量チャンバーを使用）を用いて実施したのに対し，成獣の試験における評価は，通常の目視による一般状態観察のみに基づくものであった．また，成獣イヌでは投与後に活動性増加はみられていない．

結論：NBI-98854 を幼若マウスに 1 日 1 回，10 週間（生後 21～91 日）経口投与したところ，被験物質投与に起因した可能性がある死亡が 90 mg/kg/日で認められた．すべての用量で認められた一般状態の変化は，NBI-98854 の薬理作用に一致するものであった．自発運動量において，全体の平均総カウント数及び歩行カウント数の増加が，30 mg/kg/日以上で雌雄ともに認められ，60 mg/kg/日以上では休薬期間終了時にも引き続き認められた．これらの所見に基づき，一般毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日であった．骨成長並びに生殖発達及び受胎能に関する無影響量（以下，NOEL）は，検討した最高用量の 90 mg/kg/日であった．神経行動評価に関する NOEL は，自発運動量への影響に基づくと 30 mg/kg/日以下であったが，この現象は薬理作用に関連する変化と考えられた．

2.6.6.7　局所刺激性試験

NBI-98854 について局所刺激性試験は実施していない．

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　依存性試験

NBI-98854 及びその代謝物は，薬理作用（ドパミン遊離抑制作用）から乱用の可能性は無いと考えられること，既知の乱用薬物の化学構造との類似性が無いこと，受容体結合試験において，FDA 乱用能評価ガイダンス（FDA Guidance for Industry, 2017）に例示されているドパミン，セロトニン，GABA，オピオイド，カンナビノイド，イオンチャネル，輸送担体に対する結合性が認められなかったこと（表 2.6.6.8－1），覚醒ラットに NBI-98854 を経口投与したときの中枢神経系への影響評価（2.6.2.4.2.2.1）及びラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.2.3）並びにイヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.3.3）で乱用及び退薬症候の発現を示唆する所見が認められなかったこと，及び海外第 II 相試験（NBI-98854-1001 試験，NBI-98854-1101 試験，NBI-98854-1201 試験及び NBI-98854-1202 試験）において乱

用・依存性を示唆する有害事象が認められなかったことから，依存性試験は実施しなかった．平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施した[redacted]相談（受付番号：[redacted]）において，「薬物依存性試験を実施しないことに現時点で特に異論はない．今後得られる臨床試験成績及び公表文献において本剤の乱用・依存性リスクが示唆された場合には，薬物依存性試験の実施を検討する必要がある．」との助言を得た．その後の臨床試験成績や公表文献においても本剤の乱用・依存性リスクを示唆する情報は認められなかった．

表 2.6.6.8－1　NBI-98854，NBI-98782 及び NBI-136110 の受容体結合試験結果

被験物質	NBI-98854	NBI-98782	NBI-136110
評価濃度	10 μmol/L	1 μmol/L	1 μmol/L
評価項目	Adenosine A1, A2A, A3 Adrenergic α1 (non-selective), α2 (non-selective), β1, β2 Angiotensin AT1, AT2 Benzodiazepine (central, peripheral) Bombesin BB (non-selective) Bradykinin B2 Calcitonin CGRP Cannabinoid CB1 Cholecystokinin CCK1 (CCKA), CCK2 (CCKB) Dopamine D1, D2S, D3, D4.4, D5 Endothelin ETA, ETB GABA (non-selective) Galanin GAL1, GAL2 PDGF CXCR2 (IL-8B) TNF-α CCR1 Ghrelin (GHS, NBI-98782 のみ) Histamine H1, H2 Melanocortin MC4 Melatonin MT1 Muscarinic M1, M2. M3, M4, M5 Tachykinin NK1, NK2, NK3 Neuropeptide Y1, Y2 Neurotensin NTS1(NT1) Opiate δ2, κ, μ, NOP(ORL1) PACAP (PAC1) PPARγ PCP Prostanoid EP4, TP(TXA2/PGH2), IP(PGI2) P2X, P2Y Serotonin 5-HT1A, 1B, 2A, 2C, 3, 5A, 6, 7 Sigma (non-selective) Somatostatin sst (non-selective) Glucocorticoid (GR) VPAC1 (VIP1) Vasopressin V1a Ca channel (L, verapamil site) K_v channel SK_{Ca} channel Na channel (site2) Cl channel (GABA-gated) Norepinephrine transporter Dopamine transporter Serotonin transporter		Adenosine A1, A2A, A3 Adrenergic α1 (non-selective), α2 (non-selective), β1, β2 Angiotensin AT1 Benzodiazepine (central) Bradykinin B2 Cannabinoid CB1 Cholecystokinin CCK1 (CKA) Dopamine D1, D2S Endothelin ETA GABA (non-selective) Galanin GAL2 CXCR2 (IL-8B) CCR1 Histamine H1, H2 Melanocortin MC4 Melatonin MT1 Muscarinic M1, M2, M3 Tachykinin NK2, NK3 Neuropeptide Y1, Y2 Neurotensin NTS1(NT1) Opiate δ2, κ, μ, NOP(ORL1) Prostanoid TP (TXA2/PGH2) Serotonin 5-HT1A, 1B, 2A, 2B, 3, 5A, 6, 7 Somatostatin sst (non-selective) VPAC1 (VIP1) Vasopressin V1a Ca channel (L, verapamil site) K_v channel SK_{Ca} channel Na channel (site2) Cl channel (GABA-gated) Norepinephrine transporter Dopamine transporter Serotonin transporter
50%以上の結合を示した項目	Sigma (68%)	なし	なし
資料番号	4.2.1.1-1	4.2.1.1-1	4.2.1.1-2

2.6.6.8.2　不純物の毒性試験

2.6.6.8.2.1　分解物／不純物 NBI-139326 のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

［資料番号：4.2.3.7.6-1，概要表：2.6.7.17.2，報告書番号：8293871］

目的：NBI-139326 は規格設定された分解物であるが，毒性試験に使用した原薬中には検出されていないため，安全性確認のための直接投与試験が必要と判断した．本試験の目的は，NBI-98854 の分解物／不純物である NBI-139326 をラットに 14 日間反復経口投与した際に発現しうる毒性を評価することであった（表 2.6.6.8－2）．

表 2.6.6.8－2　NBI-139326 のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験の試験計画

報告書番号：8293871	**GLP 適用：**適用
動物種／系統：Sprague Dawley ラット	**投与量：**0 及び 0.5 mg/kg/日
投与開始時齢：6～7 週齢	**媒体：**0.25%（w/v）メチルセルロース水溶液
性別及び 1 群の動物数：雌雄各 10 匹	**投与経路：**強制経口
投与期間：14 日間	**休薬期間：**該当せず
TK：評価せず	
評価パラメータ： - 一般状態： • 生死確認：1 日 2 回 • ケージサイド観察：投与前及び投与 2～3 時間後 • 詳細観察：試験前 1 回並びに 1，8 及び 14 日目の投与前 - 体重：試験前 1 回及び試験中毎日 - 摂餌量（定量的）：週 1 回 - 眼科学的検査：試験前及び 14 日目 - 臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査及び血液生化学的検査）：投与期間終了時（15 日目） - 器官重量，剖検及び病理組織学的検査：投与期間終了時（15 日目）	

結果：NBI-139326 の 0.5 mg/kg/日での忍容性は良好であった．死亡は認められず，被験物質投与に起因した一般状態の変化も認められなかった．体重及び摂餌量には統計学的に有意な変化は認められなかった．被験物質投与に起因した眼の変化は認められなかった．臨床検査及び器官重量において，毒性学的意義のある変化は認められなかった．被験物質投与に起因した肉眼的変化及び病理組織学的変化は認められなかった．

結論：NBI-98854 の不純物である NBI-139326 をラットに 0.5 mg/kg/日で 14 日間経口投与したときの忍容性は良好であり，毒性学的意義のある変化は認められなかった．

2.6.6.8.2.2　NBI-98854 の既知の不純物又は分解物の安全性確認

げっ歯類及び非げっ歯類の毒性試験における NOAEL での NBI-98854 の不純物又は分解物への曝露量が，予定最大臨床用量の 80 mg/日における不純物／分解物の曝露量を上回っているかを確認した. 不純物／分解物の濃度及び現時点で指定されている規格を裏付けるために利用可能なデータを，以下の表 2.6.6.8－3 に要約する．構造及び由来を含めたこれらの不純物の情報は，モジュール 3 原薬，3.2.S.3.2，不純物に記載されている．

表 2.6.6.8－3　規格設定不純物の動物を用いた毒性試験に基づく安全性確認

不純物 [a] （構造情報） （RRT，方法）	**原薬の規格**（%）	**製剤の規格** （%）	**不純物又は分解物の比率**（%） （ロット番号）	**NOAEL** （mg/kg/日） （動物種，期間，報告書）	**関連ある動物の曝露量** [b] （mg/kg）	**ヒトの曝露量** [c] （mg/kg）	**安全域** [d]
NBI-98782 （不純物／分解物） （NBI-98854 の代謝物） （RRT[redacted]，方法 TM 10-0242）	[redacted]	[redacted]	100 (MD-2139-169B)	15 （イヌ，14 日間， 報告書[redacted]-3332）	15.00	0.016	NA[e]
NBI-123670 ([redacted]) （RRT[redacted]，方法 TM 10-0242）	[redacted]	[redacted]	0.60 (08KL014D)	15 （イヌ，14 日間， 報告書[redacted]-3332）	0.09	0.004	23
NBI-139326 （不純物／分解物） （RRT[redacted]，方法 TM10-0242）	[redacted]	[redacted]	100 (PW-1783-190-S-1)	0.5 （ラット，14 日間， 報告書 8293871）	0.50	0.005	94
NBI-724208（[redacted]；NBI-98854 の[redacted]型） （RRT[redacted]，方法 TM10-0242）	[redacted]	[redacted]	0.13 (08-120924-03B/03-58-01)	15 （イヌ，9 ヶ月間， 報告書 20028697）	0.02	0.004	4.9
NBI-123673 [f] （NBI-98854 の[redacted]） （RRT[redacted]，方法 TM 08-142）	[redacted]	[redacted]	0.50[g] (08KL014D)	15 （イヌ，14 日間， 報告書[redacted]-3332）	0.08	0.007	11

NOAEL＝ 無毒性量；RRT＝ 相対保持時間

a) 毒性試験に使用された原薬ロット中に存在する不純物又は分解物の比率（%）．一部の場合には毒性試験終了後に不純物が特定されたことから，試験成績書（COA）では特定されていない．この場合，その不純物の相対保持時間（RRT）はバリデートされた分析試験により確認された．

b) 関連ある動物の曝露量 ＝%不純物*NOAEL／100

c) ヒト曝露量（分解物）＝（製剤規格*最大ヒト 1 日用量の 80 mg／平均体重 60 kg）／100 又はヒト曝露量（工程不純物）＝（原薬規格*最大ヒト 1 日用量の 80 mg／平均体重 60 kg）／100

d) 安全域 ＝ 関連ある動物曝露量／ヒト曝露量．算出には四捨五入前の値を用いた．

e) NA：該当せず．NBI-98782 は NBI-98854 の代謝物であり，NBI-98854 について実施されたすべての毒性試験で安全性が確認されているため（2.6.6.9.9 参照）．

f) NBI-123673 は[redacted]であるため，規格設定限界がより高い．

g) ロット 08KL014D の最初の試験成績書（COA）では 1.0%の値であったが，その後，改善された分析法によって，より低い 0.5%の値に改訂された．このため，この計算については，より低い（慎重な）安全域が得られるこのより低い値を使用した．

2.6.6.8.2.3　出発物質，不純物及び分解物の *in vitro* 遺伝毒性試験

ICH M7 (R1)ガイドラインに準拠して，出発物質，不純物及び分解物のハザード評価を実施した．[redacted] 及び／又は [redacted] による *in silico* 評価結果は 2.3.S.3.2 に記載している．細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及び／又はヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験については，表 2.6.6.8－4 に記載した．結果を，以下に簡潔に示す．

NBI-98854 の出発物質である NBI-83197（報告書 8257823）及び NBI-83199（報告書 8257824）について，GLP 適用の Ames 試験を用いて評価したところ，変異原性は陰性であった．

NBI-98854 原薬の初期開発段階の合成経路（3.2.S.2.6，製造工程開発）において使用した出発物質の NBI-83200 について，遺伝毒性の有無を評価したところ（報告書 8257825；毒性試験概要表，2.6.7.17.3.8），Ames 試験の結果が陽性であったため，この物質はそれ以上 NBI-98854 の合成に使用しなかった．

NBI-98854 の潜在的な分解物である NBI-638091（報告書 AD26NP.503[redacted]）及び NBI-743407（報告書 8338882）について，GLP 適用の Ames 試験を用いて評価したところ，変異原性は陰性であった．

NBI-98854 の分解物である NBI-139326 については，最初に実施した GLP 適用の Ames 試験（報告書 8231300）で，試験菌株 TA98 において不確かな結果が得られ，それは塩化物塩型の被験物質が不安定であることに起因すると考えられた（報告書 8231300，付表 3，表 10）．NBI-139326 のより安定な臭化物塩（報告書 AD25XS.503[redacted]，付表 V，表 G）を用いて Ames 試験を再度実施したところ（報告書 AD25XS.503[redacted]），NBI-139326 はこの試験で陰性であった．NBI-139326 の臭化物塩について追加の染色体異常試験（報告書 AD25XS.341[redacted]）を実施したところ，この試験も陰性であった．これらの結果から，NBI-139326 には遺伝毒性はないと考えられた．

表 2.6.6.8－4　NBI-98854 の出発物質，不純物及び分解物の Ames 試験及び染色体異常試験

物質	一般名又は IUPAC 名	NBI-98854 との関係	*In vitro* 試験 [a]	報告書番号	毒性試験概要表	GLP 適用	評価濃度	結果
NBI-83197	[redacted]	出発物質	Ames	8257823	2.6.7.17.3.1	適用	313～5,000 µg/プレート	陰性
NBI-83199	[redacted]	出発物質	Ames	8257824	2.6.7.17.3.2	適用	313～5,000 µg/プレート	陰性
NBI-83200	[redacted]	過去の出発物質	Ames	8257825	2.6.7.17.3.8	適用	313～5,000 µg/プレート	陽性
NBI-638091	[redacted]	潜在的な分解物	Ames	AD26NP.503[redacted]	2.6.7.17.3.3	適用	1.5～5,000 µg/プレート	陰性
NBI-743407	[redacted]	製造工程由来の潜在的な不純物	Ames	8338882	2.6.7.17.3.4	適用	5～5,000 µg/プレート	陰性
NBI-139326	[redacted]	分解物	Ames[b]	AD25XS.503[redacted]	2.6.7.17.3.7	適用	1.5～5,000 µg/プレート	陰性
			染色体異常	AD25XS.341[redacted]	2.6.7.17.3.9	適用	80～1,100 µg/mL	陰性

a) Ames 試験には，ネズミチフス菌の菌株（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及び大腸菌の菌株（WP2uvrA）を使用した．染色体異常試験には，ヒト末梢血リンパ球を使用した．

b) NBI-139326 の Ames スクリーニング試験（報告書 963041；毒性試験概要表 2.6.7.17.3.5）及び NBI-139326 の塩化物塩型の GLP 適用 Ames 試験（報告書 8231300；毒性試験概要表，2.6.7.17.3.6）も実施した．Ames スクリーニング試験では，数種類の陽性対照において，試験の信頼性に必要とされる適切な復帰変異コロニー数の増加が得られなかった．GLP 適用 Ames 試験では試験菌株 TA98 の結果が不確かであったが，それは被験物質の塩化物塩型が不安定であることに起因すると考えられた．そのため，より安定な臭化物塩型の NBI-139326 を用いて Ames 試験を再度実施した（報告書 AD25XS.503[redacted]；毒性試験概要表 2.6.7.17.3.7）．

2.6.6.8.3　その他の試験

2.6.6.8.3.1　BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験

［資料番号：4.2.3.7.7-1，概要表：2.6.7.17.1，報告書番号：20072835］

目的：NBI-98854 は 275 nm 付近で最大吸収波長をもち，雄の Long Evans ラットにおいて光に曝露される組織（すなわち眼及び皮膚）に分布することが示されている（2.6.4.4.1）．このため，BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験を実施した．

試験方法：BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞における NBI-98854 の光毒性を，OECD 432 ガイドライン文書に記載された手順を使用し，ICH S10 の推奨事項に従って評価した．用量設定試験の結果に基づき，1.78，3.16，5.62，10.0，17.8，31.6，56.2 及び 100 µg/mL の濃度で 2 回評価した．いずれの試験においても，NBI-98854 を細胞に合計約 90 分間曝露した後，NBI-98854 の存在下で細胞に紫外線を照射した．プロメタジン（濃度範囲 0.100～178 µg/mL）を陽性対照として用いた．

結果：溶解度評価により，NBI-98854 は，Dulbecco リン酸緩衝生理食塩液（Ca^{2+}及び Mg^{2+}イオンを添加）に，検討した最高濃度の 100 µg/mL で溶解することが示された．いずれの試験においても，紫外線照射下及び非照射下で IC_{50}（細胞生存が 50%抑制される薬物濃度）を算出できなかったことから，光毒性はないことが示された．OECD 432 で推奨されるすべての細胞生存及び試験の基準が満たされたことから，本試験は信頼性があることが示された．

結論：本試験の条件下において，NBI-98854 は，BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み試験で光毒性を示さなかった．

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　薬理作用に基づいた所見

VMAT2 は，神経活動に応じたモノアミン（ドパミン，セロトニン，ノルエピネフリン及びヒスタミンなど）の輸送，貯蔵及び遊離において中心的な役割を果たす．NBI-98854 による可逆的な VMAT2 活性阻害作用の結果として，脳内モノアミンが減少する（2.6.2）．このことから，毒性試験における所見の大半は，神経細胞に貯蔵されたモノアミンの顕著な減少による変化に一致すると考えられる（Andersson et al., 2006; Benvenga et al., 1992; Tanra et al., 1995; Calne and Webster, 1969）．実際に，非臨床毒性試験の高用量における一般状態の変化として，活動性減少，眼瞼下垂（閉眼，部分閉眼），嗜眠，横臥，運動失調及び／又は振戦が観察された．また，これらの症状の一部又は全部が，すべての動物種（マウス，ラット，雌ウサギ及びイヌ）で一貫して認められた．なお，ヒトでの VMAT2 に対する NBI-98854 及びその代謝物の結合親和性はラットと同程度である（2.6.2）．マウス，ウサギ及びイヌの VMAT2 に対する親和性は評価していないが，VMAT2 阻害に由来すると考えられる一般状態の変化がすべての動物種で確認されている．

ドパミン遊離抑制又はドパミン D2 受容体拮抗作用により，げっ歯類及びヒトにおいて高プロラクチン血症が誘発される（Login et al., 1983; Torre and Falorni, 2007）．高プロラクチン血症

に関連した変化がげっ歯類（Ose et al., 2009; Lucas et al., 2007）及びヒト（Peuskens et al., 2014）で報告されている．実際に，NBI-98854 の投与により，ラット及びマウスでは，様々な血液学的又は血液生化学的検査パラメータの軽度の変化，副腎重量増加，乳腺過形成及び／又は雄性乳腺の雌型分化が認められたが，これらの変化はイヌを用いた毒性試験では認められなかった．このことは，NBI-98854 投与による血清プロラクチン増加がラットで認められた（2.6.2.2.2.3）が，イヌでは認められなかったことに一致する（2.6.6.3.2.3.2）．また，げっ歯類では高プロラクチン血症によって発情間期の持続も引き起こされる（Rehm et al., 2007）．この発情間期の持続は NBI-98854 の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観察された（2.6.6.6.1.1）．臨床試験での高プロラクチン血症に関する考察は，臨床安全性の項で示している（2.7.4.3）．

2.6.6.9.2　一般毒性試験

NBI-98854 の毒性については，単回及び反復経口投与による評価がマウス（最長 91 日間），ラット（最長 6 ヶ月間）及びイヌ（最長 9 ヶ月間）を用いて実施され，反復毒性試験における NOAEL は，マウスでは 60 mg/kg/日，ラットでは 3 mg/kg/日，イヌでは 15 mg/kg/日であった．なお，ラット及びイヌ単回試験の致死量は 100 mg/kg 及び 80 mg/kg，マウス，ラット及びイヌ反復投与時の致死量はそれぞれ 100 mg/kg/日，10 mg/kg/日及び 35 mg/kg/日であった．ラットにおいては VMAT2 阻害作用が強い活性代謝物 NBI-98782 の曝露量がより高かったことに起因して，マウス又はイヌと比較して，ラットでは脳内モノアミン減少に一致する変化がより強力に認められた．イヌにおける NBI-98854 の薬物動態プロファイルがヒトのプロファイルと類似していること（NBI-98854 の血漿中濃度は NBI-98782 と比較して高い）などから，イヌを一般毒性試験における非げっ歯類の動物種として選択した．

2.6.6.9.2.1　一般状態

げっ歯類及び非げっ歯類を用いた毒性試験で NBI-98854 投与後に認められた一般状態の変化の大部分は可逆的で，一過性のモノアミン遊離抑制によって発現が予想されるものに一致していた（2.6.6.9.1）．その内訳は，活動性減少，眼瞼下垂（閉眼，部分閉眼），嗜眠，横臥，運動失調及び／又は振戦であった．

反復投与毒性試験において，反復投与後の投与前の活動性に，げっ歯類と非げっ歯類の間で顕著な違いが認められた．げっ歯類（幼若マウス，成獣マウス及び成獣ラット）では活動性増加が認められたのに対し，イヌでは認められなかった．活動性増加は，投与の 22～23 時間後の NBI-98854 及び NBI-98782 の予想血漿中濃度が極めて低い又は定量限界未満である時点で認められたが，休薬期間開始の数日後には消失していた．

イヌでは，単回／7 日間反復経口投与毒性試験（2.6.6.2.2.1／2.6.6.3.1.3.1）及びイヌ 14 日間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.3.1）において，痙攣発作又は痙攣が NBI-98854 の 35 mg/kg/日以上で観察された．この現象は NBI-98854 に起因すると考えられた．その理由として，NBI-98782 の投与後には痙攣及び痙攣発作は認められず，その時の NBI-98782 の C_{max} は最大で

2.4 µg/mL（NBI-98782 15 mg/kg/日，雌雄平均値）であり，痙攣が認められた NBI-98854 35 mg/kg/日投与後における NBI-98782 の平均 C_{max} である 0.40 µg/mL（雌雄平均値）より明らかに高かったことが挙げられる（表 2.6.6.9－1）．イヌを用いた毒性試験における NBI-98854 の最高曝露量と痙攣発作及び痙攣発現との関係を図 2.6.6.9－1 に示す．イヌにおける痙攣は血漿中 C_{max} が高い試験で観察され，痙攣に関する閾値は 10 µg/mL 付近であり，この値は母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の C_{max} 556 ng/mL｛non-PM（poor metabolizer）被験者の値｝（2.7.2.3.3.5.1.4）の約 18 倍であった．イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験では，20 mg/kg/日まで痙攣発作／痙攣は認められなかった（2.6.6.3.2.3.2）．また，イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験では，15 mg/kg/日（NBI-98854 の C_{max} 雌雄平均値：10,300 ng/mL）まで痙攣発作／痙攣は発現しないことが EEG により確認された（2.6.6.3.2.3.3）．10 及び 15 mg/kg/日では，EMG により明らかな筋振戦が認められたが，筋振戦時においても EEG は正常範囲内であり，痙攣発作及び前痙攣発作パターンの徴候は認められなかった．91 日間及び 9 ヶ月間の長期毒性試験では，最高用量（それぞれ 20 及び 15 mg/kg/日）において痙攣及び／又は痙攣発作は認められなかったことから，イヌで痙攣が誘発されるのは NBI-98854 が非常に高い曝露量に達する場合のみであることが示唆された．

表 2.6.6.9－1　イヌを用いた毒性試験における曝露量及び痙攣の有無

用量	試験期間（TK 実施日）	NBI-98854[a]		NBI-98782[a]		痙攣
		C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	
NBI-98854 40 mg/kg/日	7 日間（最終日）	23,900	175,000	705	9,680	あり
NBI-98854 60 mg/kg/日	7 日間（最終日）	15,400	133,000	524	6,730	あり
NBI-98854 80 mg/kg/日	単回[b]	15,600	98,900	448	5,650	あり
NBI-98782 15 mg/kg/日	14 日間（最終日）	NA	NA	2,440	7,060	なし
NBI-98854 35 mg/kg/日	14 日間（1 日目）[c]	16,300	74,700	400	4,460	あり
NBI-98854 20 mg/kg/日	91 日間（最終日）	7,800	48,500	453	5,970	なし[d]
NBI-98854 15 mg/kg/日	9 ヶ月間（最終日）	10,300	62,600	264	3,390	なし[e]

データの出典：報告書[redacted]-3327（イヌ単回／7 日間反復経口投与毒性試験）；報告書[redacted]-3332（イヌ 14 日間反復経口投与毒性試験）；報告書 20008482（イヌ 91 日間反復経口投与毒性試験）；報告書 20028697（イヌ 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験）

NA＝ 該当せず

a) 曝露量レベルは雌雄の平均値として報告した．すべてのデータは有効数字 3 桁で表示した．
b) 懸濁液及びカプセルを用いた投与群の平均を記載した．
c) 痙攣は 35 mg/kg/日で観察された．1 日目の TK データのみが利用可能である．
d) 一般状態の変化のみに基づく．
e) 一般状態の変化及び EEG 測定値に基づく．

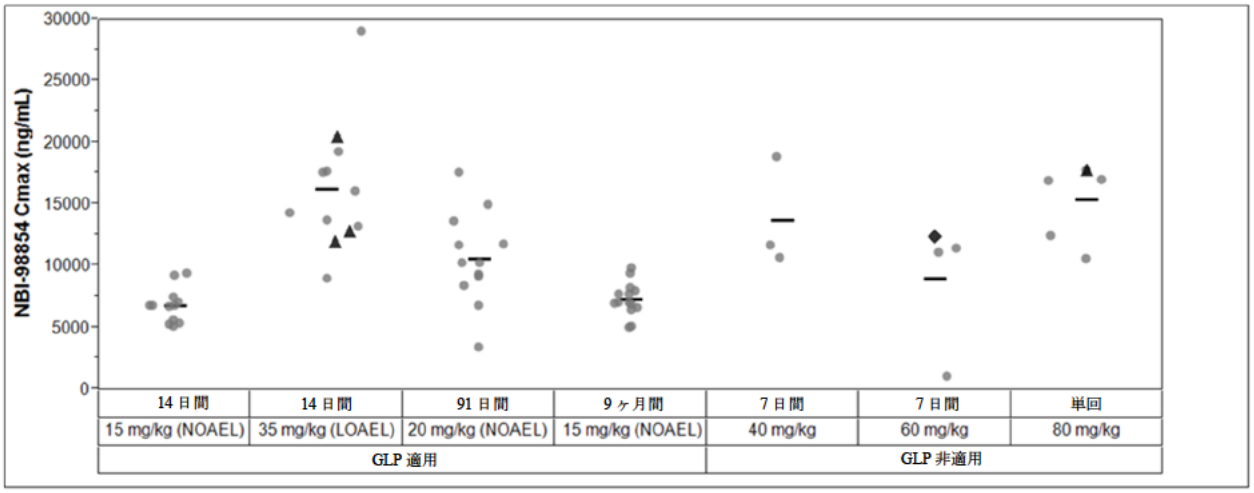


図 2.6.6.9－1　イヌを用いた毒性試験における NBI-98854 の最高曝露量と痙攣発作及び痙攣発現との関係（試験 1 日目）

―= 平均 C_{max}；● = 痙攣なし；▲= 痙攣あり；♦= 痙攣発作
データの出典：報告書[redacted]-3327（イヌ単回／7 日間反復経口投与毒性試験）；報告書[redacted]-3332（イヌ 14 日間反復経口投与毒性試験）；報告書 20008482（イヌ 91 日間反復経口投与毒性試験）；報告書 20028697（イヌ 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験）

ラットでは痙攣が 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験のみで認められた（2.6.6.3.2.2.3）．その内容は，散発的攣縮，ミオクローヌス発作及び／又は間代性痙攣が，投与期間中に 10 mg/kg/日以上の少数例で観察された（表 2.6.6.3－20）．これらのミオクローヌス発作及び痙攣の発現時期には NBI-98854 及び NBI-98782 の t_{max} との関連は認められず，投与時及び／又は動物の取り扱い時と同時に発現した．このように，ラットで認められた痙攣は，明らかにイヌとは発現様式が異なると考えられた．

2.6.6.9.2.2　体重及び摂餌量

ラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.2.3）において，NBI-98854 の 3 mg/kg/日以上で，対照群と比較して体重減少が認められた．体重減少はラットで NBI-98854 の反復投与後の投与前に認められた活動性増加に起因する可能性がある．活動性増加は 3 mg/kg/日以上のすべての用量で投与開始 2～4 週間後以降，用量依存的に発現することが示され（10～15 mg/kg/日で発現頻度増加），投与期間を通じてすべての NBI-98854 投与群で持続的に観察された．雄ラットでは，体重減少に関連する摂餌量減少が，投与期間を通じて認められた．雌ラットでは，ラット 91 日間及び 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験のいずれにおいても，摂餌量減少が投与開始後の最初の 2～4 週間にわたって認められたが，その後，投与終了までの期間には摂餌量増加が認められた．雌ラットにおける摂餌量減少と体重減少との不一致は，上記の活動性増加に起因する可能性に加えて，雌ラットで摂餌量を増加させることが報告されている高プロラクチン血症に起因する可能性もある（Gerardo-Gettens et al., 1989）．一方，NBI-98854 を 15 mg/kg/日までの用量でイヌに長期投与したところ，明らかな体重減少のパターンは認められなかった．

2.6.6.9.2.3　血液学的検査及び血液生化学的検査

ラットの血液学的検査では，統計学的に有意なリンパ球及び好酸球の減少が認められたが，これらはストレス反応に一致しており，反復投与後の投与前に認められた活動性増加に起因する睡眠パターンの乱れに関連している可能性が考えられた．ラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験で認められた平均赤血球容積の高値は，ドパミン阻害による二次的変化であるプロラクチン分泌増加も寄与した可能性がある（Ose et al., 2009）．いずれの反復投与毒性試験においても，感染症の発現及び免疫系組織の病理組織学的所見は認められなかったことから，これらの変化には毒性学的意義はないと考えられ，NBI-98854 には免疫抑制作用はないことが示された．その他の血液学的検査パラメータについても統計学的に有意な変動が認められたが，いずれも軽度又は背景値の範囲内であり，休薬により部分的又は完全な回復性が認められた．また，血液生化学的検査パラメータにも幾つかの変化が認められたが，同様に毒性学的意義はないと考えられた．アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ／アラニン・アミノトランスフェラーゼの軽度の増加に関連する病理組織学的変化は認められなかった．血液生化学的検査パラメータ及び尿検査パラメータにおけるその他の変化は，血液濃縮に関連するもの（BUN，クレアチニン，ナトリウム及びクロールの増加，尿濃度増加並びに尿量減少）又は高プロラクチン血症に関連するもの（グルコース，アルブミン，グロブリン，アルブミン／グロブリン比，トリグリセリド及びリンの変化；Ose et al., 2009）であった．臨床検査で認められた残りの変化のメカニズムは不明であったが，程度が小さかったことから，毒性学的に重要ではないと考えられた．上記の臨床検査の変化は，NBI-98854 をイヌにより高い曝露量でより長期間投与しても認められなかった．なお，NBI-98854 の臨床試験では，プロラクチンを除き，血液学的及び血液生化学的検査パラメータに明らかな傾向のある変化は認められなかった（2.7.4.3-(2)[海外試験]）．

2.6.6.9.2.4　病理組織学的検査

マウス，ラット及びイヌを用いたすべての主要な毒性試験において，神経病理学者による詳細な脳の病理組織学的検査を実施した．最長 91 日間の毒性試験では，脳組織を詳細に評価するため，標準的な脳組織検査に加えて，ドパミンが豊富な領域（すなわち黒質及び線条体）を含む脳切片を作製し，星状膠細胞反応を評価するための GFAP 染色，神経細胞壊死を評価するための Fluoro-Jade B 染色及び／又はドパミン作動性ニューロンマーカーであるチロシンヒドロキシラーゼに対する染色を実施した．長期反復投与毒性試験（ラット 6 ヶ月間及びイヌ 9 ヶ月間）において，神経病理学的変化がないことを確認するため，広範な領域に対して脳切片作製を実施した．ラットでは，髄膜，古皮質，黒質を含む中脳及び延髄が含まれる脳の 8 切片について病理組織学的検査を実施した．イヌでは脳の 14 個以上のブロックから少なくとも計 15 枚の切片を作製した．その中には前頭前野皮質から脳幹に及ぶ脳のすべての主要な領域が含まれており，黒質及び線条体の領域（尾状核被殻領域）が切片中に存在するように作製した．これらの詳細な評価の結果，マウス，ラット及びイヌを用いた NBI-98854 の試験のいずれにおいても，脳に病理組織学的所見は認められなかった．

マウス（2.6.6.3.2.1.1）及びラット（2.6.6.3.2.2）で認められた乳腺小葉過形成，卵巣の好酸性

非変性性黄体増加，子宮重量の減少を伴う子宮筋層の細胞小型化，肉眼的に少数の嚢胞を伴う子宮の脱落膜反応，膣の粘液変性／萎縮及び／又は副腎皮質の血管拡張は，2.6.6.9.1 で考察したように，NBI-98854 の抗ドパミン作用によって引き起こされたプロラクチン増加による二次的変化（Greaves, 2012; Lucas et al., 2007; Ose et al., 2009）と考えられた．NBI-98854 のいずれの毒性試験においても，エストロゲンの変動を示唆する病理組織学的変化（子宮内膜嚢胞の形成，子宮の扁平上皮化生並びに膣及び子宮頸部粘膜の過形成など）（Rudmann and Foley, 2013）は認められなかった．したがって，げっ歯類の反復投与毒性試験で認められた病理組織学的変化は，エストロゲンの関与を伴わない高プロラクチン血症に起因すると考えられた．これらのデータは，ドパミン拮抗剤をラットに投与した際に報告されたデータに類似している（Rudmann and Foley, 2013）．これらの所見は，いずれもイヌを用いた最長 9 ヶ月間の毒性試験では認められなかった．

プロラクチンが有する生物学的作用の種差を考慮すると，げっ歯類で認められた高プロラクチン血症起因の変化の幾つかは，ヒトでは発現しないと予想される．げっ歯類及びヒトの双方で，ドパミンを阻害する薬剤により高プロラクチン血症が生じるが，げっ歯類とヒトでは，プロラクチンの作用に特筆すべき違いがある．げっ歯類ではプロラクチンの黄体刺激作用による変化が，子宮（過形成／肥大）及び膣（粘液変性）に認められるが，ヒトでは認められない（Rudmann and Foley, 2013）．乳腺に対するプロラクチンの作用にも種特異性が認められる．ラットではプロラクチンが乳腺の器官形成及び成熟に関与し，妊娠及び授乳のいずれにおいても不可欠な因子であることが示されている．一方，ヒトでは，プロラクチンは授乳期のみにおいて乳腺の調節に重要な役割を果たす（Russo, 2015）．このため，乳腺に対する持続的な高プロラクチン血症の影響は，ヒトと比較してげっ歯類の方がより顕著になる可能性がある．

ラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.2.3）において，網膜変性（光網膜症）が 3 mg/kg/日以上で認められたが，系統／飼育方法特異的な結果の可能性があることから，NOAEL の規定要因から除外した．*In vitro* 光毒性試験は陰性であった（2.6.6.8.3.1）．イヌでは 9 ヶ月間投与後の NBI-98854 への全身曝露量がラットより高く，NBI-98782 への全身曝露量はラットと同程度であったが，網膜変性は認められなかった．国内第 I 相臨床試験（CSR MT-5199-J01 試験）で眼科検査（視力・色覚検査）が実施されたが，治験責任（分担）医師がベースラインからの変動に臨床的に意義があると判定した異常変動及び所見は認められなかった．また，網膜変性との関連が疑われる有害事象も認められなかった．

CbyB6F1 マウスを用いた反復経口投与毒性試験（28 日間）及び rasH2 Tg マウスを用いた反復経口投与がん原性試験（26 週間）の両方において，鼻腔の滲出性炎が雌雄の動物で観察された（2.6.6.5.2.1 及び 2.6.6.5.2.2）．この所見がマウスに特異的であるか否かを判定するため，その後実施したラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験及びイヌ 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.2.3 及び 2.6.6.3.2.3.3）では，鼻腔の詳細な検査を実施するために鼻腔の複数の切片を検査した結果，CbyB6F1 マウスで到達した曝露量と同程度又はそれより高い曝露量であっても，NBI-98854 起因の変化は認められなかった．したがって，この所見はマウス特異性が高いと判断した．また，CbyB6F1 マウスにおける鼻腔の病変は，強制経口投与時に投与液が逆

流した結果，酸性投与液の局所刺激によって生じた可能性があることから，被験物質に起因する直接的な毒性変化ではないと考えられた. CD-1 マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2.1.1）では鼻腔の組織検査を実施しなかったため，この所見が系統特異的かは判断できなかった.

CbyB6F1 マウス（2.6.6.5.2.1）において，肝細胞の小葉中心性肥大が認められた．雌雄ともにグリコーゲン減少も認められていることから，小葉中心性肥大によって生じると考えられる肝重量の変化が認められなかった可能性が高い．小葉中心性肥大は幼若の CD-1 マウスにも観察されたが（2.6.6.6.4.2），成獣の CD-1 マウス及び他の動物種（ラット及びイヌ）では，同程度の曝露量でより長期間投与した場合にも認められなかった．反復投与後に NBI-98854 及びその代謝物への全身曝露量低下がみられたことから，この所見は酵素誘導に起因する適応性変化の可能性があると考えられた.

2.6.6.9.3　遺伝毒性試験

NBI-98854 について，細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 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を実施した．これらの試験では NBI-98854 のヒトで検出される代謝物（NBI-98782，NBI-136110 及び NBI-679006）について直接の検討は実施しなかったが，これらすべての NBI-98854 代謝物の生成が，Ames 試験及び染色体異常試験で使用した NADPH 強化 Aroclor-1254 誘導ラット S9 画分に相当した *in vitro* 系（報告書[redacted]-98854-001-MT），*in vivo* では[^{14}C]NBI-98854 単回投与後のラット（報告書[redacted]-98854-001-MT）及びげっ歯類の毒性試験（報告書[redacted]-2064，報告書 20008481，報告書 8271662）で示されている．この理由により，NBI-98782，NBI-136110 及び NBI-679006 については，実施した遺伝毒性試験で安全性が確認されていると考えられる.

NBI-98854 の変異原性及び染色体構造異常誘発能を検討するため，*in vitro* 遺伝毒性試験（Ames 試験及び染色体異常試験；それぞれ 2.6.6.4.1 及び 2.6.6.4.2）を，S9 代謝活性化の存在下及び非存在下で実施した．Ames 試験では，最高濃度として限界濃度の 5,000 µg/プレートで試験を実施した．染色体異常試験で検討した NBI-98854 の最高濃度では，分裂指数が望ましい程度の約 50%に抑制されることが示された．これらの条件下で *in vitro* 遺伝毒性試験はいずれも陰性であった.

ラットを用いた小核試験（2.6.6.4.3）を 60 mg/kg までの用量での単回投与により実施した結果，陰性であった. なお，GLP 適用のラット 14 日間反復経口投与毒性試験で 1 日目に 50 mg/kg/日の用量で測定された NBI-98854 の雌雄平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は，それぞれ 3,780 ng/mL 及び 40,500 ng· h/mL であった（報告書[redacted]-2064）．これらの曝露量は，母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の曝露量（non-PM 被験者の値：C_{max} = 556 ng/mL，$AUC_{0\text{-}tau}$ = 5,350 ng· h/mL）（2.7.2.3.3.5.1.4）と比較して，C_{max} で 6.8 倍，$AUC_{0\text{-}24}$ で 7.6 倍である.

以上の試験成績から，NBI-98854 及び代謝物には遺伝毒性はないと考えられた.

2.6.6.9.4　がん原性試験

NBI-98854 のがん原性を，ラット（2.6.6.5.1.1）及び rasH2 Tg マウス（2.6.6.5.2.2）を用いて，それぞれ 104 週間及び 26 週間の反復経口投与により評価した．

ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験では，事前に規定された生存エンドポイントに従って，雄及び雌の全例をそれぞれ 91 週目及び 91～92 週目に安楽致死させた．乳腺の腫瘍病変（線維腺腫，腺腫及び癌）の発現頻度のごく軽度の増加が，NBI-98854 2 mg/kg/日の雌で認められた．NBI-98854 のようなドパミン遊離抑制薬の投与に関連した高プロラクチン血症による二次的変化として，げっ歯類特異的でヒトへの関連性はないと考えられるプロラクチン介在性乳腺腫瘍が発現すると予想することは妥当である（Jacobson-Kram D. White paper: Review of the NBI-98854 rat carcinogenicity study findings）．しかし，発現頻度には統計学的有意差は認められなかった．また，腫瘍発現時期にも有意差は認められなかった．これらのことから，NBI-98854 をラットに投与しても腫瘍性病変の発現頻度を増加させなかったと結論された．

マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験において，腫瘍性病変の発現頻度増加は認められなかった．

以上のとおり，NBI-98854 は，ラットでは 2 mg/kg/日まで，rasH2 Tg マウスでは 75 mg/kg/日までの用量でがん原性を示さなかったことから，本薬にはヒトにおけるがん原性のリスクはないと考えられた．

2.6.6.9.5　生殖発生毒性試験

ヒトの VMAT2 に対する NBI-98854 及び NBI-98782 の結合親和性はラットの値と同程度であるが，ウサギの VMAT2 に対する親和性は評価されていない．しかし，ラット及びウサギの生殖発生毒性試験において，NBI-98854 の薬理作用（VMAT2 阻害作用）に起因すると考えられる変化が認められた．ラット及びウサギにおける部分閉眼（眼瞼下垂）及び活動性減少は，モノアミン減少の徴候であった．ラットにおける発情間期の延長及びそれに伴う交配所要日数の延長は，ドパミン遊離抑制による二次的変化である高プロラクチン血症の結果として生じた可能性がある（Rehm et al., 2007）．

NBI-98854 の受胎能及び初期胚発生に対する影響を，ラットを用いて評価した（2.6.6.6.1.1）．帝王切開パラメータ，雄性生殖器官重量，精子運動能及び精子数パラメータには，NBI-98854 投与による影響は認められなかった．NBI-98854 の高用量の 10 mg/kg/日において，薬理作用である VMAT2 阻害による高プロラクチン血症に起因したと考えられる性周期及び交配所要日数の延長が認められた．また，10 mg/kg/日では雌雄の受胎率の低下が認められた（対照群の 100%と比較して 10 mg/kg/日で 77%）．一般状態の変化として，NBI-98854 の薬理作用に基づくと考えられる活動量減少や部分閉眼（眼瞼下垂）が認められ，今回の試験における受胎率低下は，雄における一般状態の変化が交尾行動に影響した可能性が考えられた．ラットが交尾した場合であっても，妊娠の開始には，十分に雌を刺激するために間隔をおいて複数回交尾することが必要である．雌における神経内分泌反射弓の引き金を引くためには，雄からの十分な子宮頸部刺激を受けなければならない（Frye and Erskine, 1990）．また，10 mg/kg/日では発情間期の

持続（連続 4 日以上）を示す雌の数が増加した．これはドパミン拮抗を機序とするプロラクチン分泌亢進薬の作用に一致しており，交配期間が 3 週間未満の場合には，それに関連してラットの交尾率が低下することが報告されている（Rehm et al., 2007）．以上の結果から，親動物の生殖能に関する NOAEL は 3 mg/kg/日と判断された．帝王切開パラメータにおいて NBI-98854 投与に起因する所見は認められなかったことから，初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった．

NBI-98854 の胚・胎児発生毒性評価を，ラット（2.6.6.6.2.2）及びウサギ（2.6.6.6.2.3）を用いて実施した．ラットでは，母毒性として，活動性減少及び部分閉眼が 15 mg/kg/日で観察され，体重，体重増加量及び摂餌量の低値が，対照群と比較して 5 及び 15 mg/kg/日で用量依存的に認められた．しかし，母毒性が認められたにもかかわらず，催奇形性を含む胚・胎児の生存性，成長及び発生には，NBI-98854 起因の変化は認められなかった．このため，ラットにおける胚・胎児発生に対する NOAEL は 15 mg/kg/日と判断された．ウサギでは，部分閉眼及び活動性減少並びに摂餌量及び体重の低値が，50 及び 100 mg/kg/日で認められた．平均胎児体重の有意な減少が 100 mg/kg/日で認められたが，母動物の摂餌量低下がウサギの胎児発生に影響を及ぼすことが報告されており（Petrere et al., 1993 及び Cappon et al., 2005），平均胎児体重への影響は母動物の摂餌量低下による二次的変化と考えられた．第 5/6 胸骨分節の不完全骨化及び第 6 胸骨分節の未骨化が，100 mg/kg/日において有意に高い発現頻度で認められた．これらの骨格変異はウサギで一般的に認められるものであり，また 100 mg/kg/日での母体体重減少及び摂餌量減少による二次的変化の胎児成長遅延に関連している可能性があった（Cappon et al., 2005; Carney and Kimmel, 2007）．以上のことから，ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験において，催奇形性は認められず，胚・胎児発生に関する NOAEL は 50 mg/kg/日と考えられた．

NBI-98854 の出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に対する影響を，ラットを用いて評価した（2.6.6.6.3.1）．3 及び 10 mg/kg/日における母毒性として，眼瞼下垂，全身振戦，立毛，過呼吸，円背位，赤色膣周囲物質，自発運動減少及び／又は軽度の脱水（皮膚緊張に基づく），体重減少，体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた．死産児数及び哺育期間中の死亡児数の増加並びに生存出生児数，生存同腹児数／母体当たりの生存児数及び出生児体重の減少が，3 及び 10 mg/kg/日で認められた．10 mg/kg/日では児の死亡率が高かったため，この母動物投与群は離乳時に解剖した．3 mg/kg/日の出生児では死亡の発現頻度増加が認められた．NBI-98854 及びその代謝物は胎盤血液関門を通過することが知られており（薬物動態試験概要表, 2.6.5.5.3, 報告書 [redacted]-98854-002-PK），母乳中にも認められた（報告書 20068205，付表 38）．しかし，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では 15 mg/kg/日まで胚・胎児毒性が認められないことから，胎児曝露による直接作用により死産に至った可能性は低く，母毒性による二次的な影響が死産の主な要因であると考えられた．また，乳汁移行はあるものの，乳汁を介した本薬の代謝物の出生児血漿中濃度は低く，生後 5 日以降の出生児死亡はほとんど認められないことから，出生児の死亡率上昇についても本薬の直接作用に起因する可能性は低く，上記の被験物質投与に起因した母動物における一般状態の変化により，二次的に母動物の哺育行動に影響したことが，児の死亡率上昇に寄与した可能性が考えられた．性成熟，聴覚性驚愕馴化，自発運動

量，M 型水迷路成績，性周期，交尾能及び受胎能，剖検所見，F1 世代雄の生殖器官重量並びに F1 世代雌の卵巣及び子宮検査所見には，NBI-98854 投与に起因した変化は認められなかった．F0 親動物の一般毒性及び F1 世代の発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日と判断された．

2.6.6.9.6　幼若動物を用いた毒性試験

NBI-98854 を，幼若 CD-1 マウスに生後 21 日から生後 91 日まで 10 週間反復経口投与した後，休薬期間をおき，全身，神経行動及び生殖への影響並びに回復性を評価した（2.6.6.6.4.2）．本試験では大腿骨長の測定による骨成長の評価に加え，中枢神経系評価として脳組織の詳細な病理組織学的検査を実施した．本試験の所見において，成獣のマウス，ラット及びイヌを用いた毒性試験と比較して特有の毒性及び毒性の増強は認められなかった．幼若マウスの試験で認められた所見の要約及び全体的な結論を表 2.6.6.9－2 に示す．

表 2.6.6.9－2　幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験における結論の要約

試験パラメータ	所見／結論	NOAEL／NOEL 用量
一般毒性	NBI-98854 の関与が否定できない死亡が 90 mg/kg で認められた	NOAEL 60 mg/kg/日
骨成長	大腿骨長への影響なし	NOEL 90 mg/kg/日（HDT）
神経行動評価	自発運動量増加（部分的に回復）	NOEL 30 mg/kg/日未満
生殖発生及び受胎能	影響なし	NOEL 90 mg/kg/日（HDT）

HDT = 検討した最高用量；NOEL = 無影響量；NOAEL = 無毒性量

2.6.6.9.7　光毒性試験

NBI-98854 は 275 nm 付近で最大吸収波長をもち，また Long Evans ラットの光に曝露される組織（すなわち眼及び皮膚）に分布することが示されている（表 2.6.5.5.1，報告書 [redacted]02927）．このため，NBI-98854 の光毒性のリスクの有無を確認する目的で，BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験を実施した（2.6.6.8.3.1）．NBI-98854 はこの試験において光毒性を示さなかったことから，ヒトにおける光毒性のリスクはないと考えられた．

2.6.6.9.8　代謝物 NBI-136110 の全身曝露量に基づく安全域

ヒト血漿中において，NBI-98854 並びにその代謝物である NBI-98782，NBI-136110 及び NBI-679006 が検出され，それぞれ総曝露量の 42.4%，9.9%，12.7%及び 8.2%であった（2.6.4）．NBI-98854 及びこれらの代謝物は，検討したすべての動物種の血漿において，程度に違いはあるが検出された（2.6.4 及び 2.6.5）．以下，ICH M3 (R2)ガイドラインに基づき総曝露量の 10%を超える NBI-136110 について，NBI-98854 の主要な反復投与毒性試験（各動物における最長の投与期間の試験：マウス 91 日間，ラット 6 ヶ月間及びイヌ 9 ヶ月間），生殖発生毒性試験及

びがん原性試験の NOAEL（又は腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量）に対する安全域を，それぞれ表 2.6.6.9－3，表 2.6.6.9－4 及び表 2.6.6.9－5 に要約した．安全域の算出には，健康成人に 40 mg 反復投与時の実測値を 2 倍（臨床最大用量に相当）したものを用いた（2.7.2.2）．

NBI-136110 は，マウス又はイヌを用いた反復経口投与毒性試験及びがん原性試験において十分曝露され，ヒトへの安全性が担保された．一方，ラット又はウサギを用いた試験においては，いずれの動物種においても安全域は 1 倍程度又は 1 倍未満であった．

表 2.6.6.9－3　NBI-98854 の反復投与毒性試験における代謝物 NBI-136110 の全身曝露量に基づく安全域

試験（報告書番号）／NOAEL	NBI-136110 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
マウス 91 日間試験 （報告書 20021098） NOAEL=60 mg/kg/日	1,340	8.3	13,700	5.2
ラット 6 ヶ月間試験 （報告書 8271662） NOAEL = 3 mg/kg/日	65.3	0.40	536	0.20
イヌ 9 ヶ月間試験 （報告書 20028697） NOAEL = 15 mg/kg/日 （HDT）	608	3.8	9,580	3.6

AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量

曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．

a)　報告値は，反復投与毒性試験の最終日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．

注：安全域の算出には，健康成人に 40 mg 反復投与時の実測値を 2 倍したものを用いた（2.7.2.2）．つまり，C_{max} = 162 ng/mL，AUC_{0-24} = 2,640 ng· h/mL である．

表 2.6.6.9－4　NBI-98854 の生殖発生毒性試験における代謝物 NBI-136110 の全身曝露に基づく安全域

試験（報告書番号）／NOAEL	NBI-136110 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 [b]（報告書 8235039） NOAEL（受胎能）= 3 mg/kg/日（上段） NOAEL（初期胚発生）= 10 mg/kg/日（HDT）（下段）	65.3	0.40	536	0.20
	128	0.79	1,460	0.55
ラット胚・胎児発生に関する試験 [c]（報告書 8235041） NOAEL（胚・胎児発生）= 15 mg/kg/日（HDT） 催奇形性なし	159	0.98	2,140	0.81
ウサギ胚・胎児発生に関する試験 [d]（報告書 8235046） NOAEL（胚・胎児発生）= 50 mg/kg/日 催奇形性なし	164	1.0	931	0.35
ラット出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験 [e]（報告書 20068205） NOAEL（母毒性）= 1 mg/kg/日 NOAEL（F1 出生児への影響）= 1 mg/kg/日	21.8	0.13	178	0.067

AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量

曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．

a) 報告値は，生殖発生又は反復投与毒性試験の最終日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．

b) この試験では TK 評価を実施しなかった．曝露量データはラット 6 ヶ月間反復投与毒性試験（報告書 8271662）の 3 又は 10 mg/kg/日のデータを用いた．

c) この試験では NBI-136110 の TK 評価を実施しなかった．曝露データはラット 6 ヶ月間反復投与試験（報告書 8271662）の 15 mg/kg/日のデータを用いた．

d) この試験では NBI-136110 の TK 評価を実施しなかった．曝露量データはウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（報告書 8235042）の非妊娠ウサギの 50 mg/kg/日のデータを用いた．

e) この試験では TK 評価を実施しなかった．曝露データはラット 6 ヶ月間反復投与試験（報告書 8271662）の 3 mg/kg/日のデータの 3 分の 1 の値を用いた．

注：安全域の算出には，健康成人に 40 mg 反復投与時の実測値を 2 倍したものを用いた（2.7.2.2）．つまり，C_{max} = 162 ng/mL，AUC_{0-24} = 2,640 ng· h/mL である．

表 2.6.6.9－5　NBI-98854 のがん原性試験における代謝物 NBI-136110 の全身曝露量に基づく安全域

試験（報告書番号）／腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量	NBI-136110 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
ラット 104 週間がん原性試験 （報告書 8299648） 2 mg/kg/日（HDT）	34.7	0.21	390	0.15
rasH2 Tg マウス 26 週間がん原性試験 （報告書 AD20XW.7G8R[redacted]） 75 mg/kg/日（HDT）	1,020	6.3	12,700	4.8

AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量
曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．
a)　報告値は，がん原性試験の最終検体採取日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．
注：安全域の算出には，健康成人に 40 mg 反復投与時の実測値を 2 倍したものを用いた（2.7.2.2）．つまり，C_{max} = 162 ng/mL，AUC_{0-24} = 2,640 ng· h/mL である．

2.6.6.9.9　NBI-98854 及び NBI-98782 の全身曝露量に基づく安全域

NBI-98854 及びその代謝物 NBI-98782 について，反復投与毒性試験，生殖発生毒性試験及びがん原性試験の NOAEL（又は腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量）に対する安全域を，それぞれ表 2.6.6.9－6，表 2.6.6.9－7 及び表 2.6.6.9－8 に要約した．安全域の算出には，母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の曝露量（non-PM 被験者の値）を用いた（2.7.2.3.3.5.1.4）．

表 2.6.6.9－6　反復投与毒性試験における NBI-98854 及び NBI-98782 の全身曝露量に基づく安全域

試験（報告書番号）／NOAEL	NBI-98854 の曝露量 [a]				NBI-98782 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}		C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
ラット 14 日間試験（報告書 [redacted]-2064） NOAEL = 15 mg/kg/日	1,460	2.6	7,280	1.4	574	15	5,300	6.8
イヌ 14 日間試験（報告書 [redacted]-3332） NOAEL（NBI-98854） = 15 mg/kg/日（上段） NOAEL（NBI-98782） = 15 mg/kg/日（HDT）（下段）	7,940	14	34,200	6.4	294	7.5	2,520	3.3
	NA	NA	NA	NA	(2,440)	(63)	(7,060)	(9.1)
マウス 91 日間試験（報告書 20021098） NOAEL= 60 mg/kg/日	6,120	11	25,300	4.7	212	5.4	1,630	2.1
ラット 91 日間試験（報告書 20008481） NOAEL = 15 mg/kg/日（HDT）	778	1.4	3,340	0.62	542	14	4,690	6.1
イヌ 91 日間試験（報告書 20008482） NOAEL = 20 mg/kg/日（HDT）	7,800	14	48,500	9.1	453	12	5,970	7.7
ラット 6 ヶ月間試験（報告書 8271662） NOAEL = 3 mg/kg/日	392	0.71	1,300	0.24	118	3.0	1,020	1.3
イヌ 9 ヶ月間試験（報告書 20028697） NOAEL = 15 mg/kg/日（HDT）	10,300	19	62,600	12	264	6.8	3,390	4.4

AUC_{0-24} = 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；NA = 該当せず；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量
曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．
a) 報告値は反復投与毒性試験の最終日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．直接投与後の NBI-98782 曝露量を括弧内に示す．
注：安全域の算出には，母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の曝露量（non-PM 被験者の値）を用いた（2.7.2.3.3.5.1.4）．シミュレーション値は，NBI-98854 について C_{max} = 556 ng/mL，AUC_{0-tau} = 5,350 ng· h/mL，NBI-98782 について C_{max} = 39.0 ng/mL，AUC_{0-tau} =775 ng· h/mL である．

表 2.6.6.9－7　生殖発生毒性試験における NBI-98854 及び NBI-98782 の全身曝露量に基づく安全域

試験（報告書番号）／NOAEL	NBI-98854 の曝露量 [a]				NBI-98782 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}		C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 [b]（報告書 8235039） NOAEL（受胎能）＝3 mg/kg/日（上段） NOAEL（初期胚発生）＝10 mg/kg/日（HDT）（下段）	131	0.24	539	0.10	83.0	2.1	775	1.0
	606	1.1	2,250	0.42	327	8.4	3,020	3.9
ラット胚・胎児発生に関する試験（報告書 8235041） NOAEL（胚・胎児発生）＝15 mg/kg/日（HDT） 催奇形性なし	480	0.86	4,230	0.79	362	9.3	4,740	6.1
ウサギ胚・胎児発生に関する試験（報告書 8235046） NOAEL（胚・胎児発生）＝50 mg/kg/日 催奇形性なし	1,530	2.8	6,030	1.1	174	4.5	1,320	1.7
ラット出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験 [c]（報告書 20068205） NOAEL（母毒性）＝1 mg/kg/日 NOAEL（F1 出生児への影響）＝1 mg/kg/日	20.5	0.037	133	0.025	26.4	0.68	274	0.35

AUC_{0-24} =24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量
曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．

a) 報告値は生殖発生又は反復投与毒性試験の最終日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．

b) この試験では TK 評価を実施しなかった．曝露量データはラット 91 日間反復投与毒性試験（報告書 20008481）の 3 又は 10 mg/kg/日のデータを用いた．

c) この試験では TK 評価を実施しなかった．曝露量データはラット胚・胎児発生に関する試験の妊娠 17 日における 1 mg/kg/日のデータを用いた．

注：安全域の算出には，母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の曝露量（non-PM 被験者の値）を用いた（2.7.2.3.3.5.1.4）．シミュレーション値は，NBI-98854 について C_{max} = 556 ng/mL，AUC_{0-tau} = 5,350 ng· h/mL，NBI-98782 について C_{max} = 39.0 ng/mL，AUC_{0-tau} =775 ng· h/mL である．

表 2.6.6.9－8　がん原性試験における NBI-98854 及び NBI-98782 の全身曝露量に基づく安全域

試験（報告書番号）／腫瘍性病変の発現頻度増加が認められなかった最大用量	NBI-98854 の曝露量 [a]				NBI-98782 の曝露量 [a]			
	C_{max}		AUC_{0-24}		C_{max}		AUC_{0-24}	
	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域	(ng/mL)	安全域	(ng·h/mL)	安全域
ラット 104 週間がん原性試験 （報告書 8299648） 2 mg/kg/日 （HDT）	122	0.22	597	0.11	71.8	1.8	718	0.93
rasH2 Tg マウス 26 週間がん原性試験 （報告書 AD20XW.7G8R[redacted]） 75 mg/kg/日 （HDT）	2,550	4.6	22,000	4.1	130	3.3	1,520	2.0

AUC_{0-24} =24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；HDT = 検討した最高用量；NOAEL = 無毒性量
曝露量データは有効数字 3 桁で表示した．安全域データは有効数字 2 桁で表示した．
a)　報告値はがん原性試験の最終検体採取日における雌雄平均の C_{max} 及び AUC_{0-24} である．
注：安全域の算出には，母集団薬物動態モデルによるシミュレーションから得られた臨床最大用量である 80 mg 反復投与時の曝露量（non-PM 被験者の値）を用いた（2.7.2.3.3.5.1.4）．シミュレーション値は，NBI-98854 について C_{max} = 556 ng/mL，AUC_{0-tau} = 5,350 ng· h/mL，NBI-98782 について C_{max} = 39.0 ng/mL，AUC_{0-tau} =775 ng· h/mL である．

マウス，ラット及びイヌを用いて実施した NBI-98854 の長期反復投与毒性試験において，NOAEL はマウスでは 60 mg/kg/日，ラットでは 3 mg/kg/日，イヌでは 15 mg/kg/日であった．ヒト 80 mg 反復投与時の曝露シミュレーション値（non-PM 被験者の値）と比較して，マウス及びイヌでは NBI-98854 の C_{max} 及び AUC について十分な安全域がある（表 2.6.6.9－6 及び表 2.6.6.9－8）．ラットでは NBI-98854 から NBI-98782 に効率的に代謝されるために NBI-98782 に対する十分な安全域があった一方で，NBI-98782 の有する強力な VMAT2 阻害作用に起因する所見により投与量に制限がかかっているために，NBI-98854 に対する安全域は 1 倍未満であった（表 2.6.6.9－6，表 2.6.6.9－7 及び表 2.6.6.9－8）．反復投与毒性試験の NBI-98854 の安全域は，C_{max} 及び AUC に関して，イヌ 9 ヶ月間試験ではそれぞれ 19 倍及び 12 倍，マウス 91 日間試験ではそれぞれ 11 倍及び 4.7 倍であるのに対し，ラット 6 ヶ月間試験での C_{max} 及び AUC に関する安全域は 1 未満であった．一方，生殖発生毒性試験については，いずれの動物種（ラット及び／又はウサギ）においても安全域が 1 倍程度又は 1 倍未満であった．NBI-98854 は遺伝毒性試験（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）で陰性であり，ラットを用いた 104 週間反復投与がん原性試験及び rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験において腫瘍性病変の発現頻度を増加させなかった．NBI-98854 はラットの受胎能に対して 10 mg/kg/日で影響を及ぼした（NOAEL は 3 mg/kg/日）が，これは高プロラクチン血症による二次的な雌の性周期中断又は雄の不十分な交尾行動に関連していると考えられる．初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった．ラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する NOAEL は，それぞれ 15 mg/kg/日及び 50 mg/kg/日であり，ラット及びウサギのいずれにおいても催奇形性及び直接的な胚・胎児への影響は認められなかった．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では，死亡産児及び早期出生児死亡の発現頻度増加が 3 mg/kg/日以上で認められたが，出生児死亡の増加は母動物の一般状態変化により生じた可能性がある．また，幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（投与期間は生後 21 日以降）では，成獣と比較して毒性の増強及び特有の毒性は認められなかった．結論として，NBI-98854 は予定している臨床用量において安全に使用することができ，重篤な副作用を起こす可能性は低いと考えられた．

2.6.6.10 参考文献

Andersson DR, Nissbrandt H, Bergquist F. Partial depletion of dopamine in substantia nigra impairs motor performance without altering striatal dopamine neurotransmission. Eur J Neurosci. 2006 Jul;24(2):617-24.

Benvenga MJ, Del Vecchio RA, Capacchione JF, Jerussi TP. An in vivo alpha-2 assay reversal of opioid-induced muscular rigidity and neuroleptic-induced ptosis. J Pharmacol Toxicol Methods. 1992 Mar;27(1):45-50.

Calne DB, Webster RA. Tremor induced by tetrabenazine. Br J Pharmacol. 1969 Oct;37(2):468-75.

Cappon GD, Fleeman TL, Chapin RE, Hurtt ME. Effects of feed restriction during organogenesis on embryo-fetal development in rabbit. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2005 Oct;74(5):424-30.

Carney EW, Kimmel CA. Interpretation of skeletal variations for human risk assessment: delayed ossification and wavy ribs. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2007 Dec;80(6):473-96.

Corrada Y, Rimoldi I, Arreseigor S, Marecco G, Gobello C. Prolactin reference range and pulsatility in male dogs. Theriogenology. 2006 Oct;66(6-7):1599-602.
de Gier J, Kooistra HS, Djajadiningrat-Laanen SC, Dieleman SJ, Okkens AC. Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17beta, progesterone, prolactin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. Theriogenology. 2006 Apr 15;65(7):1346-59.
De Vera Mudry MC, Kronenberg S, Komatsu S, Aguirre GD. Blinded by the light: retinal phototoxicity in the context of safety studies. Toxicol Pathol. 2013 Aug;41(6):813-25.
FDA Draft Guidance for Industry (2001) Statistical aspects of the design, analysis, and interpretation of chronic rodent carcinogenicity studies of pharmaceuticals. Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Maryland.
FDA ホームページ [Internet]. Maryland: Food and Drug Administration. [cited 2021 Dec 21]. Available from: https://www.fda.gov/media/116739/download
Frye CA, Erskine MS. Influence of time of mating and paced copulation on induction of pseudopregnancy in cyclic female rats. J Reprod Fert. 1990 Nov;90(2):375-85.
Gerardo-Gettens T, Moore BJ, Stern JS, Horwitz BA. Prolactin stimulates food intake in a dose-dependent manner. Am J Physiol. 1989 Jan;256(1 Pt 2):R276-80.
Greaves P. Chapter 13. Endocrine Glands. In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 4th Ed. Academic Press (New York); 2012.
Jacobson-Kram D. White paper: Review of the NBI-98854 rat carcinogenicity study findings.
Kimmel CA, Wilson JG.　Skeletal deviations in rats: malformations or variations? Teratology. 1973 Dec;8(3):309-16.
Levin S, Semler D, Ruben Z. Effects of two weeks of feed restriction on some common toxicologic parameters in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 1993;21(1):1-14.
Login IS, Cronin MJ, Harcus CT, MacLeod RM. Neuroendocrine evidence that tetrabenazine is a dopamine antagonist. Proc Soc Exp Biol Med. 1983 Feb;172(2):225-31.
Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, Irizarry AR, Peter A, Snyder PW. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol. 2007 Feb;35(2):199-207.
Noell WK, Walker VS, Kang BS, Berman S. Retinal damage by light in rats. Invest. Ophthalmol. 1966; 5(5):450-473.
Ose K, Miyata K, Yoshioka K, Okuno Y. Effects of hyperprolactinemia on toxicological parameters and proliferation of islet cells in male rats. J Toxicol Sci. 2009 Apr;34(2):151-62.
Petrere JA, Rohn WR, Grantham LE, Anderson JA. Food restriction during organogenesis in rabbits: effects on reproduction and the offspring. Fundam Appl Toxicol. 1993 Nov;21(4):517-22.
Peuskens J, Pani L, Detraux J, De Hert M. The effects of novel and newly approved antipsychotics on serum prolactin levels: a comprehensive review. CNS Drugs. 2014 May;28(5):421-53.
Rehm S, Stanislaus DJ, Wier PJ. Identification of drug-induced hyper- or hypoprolactinemia in the female rat based on general and reproductive toxicity study parameters. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2007 Jun;80(3):253-7.
Rudmann DG and Foley GL. Female Reproductive System. In: Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. 3rd ed. Haschek WM, Rousseaux CG, and Wallig MA, editors. ELSEVIER (Amsterdam); 2013; PP: 2599-2663.
Russo, J. Significance of rodent mammary tumors for human risk assessment. Toxicol Pathol. 2015 Feb;43(2):145-70.

Tanra AJ, Kagaya A, Okamoto Y, Muraoka M, Motohashi N, Yamawaki S. TJS-010, a new prescription of oriental medicine, antagonizes tetrabenazine-induced suppression of spontaneous locomotor activity in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1995 Sep;19(5):963-71.
Torre DL, Falorni A. Pharmacological causes of hyperprolactinemia. Ther Clin Risk Manag. 2007 Oct;3(5):929-51.

ジスバルカプセル 40mg
製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7　毒性試験概要表

田辺三菱製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.7　毒性試験概要表 6
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 6
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 13
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 16
2.6.7.3.1　NBI-98854 の C_{max} 16
2.6.7.3.2　NBI-98854 の AUC_{0-24} 18
2.6.7.3.3　NBI-98782 の C_{max} 20
2.6.7.3.4　NBI-98782 の AUC_{0-24} 23
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 26
2.6.7.5　単回投与毒性試験：探索的試験 28
2.6.7.5.1　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 1 28
2.6.7.5.2　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 2 29
2.6.7.5.3　イヌを用いた単回経口投与毒性試験 30
2.6.7.6　反復投与毒性試験：探索的試験 31
2.6.7.6.1　マウスを用いた 24 日間反復経口投与毒性試験 31
2.6.7.6.2　ラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験 33
2.6.7.6.3　ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験 34
2.6.7.6.4　ラットを用いた 12 日間反復経口投与毒性試験 36
2.6.7.6.5　イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験 38
2.6.7.7　反復投与毒性試験：主要な試験 39
2.6.7.7.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験 39
2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験 43
2.6.7.7.3　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験 48
2.6.7.7.4　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験 52
2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験 60
2.6.7.7.6　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験 65
2.6.7.7.7　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験 69
2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験 74
2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異スクリーニング試験 74
2.6.7.8.2　細菌を用いた復帰突然変異試験 76
2.6.7.8.3　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常スクリーニング試験 79
2.6.7.8.4　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 80
2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験 82

2.6.7.9.1　ラットを用いた小核試験 82
2.6.7.10　がん原性試験 83
2.6.7.10.1　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（5 日間） 83
2.6.7.10.2　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（28 日間） 84
2.6.7.10.3　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験 88
2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験 91
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：用量設定試験 95
2.6.7.11.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 95
2.6.7.11.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 96
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：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 98
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 102
2.6.7.13.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 102
2.6.7.13.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 105
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験 109
2.6.7.15　新生児を用いた試験 118
2.6.7.15.1　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 1 118
2.6.7.15.2　幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 2 120
2.6.7.15.3　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 1 121
2.6.7.15.4　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 2 123
2.6.7.15.5　幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験 124
2.6.7.16　局所刺激性試験 129
2.6.7.17　その他の毒性試験 129
2.6.7.17.1　BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験 129
2.6.7.17.2　分解物／不純物 NBI-139326 のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験 130
2.6.7.17.3　出発物質，不純物及び分解物の *in vitro* 遺伝毒性試験 131

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
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_{0-24}	area under the (plasma) concentration-time curve from zero up to 24 hours	24 時間後までの（血漿中）濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-tau}	area under the (plasma) concentration-time curve from zero up to at the end of a dosing interval	投与間隔の（血漿中）濃度-時間曲線下面積
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DI water	deionized water	脱イオン水
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline	ダルベッコりん酸緩衝溶液
EEG	electroencephalography	脳波検査
EP	epididymis	精巣上体
ER	endoreduplication	核内倍加
GD	gestation day	妊娠日齢
GFAP	glial fibrillary acidic protein	グリア線維性酸性たん白質
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
LD（又は DL）	lactation day	分娩後日齢
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MPCE	micronucleated PCE(s)	小核を有する多染性赤血球
MPE	mean photo effect	平均光作用
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NA	not applicable	該当せず
NC	not calculated	計算されず
NCE	normochromatic erythrocyte(s)	正染性赤血球
ND	not detected	検出されず
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
NS	not specified	特定されず

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
NZW	New Zealand White	－
PCE	polychromatic erythrocyte(s)	多染性赤血球
PIF	photoirritancy factor	光毒性係数
PM	poor metabolizer	代謝能が著しく低い又は欠損
PND	postnatal day	生後日齢
PP	polyploidy	倍数体
QL	quantification limit	定量限界
SD	Sprague Dawley	－
Tg	transgenic	トランスジェニック
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
UVA	ultraviolet A	紫外線 A 波
UVB	ultraviolet B	紫外線 B 波
UVR	ultraviolet radiation	紫外線放射

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Single-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	Single Dose	50, 100, 200	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-001-TX	NBI-98854
Single-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	Single Dose	0, 60, 80, 100, 150	No	[redacted]	[redacted]-2059	NBI-98854
Single-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Gavage/ Capsule	Single Dose	50, 80[c]	No	[redacted]	[redacted]-3327	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	24 days (M); 25 days (F)	0, 30, 100, 300, 600	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-007-TX	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	91 days	0, 10, 30, 60, 100, 300[d]	Yes	[redacted]	20021098	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	3 days	0, 50, 100	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-001-TX	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	≤ 6 days[e]	0, 60, 80, 100	No	[redacted]	[redacted]-2059	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	12 days	0, 15, 30, 60	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	Tox-HTBZ-98854-07-02	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	14 days	0, 15, 25, 50	Yes	[redacted]	[redacted]-2064	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	91 days	0, 1, 3, 10, 15	Yes	[redacted]	20008481	NBI-98854

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	6 months	0, 3, 10, 15	Yes	[redacted]	8271662	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	7 days	20, 40, 60	No	[redacted]	[redacted]-3327	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	7 days	5, 15	No	[redacted]	[redacted]-3327	NBI-98782
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	14 days	5, 15, 35/30[f]	Yes	[redacted]	[redacted]-3332	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	14 days	7.5, 15	Yes	[redacted]	[redacted]-3332	NBI-98782
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	91 days	0, 2, 5, 12.5, 20	Yes	[redacted]	20008482	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Beagle Dog	Oral Capsule	9 months	0, 3, 10, 15	Yes	[redacted]	20028697	NBI-98854
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	1 to 1,000 µg/plate	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	Ames-Prodrugs-98854-07-01	NBI-98854
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	10 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	6944-354	NBI-98854
Genotoxicity	Chromosomal Aberration[g]	*In vitro*	NA	7.81 to 1,000 µg/mL	No	[redacted]	6944-352	NBI-98854
Genotoxicity	Chromosomal Aberration[h]	*In vitro*	NA	7.0 to 3,580 µg/mL	Yes	[redacted]	6944-355	NBI-98854
Genotoxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	Single Dose	0, 15, 30, 60	Yes	[redacted]	AD20XW.125[redacted]	NBI-98854

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Carcinogenicity	CByB6F1 Mouse	Oral Gavage	5 days[i]	0, 30, 60, 100, 200, 400	Yes	[redacted]	AD20XW.2G3R[redacted]	NBI-98854
Carcinogenicity	CByB6F1 Mouse	Oral Gavage	28 days	0, 50, 100, 200	Yes	[redacted]	AD20XW.2G3R[redacted]	NBI-98854
Carcinogenicity	Tg.rasH2 Mouse	Oral Gavage	26 weeks	0, 10, 30, 75	Yes	[redacted]	AD20XW.7G8R[redacted]	NBI-98854
Carcinogenicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	104 weeks	0, 0.5, 1, 2	Yes	[redacted]	8299648	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	Males[j] Females[k]	0, 1, 3, 10[l]	Yes	[redacted]	8235039	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	GD 6 to GD 17	0, 1, 3, 10, 15	No	[redacted]	8235040	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	GD 6 to GD 17	0, 1, 5, 15[m]	Yes	[redacted]	8235041	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	GD 7 to LD 20	0, 1, 3, 10[n]	Yes	[redacted]	20068205	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	New Zealand White Rabbit	Oral Gavage	7 days	0, 7.5, 20, 50, 100[o]	No	[redacted]	8235042	NBI-98854

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Reproductive and Developmental Toxicity	New Zealand White Rabbit	Oral Gavage	GD 7 to GD 20	0, 25, 50, 75, 100[p]	No	[redacted]	8235042	NBI-98854
Reproductive and Developmental Toxicity	New Zealand White Rabbit	Oral Gavage	GD 7 to GD 20	0, 20, 50, 100[q]	Yes	[redacted]	8235046	NBI-98854
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	4 days	0, 90, 120[r]	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-008-TX	NBI-98854
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	4 days	0, 30	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-008-TX	NBI-98782
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	4 days	0, 90	No	[redacted]	[redacted]-866004	NBI-98854
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	14 days	0, 30, 60, 90	No	[redacted]	[redacted]-866005	NBI-98854
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	14 days[s]	0, 15, 30, 60, 90	Yes	[redacted]	[redacted]-866003	NBI-98854
Juvenile Toxicity	CD-1 Mouse	Oral Gavage	10 weeks	0, 30, 60, 90[t]	Yes	[redacted]	[redacted]-866006	NBI-98854

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity	Mouse Fibroblasts[u]	*In vitro*	NA	1.78 to 100 µg/mL	Yes	[redacted]	20072835	NBI-98854
Repeat-Dose Toxicity	Sprague Dawley Rat	Oral Gavage	14 days	0, 0.5	Yes	[redacted]	8293871	NBI-139326
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	313 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	8257823	NBI-83197
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	313 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	8257824	NBI-83199
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	1.5 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	AD26NP.503 [redacted]	NBI-638091
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	5 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	8338882	NBI-743407
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	320 to 5,000 µg/plate[v]	No	[redacted]	963041	NBI-139326
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	313 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	8231300	NBI-139326

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Test Article[b]
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	1.5 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	AD25XS.503[redacted]	NBI-139326
Genotoxicity	Ames	*In vitro*	NA	313 to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted]	8257825	NBI-83200[w]
Genotoxicity	Chromosome Aberrationa	*In vitro*	NA	80 to 1,100 µg/mL	Yes	[redacted]	AD25XS.341[redacted]	NBI-139326

GD = gestation day; LD = lactation day; NA = not applicable

a) No-Observed-Adverse-Effect-Level doses from pivotal studies are underlined.

b) NBI-98782 (metabolite), NBI-83197, NBI-83199, and NBI-83200 (starting materials), NBI-638091 (potential degradant) and NBI-743407 (impurities), and NBI-139326 (degradant) are metabolites, starting materials, impurities, or degradants of NBI-98854.

c) 80 mg/kg dose orally to two separate groups by gavage or capsule.

d) Due to excessive lethality and overt clinical observations, the 300 mg/kg dose group received a single dose only and was terminated early on Day 7 and a 60 mg/kg/day group was added by amendment.

e) The original planned study duration was for 7 days.　Due to mortality and/or adverse clinical signs (i.e., decreased body weight and food consumption), dosing was discontinued on Day 2 for the 80 and 100 mg/kg/day animals and on Day 6 for 60 mg/kg/day animals.

f) Based on the observation of convulsions at 35 mg/kg/day NBI-98854, the dose was lowered to 30 mg/kg/day on Day 10/11, respectively, to allow the remaining animals to survive through study termination.

g) One dose per assay was selected for analysis based on mitotic index reduction (target 50% to 60% reduction), as well as, number of analyzable metaphase cells.

h) The doses selected for analysis were based on mitotic index reduction. The maximum dose selected was the highest dose at which a sufficient number of analyzable metaphase cells were expected.　If possible, the highest dose selected suppressed mitotic index by about 50%.

i) All animals at 400 mg/kg/day were found dead or sacrificed in a moribund condition on Day 1 or Day 2.

j) Duration of dosing for males = 28 days prior to mating through scheduled sacrifice

k) Duration of dosing for females = 14 days prior to mating through GD 7

l) NOAEL for male and female fertility = 3 mg/kg/day; NOAEL for early embryonic development = 10 mg/kg/day.

m) NOAEL for maternal toxicity = 1 mg/kg/day; NOAEL for embryo fetal development = 15 mg/kg/day.

n) NOAEL for maternal toxicity = 1 mg/kg/day; NOAEL for development = 1 mg/kg/day; NOAEL for growth and reproduction (F_1 generation animals) = 3 mg/kg/day.

o) Doses used for non-pregnant phase.

p) Doses used in pregnant phase.

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

q) NOAEL for maternal toxicity = 20 mg/kg/day; NOAEL for embryo fetal development = 50 mg/kg/day.
r) The 120 mg/kg/day dose was added on Day 2 (PND 22) of the study and was dosed a total of 3 days (PND 22 to 24).
s) Initial dose levels were 0, 30, 60, and 90 mg/kg/day. Due to mortality for ≥ 30 mg/kg/day main study and toxicokinetic animals, dosing for the 90 mg/kg/day group was discontinued on PND 22 and a 15 mg/kg/day dose group was added. The study was terminated on PND 28 due to continuing mortality in 60 mg/kg/day main study and toxicokinetic animals. The total number of doses administered to main study animals surviving to termination on PND 28 was as follows: 0 mg/kg/day = 7 doses, 15 mg/kg/day = 1 dose, 30 mg/kg/day = 3 doses, 60 mg/kg/day = 7 doses, and 90 mg/kg/day = 2 doses.
t) NOAEL for juvenile systemic toxicity = 60 mg/kg/day; NOEL for neurobehavioral development <30 mg/kg/day; NOEL for reproductive toxicity = 90 mg/kg/day; NOEL for F_1 neonatal toxicity = 90 mg/kg/day
u) BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts
v) The Ames assay was first conducted in 24-well plate format (micro Ames) at 2.5 to 750 µg/well. A standard Ames assay was then conducted at 320 to 5,000 µg/plate to confirm results.
w) NBI-83200 tested positive in the Ames assay and, thus, is no longer used as a starting material in the synthetic route of NBI-98854.

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

Type of Study	Test System	Method of Administration[a]	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
4-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)[b]	Oral Gavage	0, 30, 90, and 120	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-008-TX
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)[b]	Oral Gavage	0, 90, and 150	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-013-TX
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)[b]	Oral Gavage	0, 15, 30, 60, and 90	Yes	[redacted]	[redacted]-866003
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)[b]	Oral Gavage	0, 30, 60, and 90	No	[redacted]	[redacted]-866005
24-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)	Oral Gavage	0, 30, 100, and 300	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	[redacted]-98854-007-TX
28-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CByB6F1)	Oral Gavage	0, 50, 100, and 200	Yes	[redacted]	AD20XW.2G3R[redacted]
10-Week Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)[b]	Oral Gavage	0, 30, 60, and 90	Yes	[redacted]	[redacted]-866006
91-Day Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)	Oral Gavage	0, 10, 30, 60, 100, and 300[c]	Yes	[redacted]	20021098
26-Week Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CByB6F1)[d]	Oral Gavage	0, 10, 30, and 75[e]	Yes	[redacted]	AD20XW.7G8R[redacted]
Maximum Tolerated Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 60, 80, 100, and 150	No	[redacted]	[redacted]-2059
7-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 60, 80, and 100	No	[redacted]	[redacted]-2059
12-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 15, 30, and 60	No	Neurocrine Biosciences, Inc.	Tox-HTBZ-98854-07-02
12-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)[f]	Oral Gavage	0, 1, 3, 10, and 15	No	[redacted]	8235040

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（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration[a]	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
12-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)[f]	Oral Gavage	0, 1, 5, and 15	Yes	[redacted]	8235041
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 15, 25, and 50	Yes	[redacted]	[redacted]-2064
35-day[g] Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)[f]	Oral Gavage	0, 1, 3, and 10	Yes	[redacted]	20068205
91-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 1, 3, 10, and 15	Yes	[redacted]	20008481
6-Month Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 3, 10, and 15	Yes	[redacted]	8271662
104-Week Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	Oral Gavage	0, 0.5, 1, and 2	Yes	[redacted]	8299648
14-Day Toxicity and Toxicokinetics[h]	Rabbit (NZW)[f]	Oral Gavage	0, 7.5, 20, 50, and 100 (nonpregnant phase) 0, 25, 50, 75, and 100 (pregnant phase)	No	[redacted]	8235042
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Rabbit (NZW)[f]	Oral Gavage	0, 20, 50, and 100	Yes	[redacted]	8235046
Maximum Tolerated Dose Toxicity and Toxicokinetics	Dog (Beagle)	Oral Gavage, Oral/Capsule	50 and 80[i]	No	[redacted]	[redacted]-3327
7-Day Toxicity and Toxicokinetics	Dog (Beagle)	Oral/Capsule	20, 40 and 60[j]	No	[redacted]	[redacted]-3327
14-Day Toxicity and Toxicokinetics	Dog (Beagle)	Oral/Capsule	0, 5, 15, and 35/30[k,l]	Yes	[redacted]	[redacted]-3332

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（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration[a]	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
91-Day Toxicity and Toxicokinetics	Dog (Beagle)	Oral/Capsule	0, 2, 5, 12.5, and 20	Yes	[redacted]	20008482
9-Month Toxicity and Toxicokinetics	Dog (Beagle)	Oral/Capsule	0, 3, 10, and 15	Yes	[redacted]	20028697

a) Unless specific noted, the formulation for oral gavage is aqueous solution or suspension.
b) Juvenile animals.
c) 300 mg/kg dose group was terminated early on study day 7.
d) Main study animals were Tg.rasH2.
e) Positive control 1000 mg/kg/day urethane, TK was not evaluated.
f) Pregnant animals.
g) Gestation day 7 through day 20 of lactation, approximately 35 days.
h) Study included evaluation of tolerability and toxicokinetics of NBI-98854 in unmated rabbits via oral gavage for 7 consecutive days (nonpregnant phase).
i) Animal received 80 mg/kg dose via oral gavage of aqueous suspension and capsule.
j) Additional 2 groups of animals received 5 and 15 mg/kg of NBI-98782.
k) Dose was reduced from 35 to 30 mg/kg on study day 10.
l) Additional 2 groups of animals received 7.5 and 15 mg/kg of NBI-98782.

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

2.6.7.3.1　NBI-98854 の C_{max}

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**C_{max} (ng/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
0.5				7.22[c]	20.9[c]	12.2[c]					
1				26.4[c], 25.9[d]	65.4[c], 35.8[d], 20.5[e]	45.9[c], 30.9[d]					
2				62.6[c]	181[c]	122[c]		1,040[f]	1,160[f]	1,100[f]	
3				76.8[d], **311**[g]	186[d], **472**[g]	131[d], **392**[g]		1,780[h]	1,670[h]	1,730[h]	
5					141[e]			2,660[f], 1,730[i]	2,920[f], 1,680[i]	2,790[f], 1,710[i]	
10	914[j], 699[k]	500[j], 660[k]	707[j], 679[k]	526[d], 822[g]	686[d], 1,180[g]	606[d], 1,000[g]		6,620[h]	6,360[h]	6,490[h]	
12.5								7,110[f]	4,760[f]	5,940[f]	
15	830[l]	379[l]	605[l]	**589**[d], 1,570[g], **1,510**[m]	**967**[d], **480**[e], 971[g], **1,400**[m]	**778**[d], 1,270[g], **1,460**[m]		**10,900**[h], **6,470**[i]	**9,730**[h], **9,410**[i]	**10,300**[h], **7,940**[i]	
20							299[n]	**8,190**[f]	**7,410**[f]	**7,800**[f]	
25				2,030[m]	2,030[m]	2,030[m]					
30	2,460[j], 2,230[k], 1,010[l], 1,760[o]	3,270[j], 1,490[k], 1,030[l], 2,160[o]	2,870[j], 1,800[k], 1,020[l], 1,960[o]					13,900[i,p]	15,000[i,p]	14,500[i,p]	
50				2,290[m]	3,080[m]	2,690[m]	**1,530**[n]				
60	**5,230**[j], 5,200[l], **5,340**[o]	**7,010**[j], 3,430[l], **4,260**[o]	**6,120**[j], 4,320[l], **4,800**[o]								
75	2,340[k]	2,760[k]	2,550[k]								
80[q]											556

2.6.7.3.1　NBI-98854 の C_{max} （続き）

Test Article: NBI-98854												
Daily Dose (mg/kg)	**C_{max} (ng/mL)[a]**											
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
90	4,600[l], 4,640[o]	6,260[l], 4,720[o]	5,430[l], 4,680[o]								
100	4,290[j]	6,030[j]	5,160[j]				3,520[n]				

F = Female; M = Male; Note: Data in **bold** refer to the no observed adverse effect level (NOAEL).

a) Peak exposure (C_{max}) of NBI-98854 at steady state or at the end of the study, as annotated in footnote for each study. The values were rounded to 3 significant figures, the last significant figure was rounded up if the digit to the right of it was ≥5, and was rounded down if the digit to the right of it was ≤4.

b) Simulated C_{max} value (ng/mL) following repeated administration of 80 mg, the maximum clinical dose of NBI-98854 in human {non-poor metabolizer (PM) subjects} based on the population pharmacokinetic analysis (2.7.2.3.3.5.1.4)

c) Rat (Carcinogenicity; 8299648); Week 26.

d) Rat (91 days; 20008481); Day 91.

e) Rat (Embryo Fetal Development; 8235041), TK was assessed in pregnant animals; GD 17 (dosing started on GD 6).

f) Dog (91 days; 20008482); Day 91.

g) Rat (6 months; 8271662); Day 180.

h) Dog (9 months; 20028697); Day 273.

i) Dog (14 days; [redacted]-3332); Day 14.

j) Mouse (91 days; 20021098); Day 91.

k) Mouse (Carcinogenicity; AD20XW.7G8R[redacted]), TK was assessed in CByB6F1; Main study animals were Tg rasH2; Week 26.

l) Juvenile Mouse (14 days; [redacted]-866003); due to excessive mortality, the study was terminated early, TK was only assessed on PND 21 (study day 1). NOAEL was not assigned for this study.

m) Rat (14 days; [redacted]-2064); Day 14.

n) Rabbit (Embryo Fetal Development; 8235046), TK was assessed in pregnant animals; GD 20 (dosing started on GD 7).

o) Juvenile Mouse (10 weeks; [redacted]-866006); PND 91 (dosing started on PND 21).

p) Dose was reduced to 30 mg/kg/day on Day 10.

q) Daily Dose (mg/human)

2.6.7.3.2 NBI-98854 の AUC_{0-24}

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**AUC_{0-24} (ng·h/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
0.5				22.4[c]	119[c]	70.8[c]					
1				112[c], 68.8[d]	321[c], 179[d], 133[e]	217[c], 124[d]					
2				369[c]	825[c]	597[c]		4,090[f]	4,010[f]	4,050[f]	
3				373[d], **954**[g]	705[d], **1,650**[g]	539[d], **1,300**[g]		10,200[h]	7,450[h]	8,830[h]	
5					1,000[e]			11,900[f], 7,760[i]	11,800[f], 6,770[i]	11,900[f], 7,270[i]	
10	3,110[j], 3,090[k]	1,410[j], 2,300[k]	2,260[j], 2,690[k]	2,270[d], 3,940[g]	2,230[d], 4,840[g]	2,250[d], 4,390[g]		36,700[h]	28,700[h]	32,700[h]	
12.5								33,900[f]	24,300[f]	29,100[f]	
15	1,850[l]	1,150[l]	1,500[l]	**3,210**[d], 7,270[g], **8,250**[m]	**3,470**[d], **4,230**[e], 5,430[g], **6,310**[m]	**3,340**[d], 6,350[g], **7,280**[m]		**73,000**[h], **31,900**[i]	**52,200**[h], **36,400**[i]	**62,600**[h], **34,200**[i]	
20							998[n]	**47,600**[f]	**49,400**[f]	**48,500**[f]	
25				12,500[m]	11,800[m]	12,200[m]					
30	11,500[j], 11,300[k], 5,160[l], 6,630[o]	8,370[j], 8,150[k], 3,480[l], 5,090[o]	9,940[j], 9,700[k], 4,320[l], 5,860[o]					78,100[i,p]	83,300[i,p]	80,700[i,p]	
50				16,500[m]	19,800[m]	18,200[m]	**6,030**[n]				
60	**29,400**[j], 19,100[l], **14,300**[o]	**21,200**[j], 11,200[l], **13,500**[o]	**25,300**[j], 15,200[l], **13,900**[o]								

2.6.7.3.2　NBI-98854 の $AUC_{0\text{-}24}$（続き）

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
75	19,100[k]	24,900[k]	22,000[k]								
80[q]											5,350
90	22,900[l], 20,000[o]	38,100[l], 21,000[o]	30,500[l], 20,500[o]								
100	42,600[j]	28,500[j]	35,600[j]				32,800[n]				

F = Female; M = Male; Note: Data in **bold** refer to the no observed adverse effect level (NOAEL).

a) Total exposure (AUC) of NBI-98854 at steady state or at the end of the study, as annotated in footnote for each study. The values were rounded to 3 significant figures, the last significant figure was rounded up if the digit to the right of it was ≥5, and was rounded down if the digit to the right of it was ≤4.
b) Simulated $AUC_{0\text{-}tau}$ value (ng·h/mL) following repeated administration of 80 mg, the maximum clinical dose of NBI-98854 in human (non-PM subjects) based on the population pharmacokinetic analysis (2.7.2.3.3.5.1.4)
c) Rat (Carcinogenicity; 8299648); Week 26.
d) Rat (91 days; 20008481); Day 91.
e) Rat Embryo Fetal Development; 8235041), TK was assessed in pregnant animals; GD 17 (dosing started on GD 6).
f) Dog (91 days; 20008482); Day 91.
g) Rat (6 months; 8271662); Day 180.
h) Dog (9 months; 20028697); Day 273.
i) Dog (14 days; [redacted]-3332); Day 14.
j) Mouse (91 days; 20021098); Day 91.
k) Mouse (Carcinogenicity; AD20XW.7G8R[redacted]), TK was assessed in CByB6F1; Main study animals were Tg rasH2; Week 26.
l) Juvenile Mouse (14 days; [redacted]-866003); Due to excessive mortality, the study was terminated early, TK was only assessed on PND 21 (study day 1). NOAEL was not assigned for this study.
m) Rat (14 days; [redacted]-2064) Day 14.
n) Rabbit (Embryo Fetal Development; 8235046), TK was assessed in pregnant animals; GD 20 (dosing started on GD 7).
o) Juvenile Mouse (10 weeks; [redacted]-866006); PND 91 (dosing started on PND 21).
p) Dose was reduced to 30 mg/kg/day on Day 10.
q) Daily Dose (mg/human)

2.6.7.3.3　NBI-98782 の C_{max}

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**C_{max} (ng/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
0.5				14.0[c]	18.2[c]	16.1[c]					
1				30.3[c], 20.8[d]	38.5[c], 29.9[d], 26.4[e]	34.4[c], 25.4[d]					
2				66.8[c]	76.8[c]	71.8[c]		28.3[f]	29.8[f]	29.1[f]	
3				72.2[d], **110**[g]	93.1[d], **125**[g]	82.7[d], **118**[g]		42.9[h]	39.4[h]	41.2[h]	
5					151[e]			119[f], 79.8[i]	108[f], 72.4[i]	114[f], 76.1[i]	
7.5[j]								989[i]	1,040[i]	1,010[i]	
10	44.8[k], 47.6[l]	75.2[k], 47.8[l]	60.0[k], 47.8[l]	249[d], 326[g]	404[d], 383[g]	327[d], 355[g]		175[h]	128[h]	152[h]	
12.5								348[f]	227[f]	288[f]	
15	117[m]	66.3[m]	91.7[m]	**423**[d], 412[g], **502**[n]	**660**[d], **362**[e], 476[g], **645**[n]	**542**[d], 444[g], **574**[n]		**290**[h], **298**[i]	**238**[h], **290**[i]	**264**[h], **294**[i]	
15[j]								2,300[i]	2,570[i]	2,440[i]	
20							74.5[o]	**504**[f]	**401**[f]	**453**[f]	
25				712[n]	880[n]	796[n]					
30	119[k], 105[l], 115[m], 135[p]	186[k], 88.2[l], 166[m], 169[p]	153[k], 96.8[l], 141[m], 152[p]					404[i,q]	357[i,q]	381[i,q]	
50				1,070[n]	1,460[n]	1,270[n]	**174**[o]				

2.6.7.3.3　NBI-98782 の C_{max}（続き）

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**C_{max} (ng/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
60	**196**[k], 368[m], **247**[p]	**227**[k], 297[m], **240**[p]	**212**[k], 333[m], **244**[p]								
75	130[l]	130[l]	130[l]								
80[r]											39.0
90	325[m], 322[p]	363[m], 271[p]	344[m], 297[p]								
100	248[k]	207[k]	228[k]				310[o]				

F = Female; M = Male; Note: Data in **bold** refer to the no observed adverse effect level (NOAEL).

a) Peak exposure (C_{max}) of NBI-98782 (metabolite of NBI-98854) at steady state or at the end of the study, as annotated in footnote for each study. The values were rounded to 3 significant figures, the last significant figure was rounded up if the digit to the right of it was ≥5, and was rounded down if the digit to the right of it was ≤4.

b) Simulated C_{max} value (ng/mL) following repeated administration of 80 mg, the maximum clinical dose of NBI-98854 in human (non-PM subjects) based on the population pharmacokinetic analysis (2.7.2.3.3.5.1.4)

c) Rat (Carcinogenicity; 8299648); Week 26.

d) Rat (91 days; 20008481); Day 91.

e) Rat (Embryo Fetal Development; 8235041), TK was assessed in pregnant animals; GD 17 (dosing started on GD 6).

f) Dog (91 days; 20008482); Day 91.

g) Rat (6 months; 8271662); Day 180.

h) Dog (9 months; 20028697); Day 273.

i) Dog (14 days; [redacted]-3332); Day 14.

j) NBI-98782 was dosed.

k) Mouse (91 days; 20021098); Day 91.

l) Mouse (Carcinogenicity; AD20XW.7G8R[redacted]), TK was assessed in CByB6F1; Main study animals were Tg rasH2; Week 26.

m) Juvenile Mouse (14 days; [redacted]-866003); due to excessive mortality, the study was terminated early, TK was only assessed on PND 21 (study day 1). NOAEL was not assigned for this study

n) Rat (14 days; [redacted]-2064); Day 14.

o) Rabbit (Embryo Fetal Development; 8235046), TK was assessed in pregnant animals; GD 20 (dosing started on GD 7).

2.6.7.3.3　NBI-98782 の C_{max}（続き）

p) Juvenile Mouse (10 weeks; [redacted]-866006); PND 91 (dosing started on PND 21).
q) Dose was reduced to 30 mg/kg/day on Day 10.
r) Daily Dose (mg/human)

2.6.7.3.4　NBI-98782 の AUC_{0-24}

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**AUC_{0-24} (ng·h/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
0.5				132[c]	177[c]	155[c]					
1				295[c], 226[d]	450[c], 306[d], 274[e]	373[c], 266[d]					
2				641[c]	794[c]	718[c]		284[f]	266[f]	275[f]	
3				664[d], **897**[g]	885[d], **1,150**[g]	775[d], **1,020**[g]		445[h]	369[h]	407[h]	
5					1,550[e]			1,250[f], 603[i]	1,020[f], 547[i]	1,140[f], 575[i]	
7.5[j]								2,760[i]	2,040[i]	2,400[i]	
10	316[k], 407[l]	257[k], 305[l]	287[k], 356[l]	2,910[d], 3,050[g]	3,120[d], 3,350[g]	3,020[d], 3,200[g]		2,100[h]	1,350[h]	1,730[h]	
12.5								3,810[f]	2,470[f]	3,140[f]	
15	393[m]	272[m]	333[m]	**4,320**[d], 4,720[g], **4,590**[n]	**5,060**[d], **4,740**[e], 4,310[g], **6,010**[n]	**4,690**[d], 4,520[g], **5,300**[n]		**3,890**[h], **2,720**[i]	**2,880**[h], **2,320**[i]	**3,390**[h], **2,520**[i]	
15[j]								7,070[i]	7,040[i]	7,060[i]	
20							425[o]	**6,460**[f]	**5,490**[f]	**5,980**[f]	
25				7,950[n]	8,420[n]	8,190[n]					
30	980[k], 1,000[l], 897[m], 775[p]	856[k], 761[l], 654[m], 632[p]	918[k], 881[l], 776[m], 704[p]					4,170[i,q]	3,520[i,q]	3,850[i,q]	
50				12,700[n]	16,900[n]	14,800[n]	**1,320**[o]				

2.6.7.3.4　NBI-98782 の $AUC_{0\text{-}24}$（続き）

Test Article: NBI-98854											
Daily Dose (mg/kg)	**$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]**										
	Mouse			**Rat**			**Rabbit**	**Dog**			**Human[b]**
	M	**F**	**Average M/F**	**M**	**F**	**Average M/F**	**F**	**M**	**F**	**Average M/F**	
60	**1,900**[k], 2,290[m], **1,270**[p]	**1,360**[k], 1,500[m], **1,140**[p]	**1,630**[k], 1,900[m], **1,210**[p]								
75	1,580[l]	1,460[l]	1,520[l]								
80[r]											775
90	2,010[m], 1,640[p]	2,480[m], 1,630[p]	2,250[m], 1,640[p]								
100	2,740[k]	1,810[k]	2,280[k]				3,430[o]				

F = Female; M = Male; Note: Data in **bold** refer to the no observed adverse effect level (NOAEL).

a) Total exposure (AUC) of NBI-98782 (metabolite of NBI-98854) at steady state or at the end of the study, as annotated in footnote for each study.　The values were rounded to 3 significant figures, the last significant figure was rounded up if the digit to the right of it was ≥5, and was rounded down if the digit to the right of it was ≤4.

b) Simulated $AUC_{0\text{-}tau}$ value (ng·h/mL) following repeated administration of 80 mg, the maximum clinical dose of NBI-98854 in human (non-PM subjects) based on the population pharmacokinetic analysis (2.7.2.3.3.5.1.4)

c) Rat (Carcinogenicity; 8299648); Week 26.

d) Rat (91 days; 20008481); Day 91.

e) Rat (Embryo Fetal Development; 8235041), TK was assessed in pregnant animals; GD 17 (dosing started on GD 6).

f) Dog (91 days; 20008482); Day 91.

g) Rat (6 months; 8271662); Day 180.

h) Dog (9 months; 20028697); Day 273.

i) Dog (14 days; [redacted]-3332); Day 14.

j) NBI-98782 was dosed.

k) Mouse (91 days; 20021098); Day 91.

l) Mouse (Carcinogenicity; AD20XW.7G8R[redacted]), TK was assessed in CByB6F1; Main study animals were Tg rasH2; Week 26.

m) Juvenile Mouse (14 days; [redacted]-866003); due to excessive mortality, the study was terminated early, TK was only assessed on PND 21 (study day 1). NOAEL was not assigned for this study.

n) Rat (14 days; [redacted]-2064); Day 14.

2.6.7.3.4　NBI-98782 の AUC_{0-24}（続き）

o) Rabbit (Embryo Fetal Development; 8235046), TK was assessed in pregnant animals; GD 20 (dosing started on GD 7).
p) Juvenile Mouse (10 weeks; [redacted]-866006); PND 91 (dosing started on PND 21).
q) Dose was reduced to 30 mg/kg/day on Day 10.
r) Daily Dose (mg/human)

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Lot No.	Purity (%)	Drug Substance/Drug Product					Test Article: NBI-98854
		Specified Impurities (%)					GLP Study Type (Study Number)
		NBI-98782 (RRT = [redacted])	NBI-123670 (RRT = [redacted])	NBI-139326 (RRT = [redacted])	NBI-724208 RRT = [redacted]	NBI-123673 (RRT = [redacted])[a]	
Proposed Specification:		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
08KL014D	98.8	<QL	0.60	<QL	<0.05	0.5	14-Day Rat Toxicity ([redacted]-2064) 14-Day Dog Toxicity ([redacted]-3332) Ames (6944-354) Chromosomal Aberrations (6944-355) Rat Fertility and Early Embryonic Development (8225039) Rat Embryo and Fetal Development (8235041) Rabbit Embryo and Fetal Development (8235046)
04-110323-03B/ 03-54-01	100.0	<QL	<0.05	<QL	<QL	<0.5	28-Day Tg CByB6F1 Mouse Toxicity (AD20XW.2G3R[redacted]) 3-Month Mouse Toxicity (20021098) 3-Month Rat Toxicity (20008481) 3-Month Dog Toxicity (20008482) 9-Month Dog Toxicity (20028697) Rat Micronucleus (AD20XW.125[redacted])
08-120924-03B/ 03-58-01	99.9	<0.05	<QL	<QL	0.13	ND	9-Month Dog Toxicity (20028697)

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

Lot No.	Purity (%)	Drug Substance/Drug Product					Test Article: NBI-98854
		Specified Impurities (%)					GLP Study Type (Study Number)
		NBI-98782 (RRT = [redacted])	NBI-123670 (RRT = [redacted])	NBI-139326 (RRT = [redacted])	NBI-724208 RRT = [redacted]	NBI-123673 (RRT = [redacted])[a]	
Proposed Specification:		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
Z534FP-12-001	99.9	<QL	<QL	<QL	0.08	ND	6-Month Rat Toxicity (8271662) Perinatal and Postnatal Development (20068205) 10-Week Juvenile Mouse Toxicity ([redacted]-866006) Phototoxicity (20072835)
Z534FP-12-002	99.8	<QL	<0.05	<QL	0.12	ND	26-Week Mouse Carcinogenicity (AD20XW.7G8R.[redacted]) 2-Year Rat Carcinogenicity (8299648)

ND = Not detected; <QL= less than quantification limit (0.05%); NS = Not specified

a) Quantified using TM 10-0243 (Chiral method)

2.6.7.5　単回投与毒性試験：探索的試験

2.6.7.5.1　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 1

				Test Article: NBI-98854		
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing[a]**	**Doses (mg/kg)**	**Number/ Sex/Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Sprague Dawley rat	Oral gavage (0.5% (w/v) methylcellulose in water)	Single dose	50, 100, and 200	M:1	Clinical Observations - Hunched posture at ≥ 50 mg/kg - Front legs splayed out, ptosis, and tremors at 50 and 100 mg/kg - Abnormal gait at 100 mg/kg - At 24 hours postdose, hunched posture was noted for animals at ≥ 100 mg/kg; diarrhea and ptosis noted at 200 mg/kg	[redacted]-98854-001-TX

M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in rats. Results from the repeat-dose phase are presented in Section 2.6.7.6.2.

2.6.7.5.2　ラットを用いた単回経口投与毒性試験 2

				Test Article: NBI-98854			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing[a]**	**Doses (mg/kg)**	**Number/Sex/ Group**	**MTD (mg/kg)**	**Noteworthy Findings[bc]**	**Study Number**
Sprague Dawley rat	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	Single dose	0, 60, 80, 100, and 150	M:3 F:3	< 60	Mortality A single 100 mg/kg animal (F) and four 150 mg/kg animals (1 M, 3 F) were euthanized in a moribund condition on Day 2 of the study. Clinical Observations - Decreased activity, lethargy, eyes partially closed, piloerection, hunched appearance, and decreased fecal volume at ≥ 60 mg/kg - Muscle tremors, cold to touch, and anogenital staining also noted in a single 100 mg/kg female and 150 mg/kg males (includes animals euthanized in moribund condition) on Day 2 Body weight ↓ at ≥ 60 mg/kg (12%-14% M; 5%-12% F) on Day 2 Food Consumption ↓ at ≥ 60 mg/kg (96%-100%) on Days 1-2	[redacted]-2059

F = Female; M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in rats. Results from the repeat-dose phase are presented in Section 2.6.7.6.3.

b) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

c) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.3.8.

2.6.7.5.3　イヌを用いた単回経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/Formulation)**	**Duration of Dosing[a]**	**Doses (mg/kg)**	**Number/ Sex/ Group**	**MTD (mg/kg)**	**Noteworthy Findings[b]**	**Study Number**
Beagle dog	Oral gavage (50 and 80 mg/kg) (0.25% (w/v) methylcellulose in water) Oral (capsule) (80 mg/kg)	Single dose	50 and 80	M:2 F:2	50 mg/kg	Mortality Three dogs sacrificed in moribund condition at 80 mg/kg in 0.25% methylcellulose (1M) and capsule (1M, 1F) on Day 1 or Day 2 Clinical Observations: - Ataxia, trembling, decreased activity, lethargy, recumbency, excessive salivation, and emesis (less severe for capsule) at ≥ 50 mg/kg - Inability to respond to stimuli, nystagmus, tonic/clonic convulsions, rapid breathing, prostration, pale gums, weak pulse, unaware of surroundings, jerky twitching of heads and limbs, and/or low level of consciousness also observed for 80 mg/kg animals sacrificed in moribund condition - Recovery from clinical observations for surviving ≥ 50 mg/kg/day males, with the exception of a single 80 mg/kg (capsule) male noted with decreased activity and/or trembling up to 32 hours postdose	[redacted]-3327

F = Female; M = Male; MTD = Maximum Tolerated dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in dogs. Results from the repeat-dose phase are presented in Section 2.6.7.6.5.

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.15.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：探索的試験

2.6.7.6.1　マウスを用いた 24 日間反復経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854		
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/ day)[a]**	**Number/ Sex/ Group[bc]**	**Noteworthy Findings[de]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	24 (M) and 25 (F) days	0, 30, 100, 300, and 600	6 to 10 M 6 to 10 F	Mortality A single 30 mg/kg/day male was found dead on Day 15 (postdose) and two females at 300 mg/kg/day died (postdose) or were found dead (predose) on Day 4 and Day 25, respectively. At 600 mg/kg/day, animals were found dead or euthanized in a moribund condition prior to the Day 2 dose. Clinical Observations Dosing Phase: - Decreased activity and ptosis at ≥ 100 mg/kg/day - Abnormal posture (hunched or splayed out) at 300 mg/kg/day - Increased activity (characterized by hyperactivity with restless pacing, running and jumping around the cage, and aggression) noted predose starting on Day 12 (M) or 15 (F) through remainder of dosing period at ≥ 100 mg/kg/day Preceding death at 600 mg/kg; abnormal gait, hypoactivity, hunched posture, lying on side, unable to right itself, limbs extended, shallow breathing, jittery movements, tremors, and/or convulsions. Recovery Phase: - Increased activity noted during the first week of recovery at ≥ 100 mg/kg/day	[redacted]-98854-007-TX

2.6.7.6.1　マウスを用いた 24 日間反復経口投与毒性試験（続き）

				Test Article: NBI-98854		
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/ day)[a]**	**Number/ Sex/ Group[bc]**	**Noteworthy Findings[de]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	24 (M) and 25 (F) days	0, 30, 100, 300, and 600	6 to 10 M 6 to 10 F	Body Weight ↓ 10% for 300 mg/kg/day males on Day 24; partial recovery (↓ 5%) noted after a 14-day recovery period	[redacted]-98854-007-TX

F = Female; M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) All 600 mg/kg/day animals were found dead or euthanized in a moribund condition prior to the Day 2 dose.

b) 10 mice/sex/group for 0, 30, 100, and 300 mg/kg/day treatment groups; 6 mice/sex for 600 mg/kg/day treatment group

c) Histopathological examinations were conducted on 4 mice/sex/dose at terminal and recovery sacrifice for ≤ 300 mg/kg/day treatment groups.

d) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

e) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.5.

2.6.7.6.2　ラットを用いた 3 日間反復経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing[a]**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number/Sex/ Group**	**MTD (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings[b]**	**Study Number**
Sprague Dawley rat	Oral gavage (0.5% (w/v) methylcellulose in water)	3 days	0, 50, and 100	M:3	< 50	Clinical Observations - Hunched posture and tremors at ≥ 50 mg/kg/day - Stiff limbs also noted at 100 mg/kg/day Body Weight Decreased at ≥ 50 mg/kg/day	[redacted]-98854-001-TX

M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in rats. Results from the single-dose phase are presented in Section 2.6.7.5.1.

b) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

2.6.7.6.3　ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing[ab]**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number/ Sex/ Group**	**MTD (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings[cd]**	**Study Number**
Sprague Dawley rats	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	60 mg/kg/day: 6 days ≥ 80 mg/kg/day: 1 day	0, 60, 80, and 100	M:3 F:3	< 60	Mortality A single 80 mg/kg/day animal (F) and two 100 mg/kg/day animals (1 M, 1 F) were found dead or euthanized in a moribund condition on Day 2 or 3. Clinical Observations - Decreased activity, lethargy, eyes partially closed, hunched appearance, and decreased fecal volume at ≥ 60 mg/kg/day - Cold to touch and trembling also noted in a single 100 mg/kg/day female which was euthanized in a moribund condition on Day 2 Body Weight - ↓ at 60 mg/kg/day (males and females) throughout dosing period (up to 28% on Day 6) - ↓ at ≥ 80 mg/kg/day (15%-19% M; 9%-11% F) on Day 2 after a single administration Food Consumption - ↓ at 60 mg/kg/day throughout dosing period (up to 70% on Days 5-6) - ↓ at ≥ 80 mg/kg/day (approximately 95%) on Days 1-2 after a single administration	[redacted]-2059

2.6.7.6.3　ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験（続き）

F = Female; M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in rats. Results from the single-dose phase are presented in Section 2.6.7.5.2.

b) Due to mortality and/or adverse clinical signs (i.e., decreased body weight and food consumption), dosing was discontinued on Day 2 for the 80 and 100 mg/kg/day animals and on Day 6 for 60 mg/kg/day animals.

c) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

d) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.3.8.

2.6.7.6.4　ラットを用いた 12 日間反復経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/ day)**	**Number/ Sex/ Group**	**NOAEL (mg/kg/ day)**	**Noteworthy Findings[ab]**	**Study Number**
Sprague Dawley rat	Oral gavage (0.5% (w/v) methylcellulose in water)	12 days	0, 15, 30, 60	M:4	30	Clinical Observations - Dose dependent (severity) lethargy, abnormal posture (hunched or splayed out), and ptosis at ≥ 15 mg/kg/day - Increased activity also noted predose at ≥ 15 mg/kg/day starting on Day 7 through termination Body Weight ↓ 19% at 60 mg/kg/day on Day 13 Food Consumption ↓ 19% at 60 mg/kg/day on Days 11-13 Organ Weights[c] - ↓ thymus (39%) at 60 mg/kg/day Histopathology - Minor myofiber degeneration in soleus muscle at all doses; enlarged sarcolemmal nuclei with or without satellite cell proliferation in myofibers at ≥ 15 mg/kg/day - Cutaneous maximus muscle not similarly affected, indicating myofiber degeneration may be related to weight bearing nature of soleus muscle and secondary effect to increased activity and/or muscle rigidity noted after NBI-98854 dosing	Tox-HTBZ-98854-07-02

M = Male; NOAEL = the no observed adverse effect level

a) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.9.

2.6.7.6.4　ラットを用いた 12 日間反復経口投与毒性試験（続き）

c) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.6.5　イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験

				Test Article: NBI-98854, NBI-98782			
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing[a]**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number/ Sex/ Group**	**MTD (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings[b]**	**Study Number**
Beagle dog	Oral (capsule)	7 days	**NBI-98854** 20, 40, and 60 **NBI-98782** 5 and 15	M:2 F:2	**NBI-98854** 20 **NBI-98782** 15	**NBI-98854** Mortality A 40 mg/kg/day female and 60 mg/kg/day male were euthanized in moribund condition on Day 1 and Day 6, respectively Clinical Observations - Dose dependent (magnitude, duration, and severity) ataxia, trembling, decreased activity, lethargy, recumbency at ≥ 20 mg/kg/day - Excessive salivation and emesis at ≥ 40 mg/kg/day - Seizure-like activities, clonic/tonic convulsions, weak pulse, gray gums, pawing at the air, uncoordinated movements, inability to stand, and/or disoriented also noted for 40 mg/kg/day and 60 mg/kg/day animals sacrificed in moribund condition **NBI-98782** Clinical Observations Dose dependent (magnitude, duration, and severity) trembling, decreased activity, lethargy, and recumbency at ≥ 5 mg/kg	[redacted]-3327

F = Female; M = Male; MTD = Maximum Tolerated Dose

a) NBI-98854 was evaluated in this study as a single dose and after repeat dosing in dogs. Results from the single-dose phase are presented in Section 2.6.7.5.3.

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.15.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：主要な試験

2.6.7.7.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 91-Day Study of NBI-98854 by Oral Gavage in Mice with a 28-Day Recovery Period												**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: CD-1 Mice **Initial Age:** 10-11 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]			**Duration of Dosing:** 91 days **Duration of Postdose:** 28 days **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water									**Study No.:** 20021098 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Neuropathology[a] **No Observed Adverse Effect Level:** 60 mg/kg/day												
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**60[b]**		**100**		**300[b]**	
Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[c]												
Day 1												
NBI-98854	NA	NA	697	870	4,061	3,348	8,177	9,025	16,389	12,135	34,164	32,856
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	45.1	92.1	172	273	217	382	307	639	361	1,359
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	218	340	1,007	1,129	2,275	1,831	2,201	2,626	4,916	3,247
Day 91												
NBI-98854	NA	NA	914	500	2,462	3,269	5,229	7,012	4,290	6,026	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	44.8	75.2	119	186	196	227	248	207	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	270	199	764	585	1,603	1,076	2,089	925	NA	NA
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[c]												
Day 1												
NBI-98854	NA	NA	2,793	2,969	21,126	18,575	81,234	67,530	120,754	133,142	737,400	548,423
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	361	333	1,203	1,365	2,827	3,343	3,162	6,015	6,695	9,800
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,878	2,267	9,210	9,721	31,584	26,434	30,030	36,661	96,792	62,324
Day 91												
NBI-98854	NA	NA	3,112	1,414	11,504	8,372	29,396	21,161	42,580	28,507	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	316	257	980	856	1,903	1,360	2,736	1,810	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,870	1,179	7,207	4,530	16,972	10,489	24,131	13,553	NA	NA

2.6.7.7.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**60**[b]		**100**		**300**[b]	
Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Noteworthy Findings												
Died or Sacrificed Moribund[d]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	9	4
Clinical Observations[e]												
Decreased Activity	0	0	0	0	15	15	3	4	15	15	15	15
Increased Activity	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	2	0
Slow/Shallow Breathing	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10	9
Cool to Touch	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	11	11
Rough Coat	0	0	0	0	3	0	5	0	6	0	9	1
Urine Stain	0	0	0	0	1	0	3	0	3	0	12	12
Unkempt Appearance	0	0	0	0	3	0	1	0	6	1	0	0
Labored Breathing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	15
Wobbly Gait	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	14
Body Held Rigid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	7
Involuntary Leg Movement	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Lateral Recumbency	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11
Sternal Recumbency	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	9
Hunched Posture	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Eyelid(s) Partially Shut	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	15
Dehydration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3
Tremor(s)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Body Weight (%)[f]	41.1 g	30.5 g	-4	+2	-9*	-2	-4	+13*	-13*	+1	NA	NA
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA

2.6.7.7.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0		10		30		60[b]		100		300[b]	
Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Hematology												
MCHC (g/dL)	31.0	31.0	31.2	31.4	31.2	30.6	30.1*	31.2	30.7	31.1	NA	NA
Leukocytes ($\times 10^3/\mu L$)	3.89	3.36	3.38	3.03	3.46	3.73	1.11*	1.85	2.70	3.67	NA	NA
Lymphocytes ($\times 10^3/\mu L$)	2.83	2.60	2.67	2.30	2.69	3.03	0.70*	1.22	1.83	2.77	NA	NA
Eosinophils ($\times 10^3/\mu L$)	0.23	0.14	0.08*	0.10	0.14	0.12	0.03*	0.09	0.12	0.15	NA	NA
Clinical Chemistry												
AST (IU/L)	42	49	44	40	52	51	48	49	64*	58	NA	NA
Total Bilirubin (mg/dL)	0.16	0.12	0.13	0.13	0.13	0.08*	0.11*	0.09	0.11*	0.09	NA	NA
Albumin (g/dL)	2.31	2.58	2.36	2.61	2.29	2.56	2.16	2.38*	2.29	2.48	NA	NA
Globulin (g/dL)	1.95	1.73	1.90	1.72	2.01	1.86	2.22*	2.19*	2.17	1.83	NA	NA
Albumin/Globulin Ratio	1.19	1.50	1.25	1.52	1.14	1.38	0.97*	1.10*	1.07	1.36	NA	NA
Glucose (mg/dL)	270	244	253	235	201*	179	256	231	148*	179	NA	NA
Urea Nitrogen (mg/dL)	25	17	22	18	30	20	35	20	49*	24	NA	NA
Phosphorus (mg/dL)	6.28	7.89	7.34	7.84	8.28	9.31	6.98	7.86	9.57*	8.84	NA	NA
Sodium (mmol/L)	149	149	150	151	152	151	150	150	153*	151	NA	NA
Chloride (mmol/L)	110	114	112	115	114*	116	114*	116	115*	117	NA	NA
Organ Weights (%)[g]												
Thymus	0.029 g	0.033 g	-2	0	-29*	15	-38*	11	-39*	10	NA	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Histopathology												
Mammary Gland (Number Examined)	2	10	0	10	0	9	0	10	2	9	NA	NA
Hyperplasia; lobular												
minimal	0	0	NA	2	NA	1	NA	5	0	6	NA	NA
mild	0	0	NA	0	NA	0	NA	1	0	1	NA	NA
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1　マウスを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0		10		30		60[b]		100		300[b]	
Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
28-Day Postdose Evaluation:												
Number Evaluated	5	5	1	5	0	5	1	5	5	5	NA	NA
Histopathology												
Mammary Gland (Number Examined)	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	NA	NA
Hyperplasia; lobular												
minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	1	NA	NA

- = no noteworthy findings; * = statistically significant difference from control mean, $p < 0.05$; F = female; M = male; NA = not applicable

a) In addition to the standard examination of the brain tissue, special sectioning of the brain to include sections containing basal nuclei and substantia nigra, and extensive staining with Glial Fibrillary Acidic Protein to evaluate astrocyte reactions, Fluoro-Jade B staining to assess neuronal necrosis, and tyrosine hydroxylase staining for dopaminergic neurons and processes of the brain were performed for in-depth investigation of the tissue for control and 100 mg/kg/day animals.

b) Due to excessive lethality and overt clinical observations, the 300 mg/kg dose group received a single dose only and was terminated early on Day 7 and a 60 mg/kg/day group was added by amendment.

c) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are detailed in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.6.

d) Test article-related mortality was observed in the 100 and 300 mg/kg dose groups. After a single dose of 300 mg/kg NBI-98854, 2 males were found dead and 7 males and 4 females were euthanized in a moribund condition from the 300 mg/kg group. One female animal was found dead on Day 74 and 1 male was euthanized moribund on Day 89 from the 100 mg/kg dose group.

e) Total number of animals affected.

f) At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

g) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: NBI-98854: A 14-Day Oral Toxicity Study in Rats with a Minimum of 1-Week Recovery Period									**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Sprague Dawley Rat			**Duration of Dosing:** 14 days						**Study No.:** [redacted]-2064
Initial Age: ~ 9 weeks at initiation of dosing			**Duration of Postdose:** 10 days						**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage						
			Vehicle/Formulation: 0.25% (w/v) methylcellulose in water						
Special Features: Neuropathology[a]									
No Observed Adverse Effect Level: 15 mg/kg/day									
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**15**		**25**		**50**		
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[b]									
Day 1									
NBI-98854	NA	NA	832	1,670	1,050	1,440	3,270	4,280	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	550	741	773	923	1,120	1,730	
Day 14									
NBI-98854	NA	NA	1,510	1,400	2,030	2,030	2,290	3,080	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	502	645	712	880	1,070	1,460	
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[b]									
Day 1									
NBI-98854	NA	NA	4,130	7,010	7,680	15,000	40,500	40,500	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	5,010	7,100	6,780	11,100	15,900	21,400	
Day 14									
NBI-98854	NA	NA	8,250	6,310	12,500	11,800	16,500	19,800	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	4,590	6,010	7,950	8,420	12,700	16,900	
Died or Sacrificed Moribund[c]	0	0	0	0	0	1	0	2	

2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**15**		**25**		**50**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Noteworthy Findings								
Clinical Observations[d]								
Eyes partially closed	0	0	10	10	15	15	15	15
Decreased activity	0	0	10	10	15	15	15	15
Hunched appearance	0	0	10	10	15	15	15	15
Piloerection	0	0	10	10	15	15	15	15
Labored breathing	0	0	10	10	15	15	15	15
Cold to touch	0	0	0	0	0	0	15	15
Increased activity (predose)	0	0	10	10	15	15	15	15
Trembling	0	0	0	0	2	0	1	0
Decreased fecal volume	0	0	0	0	0	0	5	15
Thin	0	0	0	0	0	0	2	15
Decreased feed consumption	0	0	0	0	0	0	2	3
Anogenital staining, yellow/brown	0	0	0	0	0	0	1	2
Red staining, snout and/or extremities	0	0	0	0	0	0	0	2
Body Weight (%)[e]	360.2 g	237.2 g	-7	-9**	-14**	-11**	-23**	-19**
Food Consumption (%)[e]	30.7 g	23.1 g	-11	-12	-31**	-28**	-38**	-35**
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Erythrocytes ($x10^6/\mu L$)	7.84	7.91	8.01	7.96	8.20*	7.97	8.10*	7.87
Reticulocytes ($x10^9/L$)	213.1	219.1	219.8	204.6	191.8	143.6**	129.8**	128.4**
Platelets ($x10^3/\mu L$)	1,174	1,246	1,134	1,113	1,094	1,147	1,046*	1,111*
Mean Cell Volume (fL)	57.7	55.7	57.1	56.0	55.6**	54.7	55.7**	54.7
Leukocytes ($x10^3/\mu L$)	8.73	7.17	13.61**	9.17	13.38**	7.07	7.05	4.83*
Lymphocytes ($x10^3/\mu L$)	7.19	6.11	11.21**	7.97	10.69**	5.89	5.43*	3.81*

2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**15**		**25**		**50**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Clinical Chemistry								
AST (U/L)	127	119	165	155	184	186**	166	128
BUN (mg/dL)	14	14	16	19**	17	19**	19**	18**
Creatinine (mg/dL)	0.2	0.2	0.3*	0.3	0.2*	0.3*	0.3*	0.3**
Cholesterol (mg/dL)	75	86	60	44**	68	47**	84	66**
Triglycerides (mg/dL)	52	42	34**	25**	35**	29*	33**	37
Total Protein (g/dL)	5.9	6.3	5.6*	6.0	5.8*	6.1	5.5**	6.4
Albumin (g/dL)	3.4	3.7	3.3	3.5	3.3	3.6	3.1**	3.6
Globulin (g/dL)	2.6	2.6	2.4	2.5	2.5	2.5	2.4*	2.7
Potassium (mEq/L)	4.9	4.8	4.6*	4.4*	4.4**	4.1**	4.5**	3.9**
Chloride (mEq/L)	102	102	104*	104*	104*	104*	104*	104*
Calcium (mg/dL)	10.7	10.9	10.4*	10.4**	10.3**	10.2**	10.0**	10.4**
Phosphorus (mg/dL)	8.6	7.7	9.0	8.9*	8.7	8.7*	9.0	8.3*
Urinalysis								
Volume (mL)	13	9	6*	4**	8*	3**	3**	4**
Specific Gravity	1.021	1.026	1.031	1.037	1.024	1.040	1.039**	1.031
Organ Weights (g)								
Thymus	0.5328	0.5224	0.4765	0.4049**	0.3949*	0.3266**	0.3488**	0.29**
Pituitary Gland	0.0104	0.0134	0.0094	0.0114	0.0090	0.0190	0.0075**	0.0105*
Uterus	NA	0.7726	NA	0.5622	NA	0.3849**	NA	0.3564**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**15**		**25**		**50**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Histopathology								
Bone Marrow, Sternum (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
Decreased Cellularity								
minimal	0	0	0	0	0	2	5	2
slight	0	0	0	0	0	0	1	2
moderate	0	0	0	0	0	0	1	3
marked	0	0	0	0	0	0	1	2
Bone Marrow, Femur (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
Decreased Cellularity								
minimal	0	0	0	0	0	1	3	1
slight	0	0	0	0	1	1	2	1
moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
marked	0	0	0	0	0	0	2	4
Mammary Gland (Number Examined)	7	10	9	9	9	10	9	10
Acinar Hyperplasia								
minimal	0	0	0	8	0	2	0	1
slight	0	0	0	0	0	5	0	7
Increased Secretion								
minimal	0	0	0	5	0	4	0	4
slight	0	0	0	0	0	1	0	4
Feminization								
Present	1	NA	1	NA	4	NA	7	NA
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.2　ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0		15		25		50	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
10-Day Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	5	5	NA	NA	5	5	5	5
Hematology								
Erythrocytes (x10^6/μL)	8.14	8.00	NA	NA	7.83*	7.40*	7.71**	7.07**
Reticulocytes (x10^9/L)	228.6	180.2	NA	NA	390.9**	301.4**	453.2**	314.3**
Hemoglobin (g/dL)	15.1	14.9	NA	NA	15.1	14.1*	14.4*	13.5**
Hematocrit (%)	45.3	43.2	NA	NA	44.3	41.0	43.3*	38.9**
Red Blood Cell Distribution Width (%)	12.2	10.9	NA	NA	14.0*	12.0*	15.6**	12.7**
Clinical Chemistry								
BUN (mg/dL)	13	14	NA	NA	14	22*	15	19*
Cholesterol (mg/dL)	77	91	NA	NA	68	60*	65	67*
Triglyceride (mg/dL)	110	45	NA	NA	38**	29*	30**	31*
Albumin (g/dL)	3.3	3.6	NA	NA	3.1	3.2*	3.1*	3.4*
Chloride (mEq/L)	102	101	NA	NA	103	103*	104*	104*
Calcium (mg/dL)	10.5	10.9	NA	NA	10.3	10.0*	10.0*	10.2*
Glucose (mg/dL)	154	118	NA	NA	123	130	104*	111

- = no noteworthy findings; * ($p \leq 0.05$) and ** ($p \leq 0.01$) = statistically significant difference from control mean; F = female; M = male; NA = not applicable

a) In addition to the standard examination of the brain tissue, the brain tissue was sectioned extensively to allow examination of dopamine-rich areas (substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum) and stained with standard (Hematoxylin and Eosin) and specialized (Fluoro-Jade B) techniques to better identify necrotic neurons if present from all control and high dose animals (50 mg/kg/day) and the unscheduled decedent in the 25 mg/kg/day dose group.

b) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.10.

c) One 25 mg/kg/day female was found dead on Day 14 and two 50 mg/kg/day females were found dead on Days 2 and 14 respectively. There was no macroscopic or microscopic evidence that these deaths were due to accidental death therefore they are considered to be related to the test article.

d) Clinical observations were made predose and 2 and 6 hours postdose, with the exception of trembling which was noted during the weekly physical examinations.

e) At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.3　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 91-Day Study of NBI-98854 by Oral Gavage in Rats with a 6-Week Recovery Period											**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley **Initial Age:** 8weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]			**Duration of Dosing:** 91 days **Duration of Postdose:** 6 weeks **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water								**Study No.:** 20008481 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Neuropathology[a] **No Observed Adverse Effect Level:** 15 mg/kg/day											
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**1**		**3**		**10**		**15**		
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[b]											
Day 1											
NBI-98854	NA	NA	12.2	16 .7	44.8	81.9	272	392	659	1,006	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	19.4	29 .9	64.6	102	256	415	413	798	
Day 91											
NBI-98854	NA	NA	25.9	35 .8	76.8	186	526	686	589	967	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	20.8	29 .9	72.2	93.1	249	404	423	660	
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[b]											
Day 1											
NBI-98854	NA	NA	61.4	70.2	191	394	1,622	1,920	3,602	4,073	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	177	267	480	822	2,210	3,392	4,008	5,562	
Day 91											
NBI-98854	NA	NA	68.8	179	373	705	2,271	2,226	3,210	3,471	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	226	306	664	885	2,913	3,123	4,320	5,061	
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund[c]	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	

2.6.7.7.3　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**1**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Clinical Observations										
Decreased Activity	0	0	0	0	15	15	15	15	15	15
Eyelid(s) Partially Closed	0	0	0	0	15	15	15	15	15	15
Activity Increased	0	0	0	0	5	5	13	13	14	15
Body Weight (%)[d]	552 g	308 g	+1	-2	-5	-7*	-14*	-9*	-21*	-13*
Food Consumption (%)[de]										
Days 8 to 15	31 g	23 g	+2	-7	0	-13*	-3	-13*	-12*	-13*
Days 85 to 91	29 g	21 g	+5	+1	+11	+35*	+20*	+39*	+5	35*
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology										
Erythrocytes (10^6/µL)	8.31	7.69	8.21	7.56	8.44	7.36	8.10	7.27	8.11	7.06*
Hemoglobin (g/dL)	14.7	14.4	14.7	14.3	14.9	13.9	14.8	13.7*	14.8	13.5*
Hematocrit (%)	43.1	41	43.2	40.7	43.5	39.6	42.7	38.8*	42.7	38.1*
MCHC (g/dL)	34.0	35.1	34.1	35.3	34.2	35.1	34.6*	35.2	34.6*	35.4
Monocytes (10^3/µL)	0.28	0.22	0.37	0.19	0.35	0.24	0.29	0.19	0.32	0.13*
Eosinophils (10^3/µL)	0.12	0.08	0.14	0.07	0.12	0.06	0.08	0.05*	0.07*	0.04*
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prothrombin Time (sec)	16.8	16.1	17.5	17.4*	18.2*	18.4*	18.6*	19.3*	18.6*	19.1*
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspartate Aminotransferase (IU/L)	68	119	77	76	90	101	106*	102	115*	98
Alanine Aminotransferase (IU/L)	26	63	26	29	41	39	34*	31	38*	34
Alkaline Phosphatase (IU/L)	72	31	64	37	79	47	81	67*	84	71*
Total Bilirubin (mg/dL)	0.14	0.17	0.15	0.15	0.13	0.15	0.12	0.13*	0.12	0.11*
Cholesterol (mg/dL)	67	96	60	76*	62	63*	54	46*	56	48*
Triglycerides (mg/dL)	64	63	67	51	60	35*	30*	25*	30*	24*

2.6.7.7.3　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**1**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Total Protein (g/dL)	5.34	6.94	5.39	6.37*	5.26	6.47*	5.18	6.21*	5.33	6.18*
Albumin (g/dL)	3.05	3.76	2.95	3.38*	2.94	3.34*	2.83*	2.99*	2.84*	3.02*
Albumin/Globulin Ratio	1.33	1.19	1.22	1.13	1.27	1.07*	1.21	0.94*	1.15*	0.96*
Glucose (mg/dL)	182	153	165	152	161	139	134*	130*	140*	135
Urea Nitrogen (mg/dL)	13	15	13	17	15	21*	19*	24*	20*	23*
Creatinine (mg/dL)	0.31	0.32	0.31	0.30	0.31	0.39*	0.34	0.42*	0.39*	0.38*
Calcium (mg/dL)	9.76	10.43	9.59	9.94*	9.59	9.68*	9.14*	9.10*	9.07*	9.20*
Potassium (mg/dL)	4.69	4.30	4.93	4.30	4.53	3.94	4.48	3.84*	4.38	3.73*
Chloride (mg/dL)	105	103	104	105	105	105	107	105	107*	107*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adrenals	0.055	0.056	11	19	0	30*	12	27*	11	16
Pituitary	0.014	0.02	2	-12	-5	-10	-13	-30*	-20*	-31*
Ovaries	NA	0.071	NA	13	NA	13	NA	22	NA	18
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
Bone marrow, femur (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Increased cellularity										
minimal	0	0	0	0	0	2	0	1	2	6
Bone marrow, sternum (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Increased cellularity										
minimal	0	0	0	0	0	2	0	1	2	6
Mammary gland (number examined)	9	10	10	10	9	10	10	10	10	10

2.6.7.7.3　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**1**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:10**	**F:10**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Feminization										
minimal	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hyperplasia, lobuloalveolar										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3
mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-Week Postdose Evaluation										
Number Evaluated	5	5	NA	NA	5	5	5	5	5	5
Coagulation										
Prothrombin Time (sec)	17.6	15.5	NA	NA	18.1	16.4	18.1	16.9*	17.4	17.0*
Serum Chemistry										
Trigylcerides (mg/dL)	97	65	NA	NA	88	44	80	44	78	42*
Albumin (g/dL)	2.87	3.89	NA	NA	2.77	3.57	2.82	3.27*	2.78	3.41

- = No noteworthy findings; * = statistically significant difference from control, $p \leq 0.05$; F = female; M = male; NA = not applicable

a) In addition to the standard examination of the brain tissue, extensive staining with Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) to evaluate astrocyte reactions, Fluoro-Jade B staining to assess neuronal necrosis, and tyrosine hydroxylase staining for dopaminergic neurons, and processes were performed in the substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum tissue sections of control and 15 mg/kg/day animals.

b) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.12.

c) Mortality was noted in one 10 mg/kg/day male and one 3 mg/kg/day female during the dosing period. These deaths were attributable to esophageal perforation and were therefore not test article-related.

d) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

e) Statistically significant decreases in mean food consumption when compared to control were limited to Weeks 1 and 2 for the 15 mg/kg/day males and Week 2 for ≥ 3 mg/kg/day females. Increases in mean food consumption were noted frequently for the 10 and 15 mg/kg/day females beginning in Week 7 of the study and continued in one or both groups throughout the remainder of the study.

f) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.4　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with NBI-98854 in Rats with a 6-Week Recovery		**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Sprague Dawley rat **Initial Age:** 6 to 7 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** 183 days **Duration of Postdose:** 6 weeks **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water	**Study No.:** 8271662 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Neuropathology[a] **No Observed Adverse Effect Level:** 3 mg/kg/day		

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[b]								
Day 1								
NBI-98854	NA	NA	37.7	52.2	287	258	690	869
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	68.1	68.1	262	281	461	595
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	21.8	15.5	85.1	59.5	165	104
Day 180								
NBI-98854	NA	NA	311	472	822	1,180	1,570	971
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	110	125	326	383	412	476
NBI-136110 (metabolite)NBI-98854	NA	NA	66.4	64.2	134	121	208	109
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[b]								
Day 1								
NBI-98854	NA	NA	215	289	1,570	2,050	3,850	5,300
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	626	773	2,270	3,070	4,050	5,530
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	240	210	1,050	864	2,340	1,540

2.6.7.7.4　ラットを用いた６ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Day 180								
NBI-98854	NA	NA	954	1,650	3,940	4,840	7,270	5,430
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	897	1,150	3,050	3,350	4,720	4,310
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	472	599	1,560	1,350	2,680	1,590
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[c]	0	0	0	0	2	0	2	0
Clinical Observations								
Decreased activity	0	0	7	8	14	15	15	15
Increased activity	0	1	11	15	15	15	15	15
Squinting, eyes	0	0	3	5	12	14	14	14
Myoclonic jerking, entire body	0	0	0	0	0	0	2	1
Myoclonic jerking, front legs	0	0	0	0	1	0	0	1
Clonic convulsions, greater than 1 minute	0	0	0	0	1	0	0	1
Clonic convulsions, less than 1 minute	0	0	0	0	1	0	1	1
Twitching, entire body	0	0	0	0	2	0	2	1
Twitching, front feet	0	0	0	0	0	0	0	1
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)[d]	858 g	402 g	-21*	-11*	-30*	-15*	-34*	-20*
Food Consumption (%)[de]								
Days 8-15	29 g	19 g	-7*	-16*	-21*	-11*	-24*	-21*
Days 176-183	29 g	17 g	-14*	0	-14*	+12	-21*	+6
Hematology								
Hematocrit (%)	50.5	48.8	50.9	49.8	53.1	50.4	53.8*	50
Mean Corpuscular Volume (fL)	55	56.3	55.2	57.6	57.6*	58.3*	57.2*	58.4*

2.6.7.7.4　ラットを用いた６ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	17.7	18.4	17.7	18.9	18.2	18.9	18.1	19.1*
Leukocyte ($\times 10^3/\mu L$)	9.37	5.34	7.36*	4.81	5.19*	4.92	5.06*	4.83
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu L$)	6.90	3.91	5.22*	3.63	3.87*	3.45	3.44*	3.40
Monocytes ($\times 10^3/\mu L$)	0.33	0.19	0.19*	0.14	0.12*	0.12*	0.12*	0.13*
Eosinophils ($\times 10^3/\mu L$)	0.13	0.12	0.12	0.09	0.08*	0.08*	0.06*	0.07*
Basophils ($\times 10^3/\mu L$)	0.19	0.11	0.13*	0.10	0.1*	0.1	0.09*	0.10
Large Unstained Cells ($\times 10^3/\mu L$)	0.05	0.03	0.04	0.03	0.03*	0.03	0.03*	0.03
Clinical Chemistry								
Aspartate Aminotransferase (IU/L)	95	152	123*	123	123*	128	118*	130
Alanine Aminotransferase (IU/L)	32	52	39	44	44*	42	43*	45
Alkaline Phosphatase (IU/L)	64	28	68	30	96*	41*	84*	42*
Cholesterol (mg/dL)	96	114	92	102	91	85*	86	90*
Triglycerides (mg/dL)	233	170	96*	62*	51*	41*	47*	46*
Albumin (g/dL)	4.3	5.5	4.3	5.3	4.4	5.0*	4.3	4.9*
Globulin (g/dL)	3.0	2.7	3.0	2.8	3.1	3.0*	3.1	3.1*
Albumin/Globulin Ratio	1.5	2.1	1.5	1.9	1.4	1.7*	1.4	1.6*
Glucose (mg/dL)	104	100	88*	88*	88*	88*	96	89*
Creatinine (mg/dL)	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8*	0.9*	0.8*	0.9*
Urea Nitrogen (mg/dL)	13	15	15*	18*	18*	22*	18*	24*
Phosphorus (mg/dL)	6.4	5.9	6.7	6.9	7.9*	7.7	7.7*	8.4*
Sodium (mmol/L)	146	146	148	147	151*	148	151*	148
Urinalysis								
Urine Volume (mL)	22.2	7.9	7.2*	6.4	8.9*	10.5	9.1*	8.7
Specific Gravity	1.020	1.025	1.043*	1.031	1.040*	1.024	1.040*	1.026

2.6.7.7.4　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Organ Weights (%)[f]								
Uterus (g)	NA	0.6916 g	NA	+6	NA	-29	NA	-36*
Gross Pathology								
Uterus, cyst	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Histopathology								
Mammary gland (number examined)	7	10	10	10	9	10	9	10
Hyperplasia, lobular								
Minimal	0	2	0	3	8	3	6	0
Slight	0	0	0	3	0	7	0	9
Ovary (number examined)	0	10	0	10	0	10	0	10
Corpora lutea, eosinophilic, nondegenerate, increased								
Present	NA	3	NA	2	NA	7	NA	10
Vagina (number examined)	0	10	0	10	0	10	0	10
Mucification/atrophy, epithelium								
Present	NA	0	NA	4	NA	9	NA	8
Uterus (number examined)	0	10	0	10	0	10	0	10
Decreased cell size, myometrium								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Slight	NA	0	NA	0	NA	4	NA	2
Moderate	NA	0	NA	0	NA	2	NA	5
Decidual reaction								
Present	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

2.6.7.7.4　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Adrenal cortex (number examined)	10	10	10	10	9	10	9	10
Angiectasis								
Minimal	0	0	0	1	0	1	0	4
Slight	0	0	0	2	0	2	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Marrow, femur (number examined)	10	10	10	10	9	10	9	10
Adipocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	4	0	0	0	1
Slight	0	0	1	0	0	1	1	1
Moderate	0	0	0	1	0	4	0	3
Marked	0	0	0	2	0	5	0	5
Marrow, sternum (number examined)	10	10	10	10	9	10	9	10
Adipocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
Slight	0	0	0	3	0	1	1	1
Moderate	0	0	0	2	0	4	0	3
Marked	0	0	0	1	0	5	0	5
Eye (number examined)	10	10	10	10	9	10	9	10
Degeneration, retina								
Not Present	10	10	10	10	7	8	7	8
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	2

2.6.7.7.4　ラットを用いた６ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**15**	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Lung (number examined)	10	10	10	10	9	10	9	10
Infiltrate, macrophage, alveolus								
Not Present	10	7	7	7	3	7	2	1
Minimal	0	3	3	3	6	3	7	9
6-Week Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Clinical Observations								
Myoclonic jerking, entire body	0	0	0	0	0	0	1	0
Clonic convulsions, less than 1 minute	0	0	0	0	0	0	1	0
Body Weight (%)[d]	940 g	448 g	-14	-16*	-22*	-15	-31*	-21*
Food Consumption (%)[d]								
Recovery days 35-42	32 g	18g	+7	-7	+3	+6	-8	+15
Hematology								
MCV (fL)	54.0	55.9	54.0	56.0	52.9	56.1	54.2	60.0*
Clinical Chemistry								
Glucose (mg/dL)	127	109	106*	112	109*	110	108*	112
Histopathology								
Mammary gland (number examined)	2	5	4	5	2	4	2	4
Hyperplasia, lobular								
Minimal	0	2	0	2	0	0	1	1
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4　ラットを用いた 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		15	
Number of Main Study Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Marrow, femur (number examined)	5	5	5	5	4	5	4	5
Adipocytes, decreased								
Minimal	0	0	1	1	1	4	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Marrow, sternum (number examined)	5	5	5	5	4	5	4	5
Adipocytes, decreased								
Minimal	0	0	1	1	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	2	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Eye (number examined)	5	5	5	5	4	5	4	5
Degeneration, retina								
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	1	0	1

- = No noteworthy findings; * = statistically significant difference from control, $p \leq 0.05$; F = female; M = male; NA = not applicable

a) A thorough brain microscopic examination of multiple brain sections was performed to allow in-depth evaluation of all brain areas including the dopamine rich areas. The brains from all animals (terminal and recovery sacrifices) were divided into 8 full coronal sections plus two sagittal sections of the olfactory lobes (if present in the wet tissue). The coronal sections were examined a neuropathologist. All sections were embedded in paraffin, sectioned at approximately 5 microns, and then stained with H&E.

b) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.13.

c) One male rat given 10 mg/kg/day was sacrificed for humane reasons on Day 100 of the dosing phase due to repeated convulsions that occurred during animal handling or dosing over several consecutive days. Another 10 mg/kg/day male was euthanized in a moribund condition due to an eye injury likely related to trauma suffered in the cage, potentially caused by the cage feeder. Two 15 mg/kg/day males were found dead (Day 161 of the dosing phase and Day 15 of the recovery phase); a direct role of test article could not be ruled out.

2.6.7.7.4　ラットを用いた６ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

d) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
e) Food consumption was statistically significantly decreased relative to control throughout the study period for ≥ 3 mg/kg/day males. For the first two weeks of the dosing phase, ≥ 3 mg/kg/day females had statistically significantly lower food consumption. This pattern continued to Day 29 for 3 mg/kg/day females. However, at ≥ 10 mg/kg/day, food consumption for females was higher starting on Days 22 to 29 and thereafter.
f) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 14-Day Oral (Capsule) Toxicity Study in Dogs with a Minimum of 1-Week Recovery Period									**Test Article:** NBI-98854, NBI-98782			
Species/Strain: Beagle dog **Initial Age:** ~ 5 to 6 months at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]			**Duration of Dosing:** 14 days **Duration of Postdose:** 11 to 12 days **Method of Administration:** Oral (capsule) **Vehicle/Formulation:** Capsule						**Study No.:** [redacted]-3332 **GLP Compliance:** Yes			
Special Features: Neuropathology.[a] Respiratory assessment was included as part of the study and is described in detail in Section 2.6.3.4. **No Observed Adverse Effect Level:** 15 mg/kg/day												
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**5 (NBI-98854)**		**15 (NBI-98854)**		**35/30[b] (NBI-98854)**		**7.5 (NBI-98782)**		**15 (NBI-98782)**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[c]												
Day 1												
NBI-98854	NA	NA	1,510	1,530	6,880	6,780	13,100	19,500	NA	NA	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	68.9	65.8	244	209	418	381	NA	NA	NA	NA
NBI-98782	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	579	450	1,150	891
Day 14												
NBI-98854	NA	NA	1,730	1,680	6,470	9,410	13,900	15,000	NA	NA	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	79.8	72.4	298	290	404	357	NA	NA	NA	NA
NBI-98782	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	989	1,040	2,300	2,570
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[c]												
Day 1												
NBI-98854	NA	NA	6,410	5,580	26,100	29,700	77,000	72,300	NA	NA	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	508	449	1,920	1,840	4,870	4,050	NA	NA	NA	NA
NBI-98782	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1,460	968	3,670	3,660

2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**5 (NBI-98854)**		**15 (NBI-98854)**		**35/30[b] (NBI-98854)**		**7.5 (NBI-98782)**		**15 (NBI-98782)**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**
Day 14												
NBI-98854	NA	NA	7,760	6,770	31,900	36,400	78,100	83,300	NA	NA	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	603	547	2,720	2,320	4,170	3,520	NA	NA	NA	NA
NBI-98782	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,760	2,040	7,070	7,040
Noteworthy Findings												
Died or Sacrificed Moribund[d]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Clinical Observations												
Ataxia	0	0	0	0	2	2	3	6	2	2	3	3
Convulsions[e]	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0
Decreased activity	0	0	4	4	6	6	6	6	4	4	6	6
Intermittent trembling	0	0	0	0	3	4	4	6	2	1	4	4
Lethargic	0	0	4	4	6	6	6	6	4	4	6	6
Recumbent	0	0	4	4	6	6	6	6	4	4	6	6
Trembling	0	0	2	0	4	4	4	5	1	2	4	2
Unsteady head	0	0	0	0	0	3	1	3	0	0	0	0
Aggressive	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Circling	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Rigidity	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Vocalizing	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1	1
Ptosis	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0
Excessive salivation	0	0	0	0	1	0	3	5	0	0	1	0

2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**5 (NBI-98854)**		**15 (NBI-98854)**		**35/30[b] (NBI-98854)**		**7.5 (NBI-98782)**		**15 (NBI-98782)**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**
Vomit	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Vomit – apparent test article	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Vomit – capsule	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0
Vomit – food	1	1	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0
Vomit – partial capsule	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Vomit – white froth	0	0	0	0	0	0	2	5	0	0	0	0
Body Weight (%)[f]	8.3 kg	7.5 kg	+0	-4	+1	-7	-1	-13	+0	-8	-4	-11
Food Consumption (< 50% consumed)	0	0	0	0	0	1	2	3	0	0	0	2
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology												
Reticulocytes (x10^9/L)	70.7	79.1	64.9	50.7	63.7	57.1	44.8*	44.2	40.5*	64.1	43.3*	53.6
Lymphocytes (x10^3/µL)	2.74	2.97	2.20	2.66	2.65	2.36	2.43	2.34	2.30	2.50	2.09*	2.39*
Coagulation												
APTT (seconds)	17.6	16.7	15.5	16.5	15.9	16.4	15.3	16.0	16.3	15.8	14.9*	17.1
Serum Chemistry												
Glucose (mg/dL)	85	92	96*	93	95*	95	106**	98	93**	91	103**	96
Total Protein (g/dL)	5.1	5.3	5.3	5.3	5.5	5.5	5.4	5.4	5.2	5.2	5.5*	5.5
Albumin (g/dL)	2.8	3.1	3.0	3.1	3.1	3.3	3.0	3.2	3.0	3.1	3.2**	3.2
Phosphorus (mg/dL)	6.8	6.2	5.7	6.0	6.3	5.7	6.1	5.9	6.0	5.8	5.8*	6.0
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[g]												
Thymus	12.539 g	12.74 g	-44*	-20	-40	-44*	-31	-57*	-36	-57**	-44*	-40

2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**5 (NBI-98854)**		**15 (NBI-98854)**		**35/30[b] (NBI-98854)**		**7.5 (NBI-98782)**		**15 (NBI-98782)**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology												
Number examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Thymus												
Cellularity, decreased												
minimal	0	0	0	0	1	2	3	1	1	1	1	3
slight	0	0	1	0	2	0	1	2	1	1	2	0
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
11/12 Day Postdose Evaluation Period												
Number Examined	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	2	2
Hematology												
Reticulocytes (10^9/L)	93.2	59.2	NA	NA	36.3	50.6	44.7	42.8	NA	NA	31.1	46.5
Lymphocytes (10^3/μL)	3.09	2.69	NA	NA	3.03	2.56	2.36	2.31	NA	NA	2.02	2.83
Organ Weights (%)[g]												
Thymus (g)	10.121	7.741	NA	NA	-25	-14	-43	-29	NA	NA	-18	+58
Histopathology												
Thymus												
Cellularity, decreased												
minimal	0	0	NA	NA	0	0	2	1	NA	NA	0	0
slight	0	0	NA	NA	0	0	0	0	NA	NA	1	0

2.6.7.7.5　イヌを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（続き）

- = No noteworthy findings; statistically significant difference from control: * = p ≤ 0.05; control, ** = p ≤ 0.01; F = female; M = male; NA = not applicable

a) In addition to the standard examination of the brain tissue, the brain tissue in the current study was sectioned extensively to allow examination of dopamine-rich areas (substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum) and stained with standard (Hematoxylin and Eosin) and specialized (Fluoro-Jade B) techniques to better identify necrotic neurons if present.

b) Based on the observation of convulsions at 35 mg/kg/day NBI-98854, the dose was lowered to 30 mg/kg/day on Day 10/11, respectively, to allow the remaining animals to survive through study termination.

c) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.16.

d) One 35 mg/kg/day NBI-98854 male was euthanized in moribund condition on Day 10. Clinical observations preceding death included clonic/tonic convulsions accompanied by thrashing, grey gums, weak pulse, and emesis.

e) Convulsions were accompanied by thrashing, pale/grey gums, weak pulse, jerky/uncoordinated movements, excessive salivation, difficulty standing, head bobbing, trembling, and/or recumbency.

f) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

g) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.6　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 91-Day Study of NBI-98854 by Oral Capsule in Dogs with a 28-Day Recovery Period		**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Beagle dogs **Initial Age:** ~ 6 months at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** 91 days **Duration of Postdose:** 28 days **Method of Administration:** Oral (capsule) **Vehicle/Formulation:** Capsule	**Study No.:** 20008482 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Neuropathology[a] **No Observed Adverse Effect Level:** 20 mg/kg/day		

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**2**		**5**		**12.5**		**20**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[b]										
Day 1										
NBI-98854	NA	NA	721	779	2,213	2,229	7,909	4,784	11,241	10,019
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	22.0	23.7	56.2	55.1	194	121	253	219
Day 91										
NBI-98854	NA	NA	1037	1,162	2,656	2,924	7,110	4,762	8,189	7,407
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	28.3	29.8	119	108	348	227	504	401
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[b]										
Day 1										
NBI-98854	NA	NA	2,265	2,347	6,239	7,781	25,600	18,907	37,288	45,853
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	174	172	433	510	2,033	1,266	2,511	2,896
Day 91										
NBI-98854	NA	NA	4,090	4,010	11,857	11,759	33,885	24,285	47,649	49,394
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	284	266	1,252	1,024	3,808	2,474	6,457	5,485
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.6　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**2**		**5**		**12.5**		**20**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Clinical Observations										
Decreased activity	2	0	0	0	6	6	6	6	6	6
Tremors	0	0	0	0	6	6	6	6	6	6
Wobbly gait	0	0	0	0	4	2	6	6	4	6
Body Weight (%)[c]	10,178 g	8,598 g	-3	-4	-4	-3	-15	-5	-8	-13
Food Consumption (%)[c]	285 g	232 g	-12	+22	-21	-21	-22	+9	-19	-13
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography[d]										
QT Interval (msec)	188	185	194	181	204	204	212	198	205	215**
QTc Interval (msec)	221	220	231	212	225	222	232	224	234	245**
Hematology										
Hemoglobin (g/dL)	15.9	17.4	17.0	17.3	17.2	16.5	16.5	16.8	14.4*	16.6
MCHC (g/dL)	34.8	34.4	34.7	34.2	34.9	34.7	34.8	34.7	34.9	35.1*
Reticulocytes ($\times 10^9$/L)	30.6	39.3	31.9	37.5	47.2*	38.7	38.2	55.7	27.8	48.5
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry										
Glucose (mg/dL)	96	90	95	85	104	90	97	100	101	103*
Potassium (mmol/L)	4.31	4.75	4.62	4.58	4.52	4.60	4.45	4.42*	4.39	4.44*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Prolactin[e]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[f]										
Thymus	9.97 g	6.31 g	-30	+26	-18	+44	-65	-20	-51	-38
Gross Pathology										
Number examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Thymus, small	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

2.6.7.7.6　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**2**		**5**		**12.5**		**20**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Histopathology										
Thymus (number examined)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Lymphoid depletion										
minimal	0	1	0	1	0	0	0	2	0	2
mild	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
Liver (number examined)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Hyperplasia, macrophages, sinusoidal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Infiltration, granulocytic, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, chronic, pericholangial										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Cervix (number examined)	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4
Inflammation, chronic, perivascular, focal										
minimal	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Heart (number examined)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Inflammation, chronic/active, focal										
mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.7.6　イヌを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**2**		**5**		**12.5**		**20**	
Number of Animals	**M:6**	**F:6**	**M:4**	**F:4**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**	**M:6**	**F:6**
Oviducts (number examined)	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4
Inflammation, chronic/active, perivascular, bilateral										
minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Necrosis, vascular wall, bilateral										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28-Day Postdose Observation:										
Number Examined	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2
Body Weight (%)[c]	10,956 g	10,046 g	NA	NA	0	-17	-12	-16	-3	-18

- = No noteworthy findings; * ($p \leq 0.05$) and ** ($p \leq 0.01$) = statistically significant difference from control; F = female; M = male; NA = not applicable

a) In addition to the standard examination of the brain tissue, extensive staining with Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) to evaluate astrocyte reactions, Fluoro-Jade B staining to assess neuronal necrosis, and tyrosine hydroxylase staining for dopaminergic neurons, and processes were performed for in-depth investigation of the substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum tissue sections.

b) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.17.

c) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

d) Collected on Study Day 85/86.

e) Serum prolactin concentrations were measured using an exploratory assay.

f) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.7.7　イヌを用いた９ヶ月間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 9-month Study of NBI-98854 by Oral Capsule Administration in Dogs with a 1-month Recovery Period									**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Beagle Dog **Initial Age:** 26 to 27 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]				**Duration of Dosing:** 273/274 days **Duration of Postdose:** 27/28 days **Method of Administration:** Oral (capsule) **Vehicle/Formulation:** Capsule					**Study No.:** 20028697 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Neuropathology[a]									
No Observed Adverse Effect Level: 15 mg/kg/day									
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**3**		**10**		**15**		
Number of Animals	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[b]									
Day 1									
NBI-98854	NA	NA	1,280	1,340	4,310	4,110	8,120	6,510	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	41.3	45.4	124	98.4	176	167	
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	75.6	126	339	238	482	390	
Day 273									
NBI-98854	NA	NA	1,780	1,670	6,620	6,360	10,900	9,730	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	42.9	39.4	175	128	290	238	
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	135	136	423	433	677	539	
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[b]									
Day 1									
NBI-98854	NA	NA	4,280	4,160	14,600	15,000	30,900	25,900	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	336	329	1,130	994	2,000	1,850	
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	886	1,040	3,460	3,170	5,140	5,190	
Day 273									
NBI-98854	NA	NA	10,200	7,450	36,700	28,700	73,000	52,200	
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	445	369	2,100	1,350	3,890	2,880	

2.6.7.7.7　イヌを用いた９ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**3**		**10**		**15**	
Number of Animals	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,890	1,450	6,260	5,200	10,800	8,350
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Decreased activity	0	0	5	4	7	7	7	7
Intermittent tremors	0	0	2	1	7	7	7	7
Eyelids partially closed	0	0	0	0	7	7	7	7
Body Weight (%)[c]	9,933 g	9,254 g	-1	-5	+7	-6	-1	-4
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Opthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography[d]								
QTc (msec)	214	214	220	211	224	229	234*	221
Electroencephalography and Electromyography[e]								
Behavioral tremors (number examined)[f]	5	5	5	5	5	5	5	5
Day 246/247								
Predose	0		0		1		2	
2-hours postdose	0		2		7		6	
4-5 hours postdose	0		0		6		5	
Day 254/255								
Predose	0		0		0		0	
2-hours postdose	0		1		4		6	
4-5 hours postdose	0		0		5		9	
Hematology								
Red Distribution Width (%)	13.7	13.4	13.3	13.2	13.3	12.9*	13.4	13.1

2.6.7.7.7　イヌを用いた９ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**3**		**10**		**15**	
Number of Animals	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**
Coagulation								
APTT (seconds)	12.5	12.8	12.2	12.8	12.1	12.3	11.4*	12.3
Prothrombin Time (seconds)	7.9	7.6	7.7	7.6	7.8	7.4	7.3*	7.6
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Total Bilirubin (mg/dL)	0.16	0.21	0.19*	0.25	0.18*	0.23	0.20*	0.20
Total Protein (g/dL)	5.11	5.1	5.14	4.95	5.17	4.98	5.98*	5.61*
Globulin (g/dL)	2.01	1.96	1.96	1.84	2.11	1.89	2.72*	2.52*
Albumin/Globulin Ratio	1.57	1.62	1.62	1.70	1.47	1.64	1.21*	1.23*
Creatinine (mg/dL)	0.61	0.64	0.71*	0.61	0.76*	0.67	0.76*	0.71
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[g]								
Prostate	9.37 g	NA	-17	NA	-24	NA	-43*	NA
Gross Pathology								
Kidney, cortex (number examined)	5	5	5	5	5	5	5	5
Irregular surface	0	0	0	0	0	0	0	1
Area pale	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology								
Prostate (number examined)	5	NA	5	NA	5	NA	5	NA
Dilation								
minimal	1	NA	1	NA	1	NA	1	NA
mild	1	NA	3	NA	3	NA	1	NA
moderate	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Infiltration, mononuclear cell								
minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA

2.6.7.7.7　イヌを用いた 9 ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**3**		**10**		**15**	
Number of Animals	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**	**M:7**	**F:7**
Kidney (number examined)	5	5	5	5	5	5	5	5
Infarct, multifocal								
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Infiltration, mononuclear cell								
minimal	2	0	1	1	2	1	2	2
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Month Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Body Weight (%)[c]	8,422 g	9,406 g	+12.3	-9.8	+20.7	-10.3	+9.4	-3.6
Gross Pathology								
Kidney, cortex (number examined)	2	2	2	2	2	2	2	2
Irregular surface	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology								
Kidney (number examined)	2	2	2	2	2	2	2	2
Infarct, multifocal								
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Infiltration, mononuclear cell								
minimal	1	0	0	0	1	1	0	0

- = No noteworthy findings; * = statistically significant difference from control, $p \leq 0.01$; APTT = activated partial thromboplastin time; F = female; M = male; NA = not applicable

a) Brains from all animals were evaluated by a neuropathologist. Brains were sectioned to produce at least 15 total sections in at least 14 blocks, including all major brain regions and spanning the brain from the prefrontal cortex to the brain stem with emphasis on capturing the areas of the substantia nigra and striatum (caudate putamen area). All sections were cut at approximately 5 microns, mounted to slides, and stained with H&E.

b) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.18.

c) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

d) Data collected on Day 137. No findings noted on Day 270.

2.6.7.7.7　イヌを用いた９ヶ月間反復経口投与毒性試験（続き）

e) Electroencephalography (EEG) measurements were initially obtained on Day 246/247; a second EEG recording was obtained on Day 254/255. Electromyography, a direct measure of muscle activity, was included in the second EEG recording session (Day 254/255).
f) Behavioral tremors = tremors that exceeded the amplitude of duration of benign sling-based tremors. These treatment-related tremors occurred in repetitive high-amplitude bursts and involved proximal muscles.
g) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

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スクリーニング試験

Report Title: *Salmonella*/Mammalian Microsome Reverse Mutation Screening Assay with NBI-98854		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 1	**Test Article:** NBI-98854
Strain: *Salmonella typhimurium*	**Number of Replicate Cultures:** 2	**Study No.:** Ames-Prodrugs-98854-07-01
Metabolizing System: Aroclor™1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** No
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Sterile Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: + S9: TA98 (≥ 333 µg/plate); TA100 (≥ 100 µg/plate); - S9: TA98 (≥ 100 µg/plate); TA100 (≥ 33.3 µg/plate)		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]	
		Strain	
		TA98	**TA100**
Without Metabolic Activation			
DMSO	0	15 ± 1	101 ± 6
NBI-98854	1	16 ± 6	105 ± 14
	3.33	13 ± 4	103 ± 11
	10	13 ± 4	96 ± 4
	33.3	13 ± 1	92 ± 18[R]
	100	14 ± 4[R]	52 ± 4[R]
	333	4 ± 1[R]	0 ± 0[A]
	1,000	0 ± 0[A]	0 ± 0[A]
2-Nitrofluorene	0.1	279 ± 12	-
Sodium azide	2	-	543 ± 19

2.6.7.8.1　細菌を用いた復帰突然変異スクリーニング試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]	
		Strain	
		TA98	TA100
With Metabolic Activation			
DMSO	0	15 ± 2	108 ± 12
NBI-98854	1	16 ± 2	102 ± 10
	3.33	13 ± 4	114 ± 19
	10	13 ± 2	98 ± 19
	33.3	24 ± 8	110 ± 1
	100	20 ± 4	107 ± 4 [R]
	333	8 ± 4 [R]	61 ± 9 [R]
	1,000	0 ± 0 [A]	0 ± 0 [A]
Benzo[a]pyrene	0.5	161 ± 13	-
2-Aminoanthracene	0.25	-	1,236 ± 15

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted; R = reduced, A = absent

2.6.7.8.2　細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay for NBI-98854		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-98854
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 6944-354
Metabolizing System: Aroclor™1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: +S9: TA98, TA100, TA1535, and TA1537 (≥ 2,000 µg/plate), WP2*uvr*A (5,000 µg/plate); -S9: TA98 and TA100 (≥ 1,000 µg/plate), TA1537 (≥ 2,000 µg/plate), TA1535 and WP2*uvr*A (5,000 µg/plate)		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	0	16 ± 5	89 ± 14	16 ± 4	5 ± 4	20 ± 3
NBI-98854	10.0	10 ± 4	98 ± 9	23 ± 3	5 ± 1	13 ± 3
	33.3	12 ± 4	87 ± 12	26 ± 3	8 ± 2	21 ± 4
	100	12 ± 4	86 ± 7	21 ± 3	4 ± 3	13 ± 3
	393	12 ± 4	89 ± 10	23 ± 7	5 ± 4	14 ± 7
	1,160	16 ± 4	65 ± 3 [R]	18 ± 1	6 ± 4	12 ± 6
	2,000	9 ± 1 [R]	33 ± 11 [R]	11 ± 1 [R]	1 ± 2 [R]	7 ± 2
	5,000	0 ± 0 [R]	1 ± 2 [R]	2 ± 3 [R]	0 ± 0 [R]	4 ± 2 [R]
2-Nitrofluorene	1.0	171 ± 40	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	966 ± 30	777 ± 33	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	229 ± 40	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	244 ± 74

2.6.7.8.2　細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	0	22 ± 5	83 ± 9	10 ± 1	6 ± 1	22 ± 10
NBI-98854	10.0	19 ± 7	78 ± 14	11 ± 1	7 ± 4	14 ± 3
	33.3	14 ± 3	81 ± 10	12 ± 3	4 ± 2	12 ± 4
	100	18 ± 4	81 ± 8	11 ± 7	7 ± 2	18 ± 10
	393	22 ± 1	76 ± 6	11 ± 5	9 ± 2	18 ± 2
	1,160	22 ± 9	48 ± 7 [R]	10 ± 4	5 ± 3	14 ± 6
	2,000	18 ± 11 [R]	6 ± 2 [R]	2 ± 2 [R]	0 ± 0 [R]	11 ± 1
	5,000	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [A]	3 ± 3 [R]
Benzo[a]pyrene	2.5	403 ± 77	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,018 ± 296	135 ± 9	62 ± 10	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	638 ± 26
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	0	11 ± 4	95 ± 11	15 ± 3	3 ± 2	13 ± 4
NBI-98854	11.6	6 ± 5	94 ± 9	15 ± 1	5 ± 1	14 ± 2
	41.6	6 ± 1	72 ± 13	23 ± 6	1 ± 1	13 ± 6
	100	13 ± 7	80 ± 22	28 ± 4	5 ± 3	17 ± 8
	403	12 ± 4	72 ± 7	21 ± 4	5 ± 1	18 ± 2
	1,000	18 ± 1 [R]	27 ± 5 [R]	19 ± 5	4 ± 2	17 ± 3
	2,000	9 ± 5 [R]	4 ± 4 [R]	10 ± 4	3 ± 1 [R]	8 ± 3
	5,000	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	2 ± 2 [R]
2-Nitrofluorene	1.0	314 ± 38	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,219 ± 29	801 ± 34	-	-

2.6.7.8.2　細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
ICR-191	2.0	-	-	-	922 ± 185	
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	921 ± 101
Confirmatory Trial:　With Metabolic Activation						
DMSO	0	17 ± 4	108 ± 7	12 ± 6	6 ± 2	16 ± 6
NBI-98854	11.6	16 ± 4	92 ± 20	13 ± 3	6 ± 1	17 ± 4
	41.6	18 ± 3	85 ± 2	8 ± 2	5 ± 3	17 ± 6
	100	16 ± 6	81 ± 9	12 ± 6	5 ± 1	19 ± 3
	403	26 ± 6	76 ± 7	15 ± 5	7 ± 2	19 ± 8
	1,000	23 ± 7	44 ± 11	8 ± 3	6 ± 5	15 ± 1
	2,000	3 ± 3 [R]	4 ± 2 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 1 [R]	12 ± 2
	5,000	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	0 ± 0 [R]	2 ± 2 [R]
Benzo[a]pyrene	2.5	364 ±19	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,146 ±263	207 ± 21	134 ±7	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	326 ±73

- = not evaluated

a)　Mean ± SD values are rounded up

b)　All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted; R = reduced, A = absent

2.6.7.8.3　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常スクリーニング試験

Report Title: Screening Study for Chromosomal Aberrations Assay in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes with NBI-98854 (Fumarate, Lot No. TG-1790-049-D)		
Test for Induction of: Chromosome aberrations	**Number of Independent Assays:** 1	**Test Article:** NBI-98854
Strains: Primary human lymphocytes	**Number of Replicate Cultures:** 2	**Study No.:** 6944-352
Metabolizing System: Aroclor™1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:** 100	**GLP Compliance:** No
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Deionized (DI) Water		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Treatment: Cell cultures exposed for 3 or 22 hours with or without S9 metabolic activation, respectively. The cultures were harvested approximately 22 hours after initiation of treatment.		
Cytotoxic Effects: Dose-related decreases in mitotic indices.		
Genotoxic Effects: None		

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells[b]		Number	
				Mean % -g	Mean % +g	PP Cells	ER Cells
22-Hour Treatment Without Metabolic Activation							
DMSO	0	100	100	1.0	9.0	0	0
NBI-98854	31.3	100	43	0.0	4.0	0	0
Mitomycin C	0.300	100	NA	46.0*	56.0	0	0
3-Hour Treatment With Metabolic Activation							
DMSO	0	100	100	1.0	8.0	0	0
NBI-98854	500	100	45	2.0	5.0	1	0
Cyclophosphamide	40.0	100	NA	25.0*	25.0	0	0

* Structural aberrations excluding gaps significantly greater than the vehicle control, $p \leq 0.01$; ER = endoreduplication; PP = polyploidy

a) Based on mitotic indices

b) -g = % of aberrant cells excluding gaps; +g = aberrant cells including gaps

2.6.7.8.4　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

Report Title: Chromosomal Aberrations Assay in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes for NBI-98854		
Test for Induction of: Chromosome aberrations	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-98854
Strains: Primary human lymphocytes	**Number of Replicate Cultures:** 2	**Study No.:** 6944-355
Metabolizing System: Aroclor™1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:** 100	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Deionized (DI) Water		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Treatment: Cell cultures exposed for 3 or 22 hours with or without S9 metabolic activation, respectively. The cultures were harvested approximately 22 hours after initiation of treatment.		
Cytotoxic Effects: Dose-related decreases in mitotic indices.		
Genotoxic Effects: None		

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells (%)[b]		Number	
				Mean % -g	Mean % +g	PP Cells	ER Cells
Initial Assay: 3-Hour Treatment Without Metabolic Activation							
DMSO	0	200	100	0.5	1.5	0	0
NBI-98854	78.4	200	97	1.0	2.5	0	0
	108	200	64	1.5	2.0	0	0
	154	200	48	1.0	1.5	0.5	0
Mitomycin C	1.00	200	NA	38.0*	43.0	0	0
Initial Assay: 3-Hour Treatment With Metabolic Activation							
DMSO	0	200	100	0.5	0.5	0.5	0
NBI-98854	154	200	93	1.0	1.5	0	0
	207	200	70	2.0	2.5	1.5	0
	402	200	48	0.5	0.5	2.5	0
Cyclophosphamide	25.0	200	NA	29.0*	32.0	0	0

2.6.7.8.4　染色体異常試験（続き）

Test Article	Dose (μg/mL)	Total Cells Analyzed	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells (%)[b]		Number	
				Mean % -g	Mean % +g	PP Cells	ER Cells
Confirmatory Assay: 22-Hour Treatment Without Metabolic Activation							
DMSO	0	200	100	0	0	0	0
NBI-98854	46.8	200	92	1.5	2.0	0	0
	59.8	200	73	0.5	3.5	0	0
	134	200	49	2.0	2.5	0	0
Mitomycin C	0.3	200	NA	36.8*	43.2	0	0
Confirmatory Assay: 3-Hour Treatment With Metabolic Activation							
DMSO	0	200	100	0	2.0	0	0
NBI-98854	400	200	98	0	0.5	0	0
	550	200	64	0.5	0.5	0	0
	650	200	49	0.5	1.5	0.5	0
Cyclophosphamide	25.0	200	NA	42.0*	47.0	0	0

* Structural aberrations excluding gaps significantly greater than the vehicle control, $p \leq 0.01$; ER = endoreduplication; PP = polyploidy

a) Based on mitotic indices

b) -g = % of aberrant cells excluding gaps; +g = % of aberrant cells including gaps

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

Report Title: Rat Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Oral Administration of NBI-98854		
Test for Induction of: Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:** Single dose	**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Sprague Dawley rat	**Sampling Time:** 24 and 48 hours after dosing	**Study No.:** AD20XW.125[redacted]
Age: ~ 7 weeks	**Number of Cells Analyzed/Animal:** 2,000	**GLP Compliance:** Yes
Method of Administration: Oral gavage	**Cells Evaluated:** Polychromatic erythrocytes	**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Test Article: 0.25% (w/v) methylcellulose in water; Positive Control: Sterile water for injection		
Toxic/Cytotoxic Effects: Piloerection at ≥ 15 mg/kg, lethargy at ≥ 30 mg/kg, crusty eyes at 60 mg/kg		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (mg/kg)**	**Number of Males**	**Harvest Time (Hour)**	**PCE/Total Erythrocytes (Mean ± SD)**	**Number of MPCE/1000 PCE (Mean ± SD)**
				Male	**Male**
Vehicle	0	5	24	0.543 ± 0.03	0.4 ± 0.22
		5	48	0.514 ± 0.01	0.4 ± 0.22
NBI-98854	15	5	24	0.495 ± 0.05	0.1 ± 0.22
	30	5	24	0.506 ± 0.05	0.3 ± 0.27
	60	5	24	0.472 ± 0.03	0.2 ± 0.27
		5	48	0.509 ± 0.04	0.4 ± 0.22
Cyclophosphamide	40	5	24	0.396 ± 0.02	11.2** ± 2.41

** = Statistically significant increase compared to vehicle control ($p \leq 0.05$); MPCE = Micronucleated PCE; NCE = Normochromatic erythrocyte; PCE = Polychromatic erythrocyte

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.1　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（5 日間）

Report Title: Preliminary 5 Day Range-finding Toxicity Study		**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: CByB6F1 Mice **Initial Age:** 7 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** 5 days **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water	**Study No.:** AD20XW.2G3R[redacted] **GLP Compliance:** Yes

Special Features: None
Maximum Tolerated Dose (MTD) for next 28-day study: 200 mg/kg/day

Dose Levels (mg/kg/day)	**0**		**30**		**60**		**100**		**200**		**400**	
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Noteworthy Findings												
Died or Sacrificed Moribund[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Body Weight (Day 5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[b]												
Decreased Motor Activity	0	0	3	2	3	2	4	2	5	5	4	5
Ataxia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Increased activity	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Seizures	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3
Tremors	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Vocalization	0	0	0	2	0	1	0	2	0	4	0	0
Rapid and Shallow Breathing	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

- = No noteworthy findings; F = Female; M = Male; NA = Not applicable

a) All animals at 400 mg/kg/day were found dead or sacrificed in a moribund condition on Day 1 or Day 2. Clinical observations noted prior to sacrifice included decreased motor activity, ataxia, and seizures/tremors. There was no evidence of gavage error as determined by gross observations during necropsy, for any animal found dead or moribund sacrificed. These deaths were considered test article-related.

b) Incidence for decreased motor activity, tremors, and seizures combine scheduled and unscheduled clinical observations for 400 mg/kg/day animals.

2.6.7.10.2　CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（28 日間）

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice							**Test Article:** NBI-98854	
Species/Strain: Mouse/CByB6F1 **Initial Age:** 7 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]			**Duration of Dosing:** 28 days **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water				**Study No.:** AD20XW.2G3R[redacted] **GLP Compliance:** Yes	
Special Features: None **No Observed Adverse Effect Level (NOAEL):** 100 mg/kg/day								
Dose Levels (mg/kg/day)	**0**		**50**		**100**		**200**	
Number of Main Study Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[a]								
Day 1								
NBI-98854	NA	NA	4,530	3,550	6,740	6,440	11,300	14,200
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	180	205	241	255	225	346
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	808	753	1,350	1,170	1,290	1,730
Day 28								
NBI-98854	NA	NA	3,150	3,960	3,340	2,990	8,930	6,110
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	142	175	174	150	306	226
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,110	862	1,610	1,180	3,120	1,780
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]								
Day 1								
NBI-98854	NA	NA	28,800	28,500	58,700	61,700	141,000	169,000
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	1,990	1,920	3,320	3,260	3,600	4,950
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	10,700	11,100	18,600	17,200	20,900	32,800
Day 28								
NBI-98854	NA	NA	24,500	22,100	28,900	28,500	57,000	29,200
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	1,800	1,520	2,250	1,890	3,510	2,050
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	13,400	10,200	21,700	15,900	36,200	20,800

2.6.7.10.2 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（28 日間）（続き）

Dose Levels (mg/kg/day)	**0**		**50**		**100**		**200**	
Number of Main Study Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[b]	0	0	0	0	0	0	2	4
Clinical Observations[c]								
Decreased motor activity	0	0	0	0	0	2	5	6
Ataxia	0	0	0	0	0	0	2	1
Increased activity	0	0	0	0	0	0	1	0
Hunched	0	0	0	0	0	0	1	1
Labored breathing	0	0	0	0	0	0	1	3
Ruffled fur	0	0	0	0	0	0	1	2
Tremors	0	0	0	0	0	0	1	2
Seizures[d]	0	0	0	0	0	0	3	2
Circling	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Leukocytes ($\times 10^3/\mu L$)	7.43	4.63	5.44	4.24	4.75	3.77	3.80*	2.58
Lymphocytes ($\times 10^3/\mu L$)	5.96	3.84	3.57*	3.51	3.58*	3.08	2.97*	2.09
Monocytes ($\times 10^3/\mu L$)	0.15	0.05	0.07*	0.05	0.08*	0.04	0.06*	0.03
Eosinophils ($\times 10^3/\mu L$)	0.23	0.21	0.15	0.20	0.15	0.13	0.10*	0.15
Erythrocytes ($\times 10^6/\mu L$)	11.16	11.45	11.58	11.09	11.4	11.31	12.51*	12.09*
Hemoglobin (g/dL)	17.68	17.78	17.62	17.36	17.58	17.72	19.20*	18.60
Hematocrit (%)	55.66	57.90	58.22	56.66	57.04	57.20	62.38*	61.13*

2.6.7.10.2 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（28 日間）（続き）

Dose Levels (mg/kg/day)	**0**		**50**		**100**		**200**	
Number of Main Study Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Serum Chemistry								
Albumin/Globulin Ratio	1.9	2.5	1.8	2.4	1.6*	2.3	1.4*	2.2
Albumin (g/dL)	3.6	3.9	3.6	3.7	3.5	3.6	3.1*	3.6
Creatinine (mg/dL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1*	0.2
Glucose (mg/dL)	196.2	159.2	163.2*	173.6	170*	170.6	157.8*	160.7
Chloride (mmol/L)	107.5	113.4	110.9*	113.1	112.2*	114.3	111.5*	113.6
Blood Urea Nitrogen (mg/dL)	23.6	29.0	25.2	25.2	28.6*	27.4	31.3*	27.3
Globulin (g/dL)	1.9	1.6	2.0	1.6	2.2*	1.6	2.2*	1.6
Triglycerides (mg/dL)	142.8	121.6	176.4	122.2	184.8	98.4	244.3*	122.0
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Nasal Cavity (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
Inflammation, exudative								
minimal	0	0	0	2	0	0	1	1
mild	0	0	0	0	0	0	2	3
moderate	0	0	0	0	0	0	2	3
Liver (number examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
hypertrophy; centrilobular								
minimal	0	0	0	0	0	0	3	2
mild	0	0	0	0	0	0	6	2
depletion, glycogen								
minimal	0	1	0	2	0	3	7	5
mild	0	1	0	0	0	2	3	2

2.6.7.10.2 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（28 日間）（続き）

- = No noteworthy findings; * = p < 0.05; F = Female; M = Male; NA = Not applicable

a) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.7.

b) Two 200 mg/kg/day males were found dead on Days 4 and 28. One 200 mg/kg/day female was found dead on Day 3 and three were found dead on Day 4. The cause of death for these animals could not be determined by histopathology, but all deaths were considered test article-related.

c) No clinical signs were observed past Day 5.

d) Combined findings from scheduled and unscheduled observations.

2.6.7.10.3　rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験

Report Title: NBI-98854 di-tosylate: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.rasH2 Mice									**Test Article:** NBI-98854	
Species/Strain: Tg.rasH2 mice[a] **Initial Age:** 7-8 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] (males) / [redacted] 20[redacted] (females)			**Duration of Dosing:** 26 Weeks **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% methylcellulose in water						**Study No.:** AD20XW.7G8R[redacted] **GLP Compliance:** Yes	
Basis for High Dose Selection: Tolerability data from the pre-carcinogenicity (Report AD20XW.2G3R[redacted]) **Special Features:** None										
Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**75**		**Positive Control[b]**	
Number of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[ac]										
Day 1										
NBI-98854	NA	NA	1,030	848	4,770	4,110	6,350	5,860	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	44.6	51.1	116	151	184	207	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	309	272	1,090	839	1,410	1,070	NA	NA
Day 177										
NBI-98854	NA	NA	699	660	2,230	1,490	2,350	2,760	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	47.6	47.8	105	88.2	130	130	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	263	214	645	498	1,200	833	NA	NA
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[ac]										
Day 1										
NBI-98854	NA	NA	3,550	2,890	21,800	15,100	52,900	38,200	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	319	307	1,020	1,100	1,800	2,100	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,880	1,650	9,330	6,890	20,100	15,100	NA	NA
Day 177										
NBI-98854	NA	NA	3,090	2,300	11,300	8,150	19,100	24,900	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	407	305	1,000	761	1,580	1,460	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	1,830	1,380	6,490	4,440	14,100	11,300	NA	NA

2.6.7.10.3 rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**75**		**Positive Control[b]**	
Number of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	2	0	1	2	0	0
Body Weight (%)[d]	26.65 g	21.58 g	- 3	0	0	+1	+2	+5*	NA	NA
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[e]										
Adrenals	0.00631	0.00771	-3	24**	8	22**	7	10	NA	NA
Heart	0.18661	0.15659	0	4	9**	3	5	10*	NA	NA
Liver	1.63112	1.38535	-5	-4	2	1	7*	9**	NA	NA
Histopathology - Tumors										
Lung (adenoma)	1	3	1	0	3	1	2	1	10**	10**
Spleen (hemangiosarcoma)	1	1	2	0	0	2	1	0	7**	5**
Testes (hemangiosarcoma)	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	NA	NA
Abdominal Cavity (hemangioma)	0	0	0	1	0	0	0	0	NA	NA
Ovaries (hemangiosarcoma)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	NA
Harderian Gland (carcinoma, adenoma)	0	0	1	3	0	1	0	0	NA	NA
Nasal Cavity, adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1	NA	NA
Mediastinum, mesothelioma	0	0	0	0	0	0	0	1	NA	NA
Sarcoma (multicentric)	0	0	0	0	0	1	0	0	NA	NA
Skin (squamous cell carcinoma, papilloma)	0	0	0	0	1	1	0	0	NA	NA
Stomach (non-glandular, papilloma)	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Thyroid (follicular adenoma)	1	0	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Histopathology – Non-Neoplastic										
Nasal Cavity, exudative inflammation	3	3	1	5	6	9	11	11	NA	NA

2.6.7.10.3 rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験（続き）

- = No noteworthy findings; statistically significant from control: * = p < 0.05, ** = p < 0.01; F = female; M = male; NA = Not applicable

a) Toxicokinetic evaluation was conducted in wild-type CByB6F1 mice.

b) An additional group (10 animals/sex) was administered a total of 3 intraperitoneal injections (Days 1, 3, and 5) of 1000 mg/kg/day urethane as a positive control for the study.

c) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.8.

d) At the end of dosing (Day 183). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. All percent difference values are rounded to the nearest whole number

e) Both absolute and relative weights (relative to body weight and/or brain weight) differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.10.4　ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験

Report Title: 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with NBI-98854 in Rats		**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Rat / Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing:** 91 to 92 Weeks	**Study No.:** 8299648
Initial Age: 47 to 55 days old	**Method of Administration:** Oral gavage	**Location in CTD:** Vol. Page
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) / [redacted] 20[redacted] (females)	**Vehicle Control Article:** 0.25% (w/v) methylcellulose (4000 cPs) in reverse osmosis water	**GLP Compliance:** Yes

Basis for High Dose Selection: High dose of 2 mg/kg/day was selected to minimize the occurrences of adverse central nervous system effects and body weight changes that could jeopardize the validity or the outcome of the study. Doses for the study were selected based on ECAC recommendations with the top dose at 2 mg/kg/day.

Special Features: none

Sex	**Male**				**Female**			
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**
Number of Carcinogenicity Animals at Start	60	60	60	60	60	60	60	60
Number of Toxicokinetic Animals	3	6	6	6	3	6	6	6
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
NBI-98854								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NC	46.9 ± 5.98	115 ± 26.5	NA	23.3 ± 7.59	80.6 ± 19.5	274 ± 11.7
C_{max} (ng/mL)	NA	NC	10.9 ± 1.27	22.8 ± 1.89	NA	4.66 ± 2.47	12.6 ± 0.768	37.8 ± 1.31
Week 26								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	22.4 ± 13.3	112 ± 31.2	369 ± 51.2	NA	119 ± 28.5	321 ± 40.2	825 ± 60.0
C_{max} (ng/mL)	NA	7.22 ± 0.396	26.4 ± 6.74	62.6 ± 14.7	NA	20.9 ± 7.09	65.4 ± 10.7	181 ± 33.0
NBI-136110								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	19.1 ± 7.91	74.9 ± 7.99	168 ± 15.6	NA	50.0 ± 3.20	96.5 ± 5.19	223 ± 19.9
C_{max} (ng/mL)	NA	2.81 ± 0.368	8.11 ± 1.53	14.5 ± 2.45	NA	4.39 ± 0.252	8.27 ± 0.458	14.1 ± 1.18

2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（続き）

Sex	**Male**				**Female**			
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**
Week 26								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	81.7 ± 6.01	154 ± 13.2	344 ± 54.5	NA	106 ± 7.51	235 ± 21.1	436 ± 32.0
C_{max} (ng/mL)	NA	6.66 ± 1.07	14.2 ± 1.66	30.2 ± 5.31	NA	9.00 ± 0.799	20.3 ± 3.15	39.2 ± 6.32
NBI-98782								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	84.3 ± 9.95	169 ± 12.8	381 ± 44.2	NA	116 ± 3.36	302 ± 37.7	574 ± 33.9
C_{max} (ng/mL)	NA	9.65 ± 0.435	20.4 ± 2.51	40.9 ± 1.19	NA	11.5 ± 0.604	22.8 ± 2.66	51.2 ± 7.41
Week 26								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	132 ± 12.0	295 ± 25.8	641 ± 74.9	NA	177 ± 8.07	450 ± 54.1	794 ± 70.5
C_{max} (ng/mL)	NA	14.0 ± 2.09	30.3 ± 1.07	66.8 ± 6.24	NA	18.2 ± 0.539	38.5 ± 4.75	76.8 ± 11.4
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	40	38	37	27	40	45	42	33
Number of Animals at Terminal Sacrifice	20	22	23	33	20	15	18	27
Survival to Terminal Sacrifice (%)	33.3%	36.7%	38.3%	55.0%	33.3%	25.0%	30.0%	45.0%
Clinical Observations[a,b]								
Increased sensitivity to stimulus	0(0)	0(0)	0(0)	24(6)	0(0)	2(2)	0(0)	944(49)
Hyperactive	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	572(44)
Sensitive to touch	3(3)	2(2)	5(3)	95(11)	0(0)	0(0)	5(2)	0(0)
Straub tail	0(0)	0(0)	8(2)	3(1)	0(0)	0(0)	0(0)	380(10)
Animal struggled excessively	0(0)	3(2)	0(0)	8(5)	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
Animal bit/lunged at tech	0(0)	2(1)	4(2)	2(2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Struggled during dosing	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（続き）

Sex	**Male**				**Female**			
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**	**0 (Control)**	**0.5 (Low)**	**1 (Mid)**	**2 (High)**
Body Weight (%)[c]								
Week 5	433 g	99	97	95*	271 g	98	97	93*
Week 13	627 g	98	97	92*	334 g	99	96	94*
Week 26	758 g	98	96	91*	394 g	101	96	94*
Week 52	905 g	99	96	85*	516 g	101	94	90*
Week 78	981 g	96	97	84*	581 g	105	94	92
Week 90	1015 g	92	93	83*	616 g	106	103	92
Food Consumption (%)[d]								
Week 6 to 7	199 g	0.0	-2.0	-7.0*	130 g	+2.3	-0.8	+6.9*
Week 12 to 13	198 g	0.0	-2.5	-7.6*	121 g	+6.6*	+4.1	+15.7*
Week 25 to 26	204 g	-1.5	-3.9	-3.9	136 g	0.0	+2.2	+10.3*
Week 33 to 34	208 g	-3.8	-4.3	-5.8	142 g	+3.5	+2.8	+8.5*
Week 57 to 58	216 g	-5.1	-10.2*	-13.4*	151 g	+2.6	-4.6	+0.7
Mass Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations								
Skin Mass	8	10	9	5	16	14	13	28
Histopathology								
Number of Animals Examined	57	59	59	57	59	59	60	60
Mammary Gland Neoplasms								
B-Fibroadenoma	1	0	1	0	21	23	23	29
B-Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	4**
M-Carcinoma	3	0	2	0	17	23	19	24
Total Mammary Gland Neoplasms[e]	4	0	3	0	32	37	31	42

2.6.7.10.4 ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（続き）

- = No noteworthy findings; NC = Not calculated; NA = Not applicable.
* = Statistically significant based on actual data (not on percent of control or percent difference from control).
** = Based on statistical analysis of group means, values are significantly different from control at p≤0.05 in the Log Rank test only.

a) Presented as: Number of Observations (Number of Animals Affected)
b) If observation was seen multiple times per day on the same animal, this counted as one. Bolded findings attributed to test article.
c) For control, group mean is shown. For treated groups, percent of controls is shown (consistent with Text Table 4.3 of main study report).
d) For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.
e) Total fibroadenoma, adenoma, and carcinoma

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：用量設定試験

2.6.7.11.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number Females per Group**	**Noteworthy Findings[ab]**	**Study Number**
Sprague Dawley rat	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	GD 6 to GD 17	0, 1, 3, 10, 15	6	Clinical Observations - Decreased activity at ≥ 3 mg/kg/day - Hunched posture, irregular respiration, and squinted eyes at ≥ 10 mg/kg/day Maternal Body Weight - ↓ 10%, 15%, 19%, and 18% at 1, 3, 10, and 15 mg/kg/day on GD 21 Maternal Food Consumption - ↓ 19%, 25%, 27%, and 29% at 1, 3, 10, and 15 mg/kg/day from GD 6 to GD 21 Fetal Weight - ↓ 4% to 8% at ≥ 1 mg/kg/day (no clear dose-dependency) Fetal External Examinations - Edema noted in all fetuses from 1 out of 6 litters at 15 mg/kg/day	8235040

GD = gestation day

a) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.7.1.

2.6.7.11.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number Females per Group**	**Noteworthy Findings[ab]**	**Study Number**
Non-Pregnant Phase						
New Zealand White rabbit	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	7 days	0, 7.5, 20, 50, 100	3	Mortality - No test article-related mortality. Mortality of one 100 mg/kg/day female (sacrificed in a moribund condition on Day 7) attributed to gavage error. Clinical Observations - Squinted eyes and decreased activity at 100 mg/kg/day Body Weight - ↓ 3% to 4% at ≥ 50 mg/kg/day on Day 7 Food Consumption - ↓ 8%, 10%, and 19% at 20, 50, and 100 mg/kg/day from Day 0 to 7	8235042

2.6.7.11.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（続き）

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	Number Females per Group	Noteworthy Findings[ab]	Study Number
Pregnant Phase						
New Zealand White Rabbit	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	GD 7 to GD 20	0, 25, 50, 75, 100	6	Mortality - One 75 mg/kg/day female sacrificed in a moribund condition on GD 10. Mortality of one 50 mg/kg/day female (found dead on GD 15) attributed to gavage injury. Clinical Observations - Squinted eyes at ≥ 50 mg/kg/day Maternal Body Weight - Transient decreases in body weight gain at beginning of study at all doses (including control). Food Consumption - Transient decreases in food consumption at beginning of study at ≥ 75 mg/kg/day with levels comparable to control at end of dosing period. Cesarean Section Parameters - % Early and total resorptions and % post implantation loss slightly increased at 100 mg/kg/day, and were attributed to three early resorptions for one female.	8235042

GD = gestation day

a) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.7.3.

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：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

Report Title: Oral Gavage Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with NBI-98854 in Rats				**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Sprague Dawley rat **Initial Age:** 9 to 10 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** M: [redacted] 20[redacted] F: [redacted] 20[redacted] **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water		**Duration of Dosing:** M: 28 days prior to mating, through scheduled sacrifice (Day 73) F: 14 days prior to mating, through GD 7 **Day of Mating:** Day 0		**Study No.:** 8235039 **GLP Compliance:** Yes **Design similar to ICH 4.1.1?** Yes
Special Features: None				
No Observed Adverse Effect Level:				
F_0 Males: 3 mg/kg/day (for fertility)				
F_0 Females: 3 mg/kg/day (for fertility)				
F_1 Litters: 10 mg/kg/day (for early embryonic development)				
Males				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Number Evaluated	22	22	22	22
Number Died or Sacrificed Moribund[a]	0	0	1	0
Clinical Observations				
Squinted eyes	0	0	0	22
Increased activity	0	0	0	7
Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights (%)				
Prostate (g)	1.7759	+5	+6	-20**
Body Weight (%) – Day 73[b]	597.2 g	+1	-6	-18**
Food Consumption (%) – Day 0 to 28[c]	33.7 g/day	-1	-2	-10**

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：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（続き）

Males				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Sperm Motility				
Average Path Velocity (µm/s)	184.8	182.8	176.4	172.8
Straight Line Velocity (µm/s)	118.4	112.6	109.3	107.4
Curvilinear Velocity (µm/s)	320.7	311.3	296.3	289.5
Straightness (%)	63	61	61	61
% Motility	78	81	73	75
Sperm Count				
Total Count	607	689	668	591
Total Sample (M)	101.5	115.3	111.8	98.8
Total Concentration (M/mL)	20.3	23.1	22.4	19.8
Reproductive Performance				
Number of Males Paired with at Least One Female	22	22	21	22
Number of Males Mated	22	22	21	21
Number of Males Successfully Mated	22	20	20	17
Male Coital Rate (%)[d]	100	100	100	95
Male Fertility Index (%)[e]	NA	91	95	77
Females				
Number Evaluated	22	22	22	22
Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
Squinted eyes	0	0	19	22
Decreased activity	0	0	0	22
Yellow haircoat –perineal area	0	1	6	8
Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：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（続き）

Females				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Premating Body Weight (%) – Day 14[f]	253.0 g	+1	-2	-5
Gestation Body Weight (%) – GD 13[f]	327.9 g	+2	-3	-5
Premating Food Consumption (%) – Day 0 to 14[f]	22.9 g/day	-2	-3	-9**
Gestation Food Consumption (%) – GD 0 to 13[f]	28.7 g/day	+1	-7	-6
Estrous Cyclicity				
Persistent diestrus (≥4 consecutive days)	0	0	2	14
Reproductive Performance				
Number of females paired with at least one male	22	22	22	22
Number of females mated	22	22	22	21
Number of females pregnant	22	20	21	17
Female Coital Rate (%)[d]	NA	100	100	95
Conception Index (%)[g]	NA	91	91	81
Female Fertility Index[h]	NA	91	95	77
Cesarean Section Parameters				
Number Aborted	0	0	0	0
Mean Number Corpora Lutea	16.1	16.2	16.1	15.7
Mean Number Implantations	14.2	15.2	15.1	14.7
Mean % Preimplantation Loss	12.1	6.8	5.7	6.8
Mean Number Live Fetuses	12.5	14.5	14.5	13.8
Mean Number Resorptions	1.7	0.7	0.6	0.9
Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	14.1	4.7*	4.2*	5.9

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：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（続き）

- = no noteworthy findings; * = p ≤0.05; ** = p ≤ 0.01; GD = gestation day; NA = not applicable

a) One 3 mg/kg/day male was found dead on Day 28. This unscheduled death was considered incidental because this male had no previous clinical signs or macroscopic findings at necropsy and there was no dose-response.

b) At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

c) During the premating period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

d) Coital Rate (also known as Copulation or Mating Index) = (number mated/number paired) × 100

e) Male Fertility Index = (Number of males impregnating females/number of males paired) × 100

f) At the end of premating or gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

g) Conception Index (Percent Pregnant) = (Number of females pregnant/number of females mated) × 100

h) Female Fertility Index = (Number of females pregnant/number of females paired) x 100

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

Report Title: Oral Gavage Study for Effects on Embryo-fetal Development and Toxicokinetic with NBI-98854 in Rats			**Test Article:** NBI-98854	
Species/Strain: Sprague Dawley rats **Initial Age:** 12 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water	**Duration of Dosing:** GD 6 to 17 **Day of Mating:** GD 0 **Day of C-Section:** GD 21		**Study No.:** 8235041 **GLP Compliance:** Yes **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes	
Special Features: No				
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females:** 1 mg/kg/day **F_1 Litters:** 15 mg/kg/day				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**5**	**15**
Dams/Does				
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[a]				
GD 6				
NBI-98854	NA	11.2	72.2	350
NBI-98782 (metabolite)	NA	28.7	189	514
GD 17				
NBI-98854	NA	20.5	141	480
NBI-98782 (metabolite)	NA	26.4	151	362
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[a]				
GD 6				
NBI-98854	NA	92.0	537	3,150
NBI-98782 (metabolite)	NA	325	1,660	5,590

2.6.7.13.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**5**	**15**
Dams/Does				
GD 17				
NBI-98854	NA	133	1,000	4,230
NBI-98782 (metabolite)	NA	274	1,550	4,740
No. Pregnant	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted	0	0	0	0
No. Delivered Early	0	0	0	0
Dams with Viable Fetuses	25	25	25	25
Clinical Observations				
Decreased activity	0	0	0	25
Squinted eyes	0	0	0	25
Body Weight (%)				
GD 18[b]	350.3 g	-1	-5*	-8**
GD 21[c]	386.7 g	-1	-7**	-11**
Food Consumption (%)				
GD 16 to 18[b]	33.0 g/day	-3	-14**	-20**
GD 18 to 21[c]	28.9 g/day	-6	-21**	-30**
GD 6 to 21[d]	30.9 g/day	-4	-15**	-22**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gravid Uterine Weight	-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea	13.7	13.9	13.5	13.8
Mean No. Implantation Sites	12.7	12.8	12.5	12.7
Mean % Preimplantation Loss	7.0	7.1	6.7	7.6

2.6.7.13.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	1	5	15
Litters:				
No. Litters Evaluated	25	25	25	25
Litter Size (no. per animal)	12.5	12.4	12.4	12.4
Fetal Sex Ratios (M:F)	47:53	48:52	52:48	48:52
Mean No. Resorptions (Early and Late)	0.2	0.5	0.1	0.3
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	1.6	3.9	0.9	2.0
Mean Fetal Body Weight (g) (Male and Female)	5.62	5.69	5.67	5.52
Fetal Anomalies:				
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-
Total Affected Fetuses (Litters)	-	-	-	-

- = no noteworthy findings; * = p ≤0.05; ** = p ≤ 0.01; GD = gestation day; NA = not applicable

a) Group means are show for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.7.2.

b) At the end of the dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

c) At the end of the gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

d) During the gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

Report Title: Oral Gavage Study for Effects on Embryo-fetal Development and Toxicokinetic with NBI-98854 in Rabbits			**Test Article:** NBI-98854	
Species/Strain: New Zealand White rabbits **Initial Age:** 5 months at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water	**Duration of Dosing:** GD 7 to GD 20 **Day of Mating:** GD 0 **Day of C-Section:** GD 29		**Study No.:** 8235046 **GLP Compliance:** Yes **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes	
Special Features: None				
No Observed Adverse Effect Level: **F_1 Litters:** 50 mg/kg/day; **F_0 Females:** 20 mg/kg/day				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**50**	**100**
Dams/Does				
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[ab]				
GD 7				
NBI-98854	NA	227	952	2,170
NBI-98782 (metabolite)	NA	61.6	146	270
GD 20				
NBI-98854	NA	299	1,530	3,520
NBI-98782 (metabolite)	NA	74.5	174	310
Toxicokinetics: AUC_{0-24} (ng·h/mL)[ab]				
GD 7				
NBI-98854	NA	781	4,990	20,500
NBI-98782 (metabolite)	NA	344	1,140	2,750
GD 20				
NBI-98854	NA	998	6,030	32,800
NBI-98782 (metabolite)	NA	425	1,320	3,430

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**50**	**100**
Dams/Does				
No. Pregnant	19	20	20	19
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[c]
No. Aborted	0	0	0	0
No. Delivered Early	0	0	0	0
Dams with Viable Fetuses	19	20	20	18
Clinical Observations[d]				
Decreased activity	0	0	19	20
Rapid Respiration	0	0	18	20
Squinted eyes	0	0	18	20
Ataxia	0	0	1	2
Recumbent	0	0	0	1
Constricted pupils	0	0	4	11
Closed eyes	0	0	2	9
Audible respiration	0	0	1	0
Few or no feces	2	2	5	13
Soft feces	0	1	2	10
Body Weight (%)				
GD 21[e]	3,453.2 g	-1	-3	-8**
GD 29[f]	3,598.2 g	0	-2	-5
Food Consumption (%)				
GD 20 to 21[e]	133.9 g/day	-5	-12	-39**
GD 28 to 29[f]	117.6 g/day	+4	+6	+9
GD 7 to 21[g]	132.7 g/day	-1	-18*	-39**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gravid Uterine Weight	-	-	-	-

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	20	50	100
Dams/Does				
Cesarean Section Parameters				
Mean No. Corpora Lutea	9.5	9.1	8.6	9.8
Mean No. Implantations	8.6	8.5	7.6	9.4
Mean % Preimplantation Loss	9.9	6.4	12.4	3.8
Litters				
No. Litters Evaluated	19	20	20	18
Litter Size (no. per animal)	8.1	8.0	7.3	8.8
Fetal Sex Ratios M:F	47:53	53:47	42:58	50:50
Mean No. Total Resorptions (early and late)	0.5	0.5	0.2	0.7
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	6.1	5.9	3.2	7.5
Mean Fetal Body Weight (g)	40.00	39.19	39.63	34.74
Fetal Anomalies:				
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-
Total Affected Fetuses (Litters)	-	-	-	-

- = no noteworthy findings; * = p ≤0.05; ** = p ≤ 0.01; GD = gestation day; NA = not applicable

a) Group means are shown for treated groups.

b) Toxicokinetic data is summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.7.4.

c) This death (GD 17) was considered NBI-98854-related based on the incidence of clinical signs after dosing (decreased activity with squinted eyes and rapid respiration) that may have produced increased stress. No macroscopic findings were observed at necropsy.

d) Incidence of clinical observations noted during scheduled postdose observations.

e) At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

f) At the end of the gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.13.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

g) During the dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験

Report Title: Oral (Gavage) Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of NBI-98854di-Tosylate in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation				**Test Article:** NBI-98854
Species/Strain: Sprague Dawley rats **Initial Age:** 76 days of age at arrival **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water	**Duration of Dosing:** DG 7 to DL 20[a] **Day of Mating:** DG **Litters not culled**			**Study No.:** 20068205 **GLP Compliance:** Yes **Design similar to ICH 4.1.2?** Yes
Special Features: Plasma (dams and pups) and milk concentrations (dams) on DL 14				
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Generation Females Maternal:** 1 mg/kg/day **F_1 Generation Females Developmental:** 1 mg/kg/day **F_1 Generation Growth and Reproduction:** 3 mg/kg/day				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Toxicokinetics (DL 14): Dam Plasma (ng/mL)[b]				
NBI-98854				
1 hr postdose	< LLOQ	18.1	41.3	206
3 hr postdose	< LLOQ	12.5	38.2	130
8 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	12.1	55.0
NBI-98782 (metabolite)				
1 hr postdose	< LLOQ	18.0	47.8	301
3 hr postdose	< LLOQ	23.1	62.0	278
8 hr postdose	< LLOQ	9.33	39.4	116
NBI-136110 (metabolite)				
1 hr postdose	< LLOQ	9.39	20.2	68.9
3 hr postdose	< LLOQ	10.8	29.6	89.1
8 hr postdose	< LLOQ	5.05	17.2	63.2

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	1	3	10
Toxicokinetics (DL 14): Pup Plasma (ng/mL)[b]				
NBI-98854				
1 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
3 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
8 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
NBI-98782 (metabolite)				
1 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	1.36	3.62
3 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	1.49	3.53
8 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	2.10	6.16
NBI-136110 (metabolite)				
1 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
3 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
8 hr postdose	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	2.77
Toxicokinetics (DL 14): Dam Milk (ng/mL)[b]				
NBI-98854				
1 hr postdose	NA	NA	NA	NA
3 hr postdose	< LLOQ	53.6	118	314
8 hr postdose	NA	NA	NA	NA
NBI-98782 (metabolite)				
1 hr postdose	NA	NA	NA	NA
3 hr postdose	< LLOQ	106	265	797
8 hr postdose	NA	NA	NA	NA
NBI-136110 (metabolite)				
1 hr postdose	NA	NA	NA	NA
3 hr postdose	< LLOQ	23.5	50.5	125
8 hr postdose	NA	NA	NA	NA

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
F_0 Females				
No. of F0 females examined	22	22	22	22
No. Pregnant	21	22	22	20
Euthanized Due to No Surviving Pups	0	0	0	8**
Clinical Observations (Gestation)				
Ptosis	0	0	7	22**
Whole body tremors	0	0	1	22**
Piloerection	0	0	5	13**
Hyperpnea	0	0	0	13**
Hunched posture	0	0	0	9**
Red perivaginal substance	0	0	0	3**
Decrease motor activity	0	0	0	3**
Dehydration, mild	0	0	0	1
Clinical Observations (Lactation)				
Ptosis	0	0	2	13**
Piloerection	0	0	0	13**
Whole body: tremors	0	0	0	11**
Dehydration, mild	0	0	2	5**
Hunched posture	0	0	2	4**
Hyperpnea	0	0	0	2
Red perivaginal substance	0	0	0	1
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weights (%) – DG 20[c]	371.8 g	-3	-5*	-9**
Gestation Body Weight Change (%)				
DG 18 to 20[c]	32.0 g	-6	-12*	-24**
DG 7 to 20[d]	121.6 g	-7	-13**	-28**

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gestation Food Consumption (%)				
DG 18 to 20[c]	28.5 g/day	-5	-11*	-16**
DG 7 to 20[d]	26.9 g/day	-7*	-9**	-14**
Lactation Body Weight (%) – DL 21[e]	338.0 g	-2	-3	-11**
Lactation Body Weight Change (%) – DL 1 to 21[f]	47.5 g	+20	+33*	+1
Lactation Food Consumption (%)[g]				
DL 10 to 14[e]	73.4 g/day	+1	-14*	-30**
DL 1 to 14[f]	55.2 g/day	+2	-14**	-29**
Mean Duration of Gestation (days)	22.4	22.5	22.6	23.0**
No. Dams with All Pups Dying DLs 1 to 4	0	0	0	7**
No. Dams with All Pups Dying DLs 5 to 21	0	0	0	1
F_1 Litters: Preweaning				
No. Litters Evaluated	21	22	22	20
Mean No. Implantations	12.4	13.4	12.7	12.8
Dams with Stillborn Pups	4	4	14*	17**
Dams with No Liveborn Pups	0	0	0	0
Gestation Index (%)[h]	100.0	100.0	100.0	100.0
Mean No. Pups/Litter	12.0	12.4	11.8	11.9
Mean No. Liveborn Pups/Litter	11.8	12.0	9.4*	8.4**
No. Liveborn Pups	247	265	206**	169**
Mean Percentage Liveborn Pups/Litter	98.4	97.4	79.5**	71.0**
Mean No. of Stillborn Pups/Litter	0.2	0.3	2.3**	3.4**
No. Stillborn Pups	4	7	50*	67**
Unknown Vital Status	0	0	3	2

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
No. Pups Found Dead, Euthanized or Presumed Cannibalized				
DL 1	1	2	5	12**
DLs 2 to 4	2	5	12	82**
DLs 5 to 7	0	0	0	1**
DLs 8 to 10	0	0	0	0
DLs 11 to 14	0	0	0	0
DLs 15 to 21	0	0	0	1**
Viability Index (%)[i]	98.8	97.4	91.7	44.4**
Lactation Index (%)[j]	100.0	100.0	100.0	97.3**
No. of Total Litters Losses	0	0	0	8
Mean No. Surviving Pups Per Litter				
DL 1[k]	11.8	12.0	9.4*	8.4**
DL 4	11.6	11.7	8.6**	3.8**
DL 7	11.6	11.7	8.6**	3.7**
DL 10	11.6	11.7	8.6**	3.7**
DL 14	11.6	11.7	8.6**	3.7**
DL 21	11.6	11.7	8.6**	3.6**
Pup Sex Ratios (% males)				
DL 1[k]	44.7	49.2	51.2	47.6
DL 4	44.8	48.9	51.9	43.5
DL 7	44.8	48.9	51.9	38.8
DL 10	44.8	48.9	51.9	38.8
DL 14	44.8	48.9	51.9	38.8
DL 21	44.8	48.9	51.9	38.3

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Mean Live Litter Size at Weighing				
DL 1	11.7	12.0	9.1**	7.9**
DL 4	11.6	11.7	8.6**	5.8**
DL 7	11.6	11.7	8.6**	6.2**
DL 10	11.6	11.7	8.6**	6.2**
DL 14	11.6	11.7	8.6**	6.2**
DL 21	11.6	11.7	8.6**	6.1**
Mean Pup Weight/Litter (grams)				
DL 1	6.9	6.9	6.6	6.0**
DL 4	9.6	9.9	9.2	7.3**
DL 7	13.4	14.2	13.4	10.8**
DL 10	18.8	19.6	19.3	16.0**
DL 14	27.0	28.4	29.5	25.7
DL 21	42.3	44.3	46.2	41.0
Litter with pups clinical observations				
Cold to touch	0	1	7	18**
No milk band present	0	0	4	15**
Not nursing	0	0	0	3**
Head or whole body, purple or grey	0	0	0	3**
Dehydration, total	0	0	2	3
Whole body, pale	0	0	2	3
Not nesting	0	0	0	2
Decreased motor activity	0	0	0	1
Labored breathing	0	0	0	1

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Pup Necropsy Observations				
No. Pup Mortalities Examined	4	6	41	84
No. No milk found in stomach	1	0**	3**	22
No. Appeared normal	3	6**	38*	62
F_1 Males: Postweaning				
No. Evaluated Postweaning	22	22	22	NA
No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	NA
Clinical Observations	-	-	-	NA
Necropsy Observations	-	-	-	NA
Mean Body Weight (%)	-	-	-	NA
Mean Body Weight Change (%)	-	-	-	NA
Mean Food Consumption (%)	-	-	-	NA
Mean Age of Preputial Separation (days)	-	-	-	NA
Acoustic Startle Habituation	-	-	-	NA
Motor Activity	-	-	-	NA
Learning & Memory (Watermaze Performance)	-	-	-	NA
Mean No. Days Prior to Mating	-	-	-	NA
No. of Males that Mated	-	-	-	NA
No. of Fertile Males	-	-	-	NA
Male Reproductive Organ Weights	-	-	-	NA
F_1 Females: Postweaning				
No. Evaluated Postweaning	22	22	22	NA
No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	NA
Clinical Observations (Premating)	-	-	-	NA
Clinical Observations (Gestation)	-	-	-	NA

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Necropsy Observations	-	-	-	NA
Mean Premating Body Weight (%)	-	-	-	NA
Mean Premating Body Weight Change (%)	-	-	-	NA
Mean Premating Food Consumption (%)	-	-	-	NA
Mean Gestation Body Weight (%)	-	-	-	NA
Mean Gestation Body Weight Change (%)	-	-	-	NA
Mean Gestation Food Consumption (%)	-	-	-	NA
Mean Age of Vaginal Patency (days)	-	-	-	NA
Acoustic Startle Habituation	-	-	-	NA
Motor Activity	-	-	-	NA
Learning & Memory (Watermaze Performance)	-	-	-	NA
Mean No. Days Prior to Mating	-	-	-	NA
No. of Females Sperm Positive	-	-	-	NA
No. of Pregnant Females	-	-	-	NA
Mean No. Corpora Lutea	-	-	-	NA
Mean No. Implantations	-	-	-	NA
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	NA
Mean No. Viable Conceptuses/Litter	-	-	-	NA
Mean No. Nonviable Conceptuses/Litter	-	-	-	NA
No. of Litters with Nonviable Conceptuses	-	-	-	NA
No. Nonviable Conceptuses	-	-	-	NA
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	NA

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：ラットを用いた出生前及び出生後並びに母体の機能に関する試験（続き）

- = no noteworthy findings; * = p ≤0.05; ** = p ≤ 0.01; DG = gestation day; DL = lactation day; < LLOQ = below the lower limit of quantitation; NA = not applicable

a) Duration of dosing DG 7 through DG 24 for rats that did not deliver a litter.
b) Concentration data is summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.12.3.
c) At the end of the gestation period. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
d) During the gestation period. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
e) At the end of the lactation period. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
f) During the lactation period. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
g) Maternal food consumption values were not tabulated after DL 14, as it is presumed that pups begin to consume maternal food after DL 14.
h) Number of rats with live offspring/number of pregnant rats.
i) Number of live pups on DL 4/number of live pups on DL 1
j) Number of live pups on DL 21 (weaning)/postpartum/number of live pups on DL 4.
k) Includes liveborn pups and pups that died before weighing on Day 1 postpartum.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1 幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 1

Test Article: NBI-98782 and NBI-98782						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period[a]**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number / Sex / Group[b]**	**Noteworthy Findings[cd]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	3 to 4 days (PND 21 to 24)	**NBI-98854** 0, 90, 120 **NBI-98782** 0, 30	6 to 12	**NBI-98854** Mortality Mortality noted in 90 mg/kg/day male and female attributed to gavage error and not considered test article-related. Clinical Observations - Ptosis, decreased activity, ruffled appearance, and/or increased activity (described as intermittent moments of excitability) noted at ≥ 90 mg/kg/day - Abnormal gait at 120 mg/kg/day Body Weight - ↓ on PND 24 for ≥ 90 mg/kg/day males (16% to 18%); ↓ ≤ 2% for ≥ 90 mg/kg/day females **NBI-98782** Clinical Observations - Ptosis, decreased activity, ruffled appearance, and increased activity (described as intermittent moments of excitability) at 30 mg/kg/day Body Weight - ↓ 3% and 6% in males and females, respectively, on Day 4.	[redacted]-98854-008-TX

2.6.7.15.1 幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 1（続き）

PND = postnatal day

a) 0 (vehicle), 30 mg/kg/day NBI-98782, and 90 mg/kg/day NBI-98854 animals dosed for a total of 4 days. The 120 mg/kg/day animals were added by amendment on Day 2 and dosed for 3 days.

b) 0 (vehicle) mg/kg/day = 6 animals/sex; 30 mg/kg/day NBI-98782and 90 mg/kg/day NBI-98854 = 12 animals/sex/group; 120 mg/kg/day NBI-98854 = 7 animals/sex

c) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

d) Toxicokinetic data are summarized in Appendix 3 of Report [redacted]-98854-008-TX.

2.6.7.15.2 幼若マウスを用いた 4 日間毒性試験 2

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number / Sex / Group**	**Noteworthy Findings[ab]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	4 days (PND 21 to 24)	0 and 90[c]	5	Mortality Mortality noted in one 90 mg/kg/day female (found dead on PND 21) was attributed to an intubation error and not considered test article-related. Prior to death, this animal was observed with clonic convulsions. Clinical Observations - Decreased activity, tremors, body flattened and eyelids partially closed noted for 90 mg/kg/day animals Body Weight - ↓ on PND 24 for 90 mg/kg/day males (12% to 14%) and females (2% to 10%)	[redacted]-866004

PND = postnatal day

a) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

b) No toxicokinetic assessments were performed since only one timepoint (30 minutes postdose) was collected. Concentration data are summarized in Report [redacted] 866004, Appendix A.

c) Three groups were evaluated during the study, a vehicle control group and two 90 mg/kg/day groups. The vehicle control and one of the 90 mg/kg/day dose groups were initially dosed via oral gavage using a flexible, Teflon®-shafted, dosing cannulae. One 90 mg/kg/day female was found dead immediately postdose on PND 21. This death was considered a result of an intubation error; thus, the vehicle control and 90 mg/kg/day animals were subsequently dosed with a flexible, polypropylene-shafted, silicone bulb shaped-tipped cannulae starting on PND 22. The second 90 mg/kg/day group was dosed similarly throughout the dosing period (PND 21 to PND 24).

2.6.7.15.3 幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 1

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number / Sex / Group**	**Noteworthy Findings[a]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	1 to 7 days[b] (PND 21 to 27)	0, 15, 30, 60, 90	2 to 5	Mortality Mortality was noted in both main study and toxicokinetic (TK) animals from PND 21 to PND 24: • 30 mg/kg/day: 2 TK animals • 60 mg/kg/day: 6 main study and 13 TK animals • 90 mg/kg/day: 3 main study and 1 TK animal Due to this unexpected mortality noted on PND 21, dosing for the 90 mg/kg/day group was discontinued on PND 22 and a 15 mg/kg/day dose group was added. Starting on PND 24, only control and 60 mg/kg/day dose groups were dosed; the 15 and 30 mg/kg/day animals remained on study but were not dosed. On PND 28, the study was terminated due to continued mortality. The cause of mortality was considered likely due to dosing error, the dosing procedure/methodology, and/or the dosing formulation procedure. All of the deaths were noted soon after dosing (≤ 53 minutes postdose). Additionally, several animals in the 60 mg/kg/day group were noted with convulsions and/or labored respiration within 1 minute of dosing and found dead shortly thereafter (≤ 28 minutes postdose). These observations were not observed in surviving animals.	[redacted]-866003

2.6.7.15.3 幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 1（続き）

PND = postnatal day

a) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.3.4.

b) At termination, the total number of doses administered to main study animals surviving to scheduled termination was as follows: 0 mg/kg/day = 7 doses, 15 mg/kg/day = 1 dose, 30 mg/kg/day = 3 doses, 60 mg/kg/day = 7 doses, and 90 mg/kg/day = 2 doses.

2.6.7.15.4　幼若マウスを用いた 14 日間毒性試験 2

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg/day)**	**Number / Sex / Group**	**Noteworthy Findings[ab]**	**Study Number**
CD-1 mouse	Oral gavage (0.25% (w/v) methylcellulose in water)	14 days (PND 21 to 34)	0, 30, 60, 90	8	Mortality Mortality noted in one 30 mg/kg/day female (found dead on PND 27) and one 60 mg/kg/day female (found dead on PND 23) was attributed to an intubation error and not considered test article-related. No clinical observations were noted immediately prior to death. Clinical observations were similar to surviving animals on other dosing days. Clinical Observations - Partially closed eyes, tremors, and subdued demeanor noted at ≥ 30 mg/kg/day in dose-related manner (i.e., incidence) Body Weight - ↓ on PND 28 at ≥ 60 mg/kg/day (up to 12.4%). ↓ slightly on PND 34 at ≥ 60 mg/kg/day (up to 6.1%, no statistically significant difference)	[redacted]-866005

PND = postnatal day

a) Percent changes noted are relative to vehicle control unless otherwise specified.

b) Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.3.

2.6.7.15.5 幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験

Report Title: An Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of NBI-98854 in Juvenile Mice					**Test Article:** NBI-98854			
Species/Strain: Juvenile Crl:CD®-1 mouse **Initial Age:** PND 21 (3 weeks) **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] **Vehicle/Formulation:** 0.25% (w/v) methylcellulose in water			**Duration of Dosing:** PND 21 to 91 **Duration of Postdose:** 113 to 120 days **Method of Administration:** Oral gavage		**Study No.:** [redacted]-866006 **GLP Compliance:** Yes			
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)/ No Observed Effect Level (NOEL): **Juvenile Systemic Toxicity:** 60 mg/kg/day (NOAEL) **Neurobehavioral Development:** < 30 mg/kg/day (NOEL) **Reproductive Toxicity:** 90 mg/kg/day (NOEL) **F_1 Neonatal Toxicity:** 90 mg/kg/day (NOEL)								
Dosage Level (mg/kg/day)	**0 (Vehicle control)**		**30**		**60**		**90**	
F0 Generation								
Number of Animals	**M:40**	**F:40**	**M:40**	**F:40**	**M:40**	**F:40**	**M:40**	**F:40**
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)[a]								
PND 21								
NBI-98854	NA	NA	2,800	2,850	7,320	6,100	8,750	8,690
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	219	225	309	409	372	485
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	721	812	1,330	1,470	1,630	1,500
PND 91								
NBI-98854	NA	NA	1,760	2,160	5,340	4,260	4,640	4,720
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	135	169	247	240	322	271
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	890	855	2,240	1,400	2,190	1,760

2.6.7.15.5 幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Dosage Level (mg/kg/day)	**0 (Vehicle control)**		**30**		**60**		**90**	
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[a]								
PND 21								
NBI-98854	NA	NA	8,380	8,370	25,800	32,700	72,100	53,400
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	1,020	807	1,770	2,280	3,010	2,830
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	5,920	4,860	11,100	15,200	23,300	20,700
PND 91								
NBI-98854	NA	NA	6,630	5,090	14,300	13,500	20,000	21,000
NBI-98782 (metabolite)	NA	NA	775	632	1,270	1,140	1,640	1,630
NBI-136110 (metabolite)	NA	NA	6,850	5,080	12,700	11,400	17,700	17,000
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[b]	1	0	0	3	0	4	1	6
Clinical Observations								
Decreased activity	0	0	11	9	19	14	25	19
Tremors	0	0	7	3	29	23	34	40
Prostrate	0	0	0	0	0	0	4	5
Eyelids half-closed	0	0	15	13	26	23	31	34
Eyelids completely shut	0	0	0	0	4	0	4	3
Body Weight (%)[c]	36.2 g	28.3 g	-1	+1	-7**	0	-8**	+1
Food Consumption (%) – PND 28 to 91[c]	6.9 g/day	7.0 g/day	-3	-4	-7	-1	-10**	-9
Developmental and Neurobehavioral								
Balanopreputial Separation	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Vaginal Patency	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-
Functional Observational Battery	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.15.5 幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Dosage Level (mg/kg/day)	**0 (Vehicle control)**		**30**		**60**		**90**	
Motor Activity[d]								
Total (%)	4,883	6,255	85.8**	89.2**	162.6**	125.0**	215.6**	135.4**
Ambulatory (%)	2,486	3,428	108.5**	123.2*	211.5**	161.5**	294.4**	178.3**
Startle Response								
Overall Mean Values	0.312	0.312	0.481	0.377	0.619	0.404	0.477	0.436
Biel Maze	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Total Leukocyte Count ($\times 10^3/\mu L$)	5.86	5.97	5.74	4.03	3.59*	4.55	2.09**	3.49*
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu L$)	4.15	4.83	4.32	3.25	2.69	3.41	1.52**	2.79*
Monocyte ($\times 10^3/\mu L$)	0.09	0.07	0.08	0.04	0.05	0.05	0.03	0.03
Eosinophil ($\times 10^3/\mu L$)	0.12	0.13	0.10	0.09	0.08	0.08	0.04	0.07
Neutrophil ($\times 10^3/\mu L$)	1.46	0.90	1.21	0.62	0.76	0.97	0.49	0.58
Large Unstained Cell ($\times 10^3/\mu L$)	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02
Serum Chemistry								
Urea Nitrogen (mg/dL)	25.5	20.3	26.9	22.0	34.2*	23.1	35.2**	22.7
Glucose (mg/dL)	176	145	149	148	129**	140	119**	147
Reproductive Performance								
Mating Index (%)	100.0	100.0	94.7	94.7	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index (%)	84.2	85.0	84.2	84.2	94.7	94.7	76.5	76.5
Male Copulation Index (%)	84.2	NA	88.9	NA	94.7	NA	76.5	NA
Female Conception Index (%)	NA	85.0	NA	88.9	NA	94.7	NA	76.5
Estrous Cycle Length (days)	NA	4.8	NA	5.1	NA	4.6	NA	4.7
Pre-Coital Interval (days)	NA	2.6	NA	2.4	NA	2.0	NA	2.5
Mean Gestation Length (days)	NA	18.9	NA	18.9	NA	18.9	NA	18.9
Parturition Observations	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-

2.6.7.15.5 幼若マウスを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Dosage Level (mg/kg/day)	**0 (Vehicle control)**		**30**		**60**		**90**	
Spermatogenic Endpoints								
Motility (%)	76	NA	75	NA	76	NA	74	NA
Concentration – Left Cauda EP (millions/g)	1,136.5	NA	982.0	NA	962.0	NA	998.3	NA
Concentration – Left Testis (millions/g)	152.4	NA	168.6	NA	166.4	NA	168.3	NA
Sperm Production Rate (millions/g/day)	31.5	NA	34.8	NA	34.4	NA	34.8	NA
Morphology	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ Weights								
Liver (g)	2.1334	1.5925	2.0608	1.7984*	1.7158**	1.8055*	1.8685*	1.8629**
Femur Lengths	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (no. examined)	20	20	20	17	20	18	20	17
Liver								
hypertrophy, hepatocellular, centrilobular								
minimal	6	0	12	10	12	8	9	9
mild	0	0	4	0	5	3	8	2
vacuolation, hepatocellular, centrilobular								
minimal	0	1	1	1	2	1	6	0
mild	1	0	0	0	2	2	2	1
Neuropathology	-	-	-	-	-	-	-	-
End of Post-Treatment Period								
Number of Animals	**M:19**	**F:20**	**M:20**	**F:20**	**M:20**	**F:19**	**M:20**	**F:17**
Developmental and Neurobehavioral								
Motor Activity[d]								
Total (%)	7,904	9,201	32.2	6.1	52.4**	57.2*	47.8**	49.8*
Ambulatory (%)	4,093	5,566	39.4	-0.3	68.5**	71.2	55.3*	55.5

2.6.7.15.5 幼若マウスを用いた 10 週間反復投与毒性試験（続き）

Dosage Level (mg/kg/day)	**0 (Vehicle control)**		**30**		**60**		**90**	
F1 Litters								
PND 0 Litter Data and Postnatal Survival								
Number Born	12.5		11.9		12.3		11.0	
Sex at Birth (% Males per Litter)	45.3		53.5		46.4		45.6	
Live Litter Size (PND 0)	12.2		11.9		11.6		10.9	
Postnatal Survival (Birth to PND 4)	91.8		97.9		96.8		90.2	
General Physical Condition[e]								
Found Dead (Total)	12/4		1/1		14/4		7/1	
Missing	8/4		2/2		2/2		8/6	
Offspring Body Weights (PND 1 to 4)	0.82	0.81	0.74	0.71	0.73	0.70	0.67	0.69
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; statistically different from control: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; NA = not applicable; PND = postnatal day; EP = epididymis; F = Female; M = Male

a) Group means are shown for treated groups. Toxicokinetic data are summarized in the Pharmacokinetics Tabulated Summary Section 2.6.5.4.4.

b) The majority of the deaths/moribundity was considered accidental due to a confirmed intubation error as evidenced by macroscopic findings or mechanical trauma. The cause of death for one 90 mg/kg/day female and one 60 mg/kg/day female could not be determined.

c) At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

d) For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

e) Number of pups/litters are shown.

2.6.7.16　局所刺激性試験

No local tolerance studies have been conducted.

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験

Test Article: NBI-98854						
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (µg/mL)**	**Number / Sex / Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
BALB/c 3T3 mouse fibroblasts[a]	*In vitro* (DPBS)[b]	90 minutes[c]	0, 1.78, 3.16, 5.62, 10.0, 17.8, 31.6, and 56.2 100	NA	No phototoxic potential. The PIF (both definitive assays) could not be calculated due to a lack of both cytotoxicity and phototoxicity (no +UVR IC_{50} or –UVR IC_{50} achieved in either assay). The MPE values were -0.049 and -0.023 for definitive assays 1 and 2, respectively.	20072835

IC_{50} = Drug concentration at which the viability of fibroblasts is inhibited by 50%; NA = not applicable; UVR = ultraviolet radiation; PIF = photoirritancy factor; MPE = mean photo effect; UVA = ultraviolet A; UVB = ultraviolet B; DPBS = Dulbecco's phosphate buffered saline

a) Phototoxic potential evaluated in Balb/c 3T3 mouse fibroblasts as described in OECD Guideline 432.

b) 1% dimethylsulfoxide (DMSO)/Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions

c) Cells in 96-well plates were exposed to UVA and UVB from a solar simulator or kept in the dark.

2.6.7.17.2 分解物／不純物 NBI-139326 のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験

Report Title: 14-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with NBI-139326 in Rats			**Test Article:** NBI-139326	
Species/Strain: Sprague Dawley rat **Initial Age:** 6 to 7 weeks old at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** 14 days **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 0.25% methylcellulose in reverse osmosis water		**Study No.:** 8293871 **GLP Compliance:** Yes	
Special Features: None				
No Observed Adverse-Effect Level: NA				
Dose Level (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.5**	
Number of Animals	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Noteworthy Findings				
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-

- =No noteworthy findings; F = female; M = male; NA = Not Applicable

2.6.7.17.3　出発物質，不純物及び分解物の *in vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.17.3.1　出発物質 NBI-83197 の細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay for Test Article: NBI-83197		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-83197
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 8257823
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls; Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 µL/plate	17 ± 8	83 ± 7	12 ± 5	5 ± 1	11 ± 5
NBI-83197	313	11 ± 4	66 ± 9	10 ± 2	4 ± 2	10 ± 3
	625	17 ± 1	80 ± 13	10 ± 4	5 ± 1	13 ± 7
	1,250	11 ± 1	91 ± 16	10 ± 3	6 ± 2	12 ± 4
	2,500	10 ± 5	83 ± 13	10 ± 3	4 ± 1	8 ± 2
	5,000	9 ± 5	70 ± 16	10 ± 2	6 ± 1	9 ± 2
2-Nitrofluorene	1.0	249 ± 9	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,012 ± 128	1,035 ± 31	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	464 ± 5	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	465 ± 12

2.6.7.17.3.1　出発物質 NBI-83197 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	20 ± 2	134 ± 3	13 ± 3	10 ± 5	18 ± 3
NBI-83197	313	20 ± 4	138 ± 19	9 ± 1	6 ± 4	13 ± 4
	625	20 ± 2	137 ± 10	11 ± 0	8 ± 3	16 ± 1
	1,250	18 ± 2	125 ± 3	10 ± 2	7 ± 1	10 ± 1
	2,500	22 ± 3	153 ± 22	11 ± 2	9 ± 4	15 ± 3
	5,000	18 ± 2	135 ± 9	11 ± 1	5 ± 1	12 ± 4
Benzo[a]pyrene	2.5	544 ± 30	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,641 ± 57	188 ± 23	135 ± 13	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	380 ± 13
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	10 ± 4	95 ± 11	11 ± 4	7 ± 2	11 ± 4
NBI-83197	313	10 ± 5	98 ± 8	10 ± 4	5 ± 1	11 ± 6
	625	11 ± 3	112 ± 9	12 ± 2	5 ± 5	12 ± 3
	1,250	15 ± 1	99 ± 11	11 ± 2	10 ± 4	17 ± 4
	2,500	12 ± 4	95 ± 3	12 ± 4	5 ± 4	13 ± 2
	5,000	12 ± 4	75 ± 21	8 ± 4	3 ± 3	18 ± 2
2-Nitrofluorene	1.0	178 ± 8	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,382 ± 55	1,122 ± 89	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	312 ± 17	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	506 ± 15

2.6.7.17.3.1 出発物質 NBI-83197 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial:　With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	19 ± 1	78 ± 16	9 ± 2	9 ± 4	14 ± 5
NBI-83197	313	20 ± 5	86 ± 13	9 ± 3	7 ± 2	14 ± 5
	625	15 ± 3	85 ± 11	5 ± 1	8 ± 2	17 ± 8
	1,250	18 ± 4	80 ± 15	8 ± 3	8 ± 2	17 ± 2
	2,500	16 ± 5	82 ± 12	8 ± 4	10 ± 10	17 ± 3
	5,000	14 ± 2	81 ± 6	5 ± 1	7 ± 1	15 ± 2
Benzo[a]pyrene	2.5	531 ± 53	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,301 ± 77	165 ± 21	141 ± 31	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	333 ± 54

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.2 出発物質 NBI-83199 の細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay for NBI-83199		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-83199
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 8257824
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls; Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 µL/plate	14 ± 4	83 ± 1	12 ± 5	6 ± 2	16 ± 2
NBI-83199	313	14 ± 8	104 ± 4	8 ± 3	4 ± 1	11 ± 3
	625	12 ± 3	110 ± 5	14 ± 4	5 ± 2	11 ± 1
	1,250	13 ± 4	97 ± 16	8 ± 3	7 ± 2	15 ± 4
	2,500	8 ± 3	87 ± 18	11 ± 2	4 ± 2	17 ± 7
	5,000	9 ± 3	90 ± 7	10 ± 6	5 ± 2	11 ± 1
2-Nitrofluorene	1.0	205 ± 15	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,113 ± 93	1,087 ± 89	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	461 ± 41	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	235 ± 62

2.6.7.17.3.2　出発物質 NBI-83199 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	17 ± 2	136 ± 11	12 ± 2	6 ± 2	13 ± 1
NBI-83199	313	22 ± 6	148 ± 25	11 ± 4	7 ± 1	18 ± 3
	625	17 ± 3	160 ± 13	15 ± 2	8 ± 4	21 ± 10
	1,250	18 ± 3	164 ± 19	8 ± 3	8 ± 3	20 ± 4
	2,500	15 ± 6	142 ± 19	11 ± 3	11 ± 2	21 ± 3
	5,000	11 ± 6	132 ± 6	10 ± 4	5 ± 4	20 ± 2
Benzo[a]pyrene	2.5	551 ± 45	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,366 ± 202	153 ± 8	99 ± 16	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	321 ± 41
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	17 ± 2	95 ± 18	14 ± 6	6 ± 1	15 ± 4
NBI-83199	313	10 ± 2	79 ± 11	10 ± 2	7 ± 3	16 ± 2
	625	17 ± 1	67 ± 14	14 ± 3	7 ± 1	16 ± 8
	1,250	9 ± 3	66 ± 12	10 ± 2	10 ± 1	18 ± 4
	2,500	8 ± 0	72 ± 6	11 ± 3	7 ± 1	12 ± 3
	5,000	13 ± 5	88 ± 5	11 ± 1	5 ± 3	15 ± 4
2-Nitrofluorene	1.0	263 ± 39	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,466 ± 31	1,257 ± 43	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	137 ± 30	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	161 ± 14

2.6.7.17.3.2　出発物質 NBI-83199 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	28 ± 7	120 ± 11	11 ± 2	9 ± 3	23 ± 3
NBI-83199	313	19 ± 5	129 ± 12	15 ± 2	7 ± 2	17 ± 5
	625	26 ± 3	116 ± 21	11 ± 2	6 ± 4	15 ± 1
	1,250	24 ± 1	119 ± 5	11 ± 3	8 ± 4	17 ± 5
	2,500	21 ± 5	110 ± 31	6 ± 2	10 ± 2	21 ± 4
	5,000	21 ± 6	115 ± 22	10 ± 4	9 ± 4	17 ± 7
Benzo[a]pyrene	2.5	393 ± 28	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,032 ± 71	151 ± 12	108 ± 34	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	321 ± 47

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.3　潜在的な分解物 NBI-638091 の細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-638091
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** AD26NP.503 [redacted]
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for approximately 48 to 72 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Water; Positive Controls: Water (sodium azide only); Dimethylsulfoxide (DMSO) (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: +S9: TA98 and WP2*uvr*A (5,000 µg/plate); -S9: TA100, TA1535, and WP2*uvr*A (≥ 1,500 µg/plate)		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
Water	500 µL/plate	19 ± 4	120 ± 2	20 ± 1	4 ± 1	39 ± 2
NBI-638091	1.5	7 ± 6	90 ± 13	11 ± NA	6 ± 4	25 ± 5
	5.0	18 ± 13	120 ± 2	8 ± 1	7 ± 3	29 ± 8
	15	7 ± 3	99 ± 1	8 ± 1	9 ± 1	26 ± 15
	50	12 ± 1	110 ± 11	17 ± 0	8 ± 1	26 ± 4
	150	17 ± 11	108 ± 2	14 ± 1	8 ± 4	23 ± 2
	500	11 ± 3	100 ± 33	10 ± 1	5 ± 3	32 ± 7
	1,500	19 ± NA	87 ± 2	8 ± 4	6 ± 4	21 ± 6
	5,000	13 ± 3	55 ± 13	7 ± 3	7 ± 3	16 ± 6
2-Nitrofluorene	1.0	340 ± 32	-	-	-	-
Sodium azide	1.0	-	783 ± 15	666 ± 49	-	-
9-Aminoacridine	75	-	-	-	548 ± 175	-
Methyl methanesulfonate	1,000	-	-	-	-	342 ± 56

2.6.7.17.3.3　潜在的な分解物 NBI-638091 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
Water	500 μL/plate	24 ± 1	132 ± 3	13 ± 1	9 ± 6	34 ± 8
NBI-638091	1.5	27 ± 3	126 ± 11	19 ± 8	7 ± 4	47 ± 2
	5.0	22 ± 8	132 ± 2	10 ± 2	6 ± 3	34 ± 8
	15	28 ± 6	151 ± 1	18 ± 2	6 ± 4	32 ± 6
	50	28 ± 6	121 ± 8	8 ± 1	8 ± 4	41 ± 1
	150	24 ± 1	119 ± 5	8 ± 1	8 ± 1	27 ± 8
	500	32 ± 4	117 ± 3	8 ± 1	5 ± 3	29 ± 11
	1,500	22 ± 4	117 ± 2	9 ± 5	9 ± 5	26 ± 4
	5,000	13 ± 3	83 ± 10	12 ± 0	12 ± 1	19 ± 4
2-Aminoanthracene	1.0	305 ± 51	-	141 ± 42	86 ± 19	-
2-Aminoanthracene	2.0	-	713 ± 16	-	-	-
2-Aminoanthracene	15	-	-	-	-	368 ± 7
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
Water	500 μL/plate	20 ± 1	98 ± 9	10 ± 3	7 ± 2	27 ± 8
NBI-638091	15	21 ± 3	89 ± 4	7 ± 2	4 ± 1	31 ± 7
	50	17 ± 4	97 ± 12	8 ± 1	7 ± 2	26 ± 5
	150	12 ± 6	87 ± 6	11 ± 3	5 ± 2	28 ± 6
	500	12 ± 4	103 ± 9	11 ± 2	5 ± 4	25 ± 4
	1,500	9 ± 2	87 ± 31	9 ± 2	9 ± 2	18 ± 8
	5,000	11 ± 3	50 ± 15	8 ± 6	10 ± 6	20 ± 8
2-Nitrofluorene	1.0	323 ± 24	-	-	-	-
Sodium azide	1.0	-	836 ± 42	593 ± 36	-	-

2.6.7.17.3.3　潜在的な分解物 NBI-638091 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
9-Aminoacridine	75	-	-	-	685 ± 85	-
Methyl methanesulfonate	1,000	-	-	-	-	482 ± 10
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation						
Water	500 μL/plate	27 ± 6	117 ± 19	11 ± 4	6 ± 3	38 ± 9
NBI-638091	15	17 ± 6	127 ± 7	16 ± 7	8 ± 4	33 ± 8
	50	26 ± 5	117 ± 3	13 ± 2	8 ± 5	36 ± 7
	150	24 ± 1	138 ± 8	11 ± 4	5 ± 5	32 ± 8
	500	21 ± 3	133 ± 23	14 ± 2	6 ± 3	37 ± 11
	1,500	22 ± 3	123 ± 12	11 ± 3	11 ± 0	27 ± 4
	5,000	11 ± 3	78 ± 7	10 ± 2	10 ± 2	16 ± 5
2-Aminoanthracene	1.0	267 ± 12	-	195 ± 98	87 ± 20	-
2-Aminoanthracene	2.0	-	596 ± 84	-	-	-
2-Aminoanthracene	15	-	-	-	-	375 ± 109

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.4　製造工程由来の潜在的な不純物 NBI-743407 の細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 1	**Test Article:** NBI-743407
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 8338882
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for approximately 48 to 56 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Without Metabolic Activation						
DMSO	200 µL/plate	31 ± 7	86 ± 8	18 ± 2	17 ± 6	21 ± 2
NBI-743407	5.0	30 ± 5	84 ± 5	18 ± 5	15 ± 5	16 ± 6
	16	33 ± 2	73 ± 10	18 ± 5	18 ± 1	16 ± 1
	50	29 ± 6	82 ± 10	21 ± 9	12 ± 2	21 ± 2
	160	27 ± 5	87± 15	23 ± 6	18 ± 5	18 ± 5
	500	25 ± 9	79 ± 7	16 ± 2	12 ± 2	16 ± 5
	1,600	30 ± 1	82 ± 18	22 ± 8	14 ± 1	21 ± 4
	5,000	30 ± 6	78 ± 5	19 ± 2	17 ± 6	20 ± 2
2-Nitrofluorene	1.0	137 ± 22	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	651 ± 43	521 ± 57	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	117 ± 5	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	218 ± 18

2.6.7.17.3.4　製造工程由来の潜在的な不純物 NBI-743407 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
With Metabolic Activation						
DMSO	200 μL/plate	28 ± 4	95 ± 19	21 ± 5	13 ± 7	24 ± 8
NBI-743407	5.0	29 ± 7	90 ± 12	19 ± 2	12 ± 2	22 ± 6
	16	33 ± 3	103 ± 14	18 ± 6	13 ± 2	19 ± 7
	50	26 ± 5	90 ± 11	24 ± 5	14 ± 2	19 ± 7
	160	27 ± 4	98 ± 19	19 ± 4	12 ± 3	22 ± 5
	500	31 ± 1	95 ± 22	19 ± 4	11 ± 1	20 ± 1
	1,600	29 ± 2	86 ± 15	18 ± 9	15 ± 3	22 ± 7
	5,000	35 ± 13	104 ± 7	21 ± 2	12 ± 2	19 ± 3
Benzo(a)pyrene	2.5	305 ± 32	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,414 ± 22	204 ± 24	223 ± 18	-
2-Aminoanthracene	25	-	-	-	-	261 ± 8

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.5 分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異スクリーニング試験

Report Title: NBI-139326 Bacterial Reverse Mutation Assay in 24-well Plates (Micro Ames)		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-139326
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 2-3[a]	**Study No.:** 963041
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^6 or ~10^8	**GLP Compliance:** No
Treatment: Plate incorporation for 48 to 72 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Water		
Cytotoxic Effects: +S9: TA97a and WP2*uvr*A (750 µg/well); -S9: TA97a, TA100, TA1535, and WP2*uvr*A (750 µg/well)		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/well)**[b]	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[cd]				
		Strain				
		TA97a	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**WP2*uvr*A**
		Initial Trial: Without Metabolic Activation[e]				
Water	100 µL/well	5.5	1.0	8.1	1.3	2.1
NBI-139326	2.5	6.5	NA	9.0	1.0	3.0
	7.5	8.5	2.0	8.5	1.0	1.0
	25	7.0	3.0	5.0	0.5	1.5
	75	9.0	0.0	9.5	1.5	3.0
	250	7.5	3.5	9.5	1.0	4.0
	750	IL/T	3.0	IL/T	IL/T	IL/T
2-Nitrofluorene[f]	0.005	-	2.5	-	-	-
Sodium azide[f]	0.005	-	-	17.0	6.0	-
9-Aminoacridine	0.5	4.0	-	-	-	-
9-Aminoacridine	1	11.5	-	-	-	-
9-Aminoacridine	2	70.5	-	-	-	-
9-Aminoacridine	4	142.0	-	-	-	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	0.1	-	-	-	-	19.0

2.6.7.17.3.5　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異スクリーニング試験（続き）

Treatment	Dose (μg/well)[b]	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[cd]				
		Strain				
		TA97a	TA98	TA100	TA1535	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation[e]						
Water	100 μL/well	9.7	2.3	9.1	2.2	3.2
NBI-139326	2.5	9.0	NA	NA	NA	3.0
	7.5	12.0	2.0	6.5	1.0	3.5
	25	9.5	1.0	13.0	1.0	2.0
	75	9.5	1.5	9.0	0.0	3.5
	250	9.0	2.0	10.0	2.0	2.5
	750	IL/T	3.5	4.5	1.0	IL/T
2-Aminoanthracene[f]	0.005	10.0	1.5	14.5	1.0	-
2-Aminoanthracene	1.8	-	-	-	-	11.5
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation[g]						
Water	100 μL/plate	-	36 ± 7	-	-	-
NBI-139326	320	-	38 ± 2	-	-	-
	640	-	43 ± 13	-	-	-
	1,280	-	35 ± 3	-	-	-
	2,560	-	32 ± 10	-	-	-
	5,000	-	24 ± 2	-	-	-
2-Nitrofluorene	1	-	141 ± 9	-	-	-

2.6.7.17.3.5　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異スクリーニング試験（続き）

Treatment	Dose (µg/well)[b]	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[cd]				
		Strain				
		TA97a	TA98	TA100	TA1535	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation[g]						
Water	100 µL/plate	-	48 ± 16	-	-	-
NBI-139326	320	-	51 ± 2	-	-	-
	640	-	62 ± 10	-	-	-
	1,280	-	61 ± 6	-	-	-
	2,560	-	46 ± 11	-	-	-
	5,000	-	36 ± 10	-	-	-
Benzo[a]pyrene	5	-	388 ± 12	-	-	-

- = not evaluated; NA = not applicable

a) Number of replicates for vehicle control = 12 in the micro Ames assay; number of replicates for standard Ames assay = 3

b) Dose = µg/well for initial trial and µg/plate for confirmatory trial.

c) Mean ± SD values are rounded up

d) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted. IL = incomplete bacterial lawn; T = toxic as indicated by incomplete/no background lawn (no meaningful colony count results)

e) The initial trial was evaluated using the plate incorporation method using 24-well plates (micro Ames).

f) Due to a technical oversight, the positive control final concentrations per well were lower than specified in the protocol and the criteria for a positive response were not met.

g) Based on the results of the initial trial (micro Ames), NBI-139326 was evaluated in tester strain TA98 in the standard Ames assay.

2.6.7.17.3.6　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 1

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay for NBI-139326		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-139326
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 8231300
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Deionized (DI) Water; Positive Controls: DI Water (sodium azide only); Dimethylsulfoxide (DMSO) (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: Equivocal for mutagenicity in tester strain TA98 in the absence of S9[a]		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[bc]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
DI water	100 µL/plate	14 ± 4	96 ± 2	9 ± 3	7 ± 2	16 ± 4
NBI-139326	313	10 ± 3	84 ± 4	9 ± 1	9 ± 1	14 ± 3
	625	13 ± 3	81 ± 4	12 ± 1	9 ± 4	12 ± 5
	1,250	15 ± 3	98 ± 9	13 ± 3	11 ± 1	14 ± 5
	2,500	21 ± 10	90 ± 16	10 ± 1	9 ± 2	12 ± 2
	5,000	26 ± 8 [R]	90 ± 10 [R]	6 ± 1 [R]	8 ± 3 [R]	13 ± 3 [R]
2-Nitrofluorene	1.0	208 ± 32	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	953 ± 91	817 ± 81	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	71 ± 13	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	141 ± 41

2.6.7.17.3.6　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 1（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[bc]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
DI water	100 μL/plate	13 ± 6	128 ± 8	15 ± 2	9 ± 5	16 ± 2
NBI-139326	313	22 ± 1	130 ± 21	11 ± 2	9 ± 2	18 ± 2
	625	21 ± 3	119 ± 17	12 ± 1	7 ± 2	18 ± 2
	1,250	21 ± 5	113 ± 12	10 ± 3	5 ± 3	16 ± 1
	2,500	23 ± 2	119 ± 3	11 ± 1	7 ± 2	16 ± 2
	5,000	27 ± 5 [R]	103 ± 19 [R]	11 ± 4 [R]	6 ± 1 [R]	17 ± 6 [R]
Benzo[a]pyrene	2.5	450 ± 63	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	2,153 ± 54	232 ± 40	149 ± 20	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	651 ± 56
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
DI water	100 μL/plate	14 ± 7	88 ± 4	11 ± 4	4 ± 2	20 ± 6
NBI-139326	313	12 ± 2	82 ± 7	11 ± 1	7 ± 1	19 ± 3
	625	16 ± 6	84 ± 8	9 ± 2	5 ± 4	19 ± 4
	1,250	16 ± 3	81 ± 2	12 ± 2	4 ± 2	18 ± 6
	2,500	21 ± 3	84 ± 7	10 ± 4	6 ± 4	16 ± 6
	5,000	33 ± 9 [R]	77 ± 8 [R]	13 ± 6 [R]	5 ± 1 [R]	13 ± 3 [R]
2-Nitrofluorene	1.0	241 ± 28	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,013 ± 548	159 ± 24	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	73 ± 19	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	204 ± 30

2.6.7.17.3.6　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 1（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[bc]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation						
DI water	100 μL/plate	18 ± 6	90 ± 16	11 ± 3	10 ± 3	16 ± 4
NBI-139326	313	18 ± 7	77 ± 5	12 ± 3	7 ± 3	16 ± 8
	625	21 ± 7	78 ± 19	9 ± 3	4 ± 2	20 ± 5
	1,250	21 ± 6	80 ± 17	7 ± 1	7 ± 1	22 ± 7
	2,500	20 ± 3	85 ± 6	11 ± 2	6 ± 2	17 ± 4
	5,000	23 ± 3 [R]	85 ± 6 [R]	9 ± 3 [R]	9 ± 3 [R]	14 ± 1
Benzo[a]pyrene	2.5	311 ± 23	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,077 ± 150	707 ± 126	57 ± 15	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	607 ± 38
Re-test Trial: Without Metabolic Activation						
DI water	100 μL/plate	11 ± 3	-	-	-	-
NBI-139326	313	16 ± 1	-	-	-	-
	625	17 ± 7	-	-	-	-
	1,250	16 ± 4	-	-	-	-
	2,500	16 ± 4	-	-	-	-
	3,500	20 ± 4	-	-	-	-
	5,000	24 ± 5 [R]	-	-	-	-
2-Nitrofluorene	1.0	318 ± 40	-	-	-	-

2.6.7.17.3.6　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 1（続き）

Treatment	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[bc]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Re-test Trial: With Metabolic Activation						
DI water	100 µL/plate	23 ± 0	-	-	-	-
NBI-139326	313	21 ± 2	-	-	-	-
	625	21 ± 5	-	-	-	-
	1,250	22 ± 6	-	-	-	-
	2,500	16 ± 1	-	-	-	-
	3,500	25 ± 2	-	-	-	-
	5,000	22 ± 5 [R]	-	-	-	-
Benzo[a]pyrene	2.5	354 ± 38	-	-	-	-

- = not evaluated; R= reduced background bacterial lawn

a) NBI-139326 was re-tested in an additional GLP bacterial reverse mutation assay (Report AD25XS.503 [redacted]) and tested negative for mutagenicity in all tester strains and conditions evaluated.

b) Mean ± SD values are rounded up

c) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.7 分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 2

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-139326
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** AD25XS.503[redacted]
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for approximately 48 to 72 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Water; Positive Controls: Water (sodium azide only); Dimethylsulfoxide (DMSO) (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
Water	100 µL/plate	22 ± 2	99 ± 6	8 ± 5	7 ± 0	31 ± 2
NBI-139326	1.5	15 ± 3	83 ± 8	12 ± 1	4 ± 1	32 ± 6
	5.0	18 ± 9	78 ± 6	14 ± 4	7 ± 2	31 ± 11
	15	22 ± 8	81 ± 1	7 ± 0	8 ± 5	23 ± 0
	50	25 ± 5	83 ± 7	7 ± 3	5 ± 1	28 ± 6
	150	20 ± 7	77 ± 1	11 ± 0	6 ± 1	29 ± 1
	500	15 ± 3	79 ± 1	15 ± 4	4 ± 0	19 ± 4
	1,500	15 ± 3	86 ± 1	13 ± 3	4 ± 0	27 ± 2
	5,000	20 ± 4	78 ± 18	10 ± 9	6 ± 3	20 ± 0
2-Nitrofluorene	1.0	366 ± 6	-	-	-	-
Sodium azide	1.0	-	737 ± 207	527 ± 50	-	-
9-Aminoacridine	75	-	-	-	1,684 ± 271	-
Methyl methanesulfonate	1,000	-	-	-	-	223 ± 40

2.6.7.17.3.7　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 2（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
Water	100 μL/plate	28 ± 4	101 ± 4	16 ± 1	8 ± 1	31 ± 4
NBI-139326	1.5	19 ± 3	81 ± 21	12 ± 5	8 ± 5	36 ± 6
	5.0	30 ± 4	89 ± 7	17 ± 1	6 ± 1	18 ± 4
	15	29 ± 12	95 ± 12	11 ± 4	6 ± 1	40 ± 6
	50	25 ± 5	92 ± 4	12 ± 7	10 ± 2	33 ± 2
	150	28 ± 4	118 ± 6	11 ± 6	6 ± 4	32 ± 12
	500	25 ± 5	94 ± 6	12 ± 1	8 ± 0	30 ± 4
	1,500	21 ± 6	94 ± 18	12 ± 0	6 ± 1	22 ± 4
	5,000	38 ± 1	89 ± 5	6 ± 1	10 ± 4	20 ± 6
2-Aminoanthracene	1.0	395 ± 45	-	335 ± 227	115 ± 11	-
2-Aminoanthracene	2.0	-	766 ± 181	-	-	-
2-Aminoanthracene	15	-	-	-	-	312 ± 90
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
Water	100 μL/plate	21 ± 7	92 ± 15	13 ± 4	7 ± 3	28 ± 4
NBI-139326	50	19 ± 2	73 ± 4	13 ± 5	6 ± 3	28 ± 5
	150	19 ± 3	89 ± 16	10 ± 5	6 ± 4	43 ± 6
	500	19 ± 7	80 ± 7	11 ± 3	5 ± 2	37 ± 11
	1,500	26 ± 9	74 ± 13	9 ± 2	7 ± 2	36 ± 3
	5,000	28 ± 4	83 ± 19	12 ± 7	6 ± 2	26 ± 15
2-Nitrofluorene	1.0	261 ± 10	-	-	-	-
Sodium azide	1.0	-	660 ± 52	588 ± 34	-	-
9-Aminoacridine	75	-	-	-	546 ± 235	-
Methyl methanesulfonate	1,000	-	-	-	-	268 ± 32

2.6.7.17.3.7　分解物 NBI-139326 の細菌を用いた復帰突然変異試験 2（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation						
Water	100 μL/plate	36 ± 7	151 ± 7	9 ± 2	8 ± 6	36 ± 3
NBI-139326	50	37 ± 13	141 ± 3	13 ± 2	5 ± 2	32 ± 7
	150	35 ± 3	138 ± 3	11 ± 1	9 ± 2	32 ± 5
	500	38 ± 7	155 ± 44	12 ± 4	6 ± 3	22 ± 10
	1,500	47 ± 14	90 ± 15	9 ± 2	8 ± 1	31 ± 0
	5,000	39 ± 8	80 ± 14	10 ± 5	5 ± 4	30 ± 8
2-Aminoanthracene	1.0	299 ± 51		157 ± 49	69 ± 15	-
2-Aminoanthracene	2.0	-	476 ± 34	-	-	-
2-Aminoanthracene	15	-	-	-	-	129 ± 43

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.8　過去の出発物質 NBI-83200 の細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay for NBI-83200		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-83200
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Number of Replicate Cultures:** 3	**Study No.:** 8257825
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Cultured:** ~10^8	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 52 ± 4 hours		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicles: Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO); Positive Controls: Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: Positive for mutagenicity in tester strain WP2*uvr*A in the absence of S9		
Special Notes: NBI-83200 was previously used as a starting material in the synthetic route of NBI-98854; however, due to the positive response in this assay, it is no longer used in the synthetic route.		

Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**[ab]				
		Strain				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
Initial Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 µL/plate	15 ± 7	85 ± 7	9 ± 0	7 ± 2	11 ± 1
NBI-83200	313	16 ± 1	75 ± 16	14 ± 4	6 ± 2	14 ± 5
	625	15 ± 3	82 ± 18	11 ± 1	6 ± 3	15 ± 1
	1,250	15 ± 4	79 ± 7	10 ± 2	5 ± 3	18 ± 5
	2,500	14 ± 1	88 ± 7	10 ± 3	7 ± 1	37 ± 6
	5,000	14 ± 4	83 ± 10	8 ± 5	3 ± 2	54 ± 6
2-Nitrofluorene	1.0	299 ± 12	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	907 ± 37	948 ± 49	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	387 ± 20	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	454 ± 58

2.6.7.17.3.8　過去の出発物質 NBI-83200 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Initial Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	21 ± 8	120 ± 6	14 ± 2	8 ± 2	13 ± 4
NBI-83200	313	22 ± 0	128 ± 10	11 ± 2	7 ± 1	10 ± 4
	625	19 ± 5	118 ± 9	14 ± 2	7 ± 1	13 ± 4
	1,250	18 ± 10	131 ± 8	14 ± 7	9 ± 4	15 ± 2
	2,500	18 ± 4	132 ± 8	13 ± 6	9 ± 4	18 ± 3
	5,000	18 ± 3	128 ± 8	12 ± 2	6 ± 2	17 ± 7
Benzo[a]pyrene	2.5	547 ± 21	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,381 ± 88	182 ± 24	157 ± 5	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	433 ± 111
Confirmatory Trial: Without Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	14 ± 4	102 ± 6	12 ± 4	6 ± 1	20 ± 4
NBI-83200	313	18 ± 5	94 ± 6	12 ± 5	8 ± 3	24 ± 5
	625	16 ± 1	100 ± 2	14 ± 3	5 ± 1	17 ± 5
	1,250	10 ± 4	97 ± 8	14 ± 2	3 ± 3	26 ± 3
	2,500	13 ± 3	87 ± 2	11 ± 4	6 ± 2	37 ± 4
	5,000	12 ± 3	101 ± 2	9 ± 2	8 ± 2	74 ± 5
2-Nitrofluorene	1.0	201 ± 20	-	-	-	-
Sodium azide	2.0	-	1,506 ± 97	1,113 ± 23	-	-
ICR-191	2.0	-	-	-	294 ± 24	-
4-Nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	545 ± 80

2.6.7.17.3.8　過去の出発物質 NBI-83200 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Treatment	Dose (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)[ab]				
		Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Confirmatory Trial: With Metabolic Activation						
DMSO	100 μL/plate	21 ± 4	120 ± 10	12 ± 1	12 ± 2	22 ± 5
NBI-83200	313	18 ± 5	113 ± 6	9 ± 2	7 ± 1	15 ± 3
	625	22 ± 7	118 ± 19	8 ± 4	7 ± 3	23 ± 5
	1,250	21 ± 4	124 ± 3	12 ± 1	10 ± 2	26 ± 2
	2,500	19 ± 3	127 ± 17	9 ± 5	8 ± 4	17 ± 6
	5,000	21 ± 4	101 ± 6	12 ± 1	7 ± 6	28 ± 5
Benzo[a]pyrene	2.5	557 ± 39	-	-	-	-
2-Aminoanthracene	2.5	-	1,006 ± 70	109 ± 10	99 ± 19	-
2-Aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	320 ± 18

- = not evaluated

a) Mean ± SD values are rounded up

b) All plates had a normal bacterial lawn unless otherwise noted.

2.6.7.17.3.9 分解物 NBI-139326 の染色体異常試験

Report Title: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test		
Test for Induction of: Chromosome aberrations	**Number of Independent Assays:** 2	**Test Article:** NBI-139326
Strains: Primary human lymphocytes	**Number of Replicate Cultures:** 2	**Study No.:** AD25XS.341[redacted]
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:** 100	**GLP Compliance:** Yes
		Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Vehicle: Distilled Water		
Treatment: Cell cultures were incubated at 37 ± 1°C for 4 hours with S9 metabolic activation, or 4 or 20 hours without S9 metabolic activation. The cultures were harvested approximately 20 hours after initiation of treatment		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed[a]	Cytotoxicity[b] (% of control)	Aberrant Cells (%)	
				Numerical	Structural
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation					
Water	0	200	100	0	0
NBI-139326	160	200	93	0	0
	320	200	75	0	0
	560	200	48	0	0
Mitomycin C	0.6	200	53	0	17*
4-Hour Treatment With Metabolic Activation					
Water	0	200	100	0	0
NBI-139326	160	200	91	0	0
	410	200	75	0	0
	880	200	48	0	0
Cyclophosphamide	10	200	33	0	15*

2.6.7.17.3.9　分解物 NBI-139326 の染色体異常試験（続き）

Test Article	Dose (μg/mL)	Total Cells Analyzed[a]	Cytotoxicity[b] (% of control)	Aberrant Cells (%)	
				Numerical	Structural
20-Hour Treatment Without Metabolic Activation					
Water	0	200	100	0	0
NBI-139326	80	200	90	0	0
	160	200	76	0	0
	275	200	43	0	0
Mitomycin C	0.3	200	49	0	15*

* Significantly greater than the vehicle control, $p \leq 0.01$

a) 100 cells analyzed for structural aberrations for positive controls

b) Mitotic index reduction = [One minus the quotient (mean test article mitotic index/mean vehicle control mitotic index)] x 100.