2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧

略語（略称）	内容
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
BALT	気管支関連リンパ組織
Cmax	最高血漿中濃度
FF	フルチカゾンフランカルボン酸エステル
GALT	腸管関連リンパ組織
GLP	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
NALT	鼻咽頭関連リンパ組織
TK	トキシコキネティクス
VI	ビランテロールトリフェニル酢酸塩

2.6.6. 毒性試験の概要文

2.6.6.1. まとめ

本剤は吸入ステロイド薬であるフルチカゾンフランカルボン酸エステル（FF）と長時間作動型 β2 刺激薬であるビランテロールトリフェニル酢酸塩（VI）との配合吸入粉末剤（FF/VI）である。FF 及び VI の薬理、薬物動態及び毒性試験については、「アラミスト点鼻液」並びに「レルベアエリプタ」の承認申請時に提出した資料により既に評価されている。本承認申請は、本剤の小児適用追加申請である。そのため、毒性試験として、FF/VI の幼若ラット及びイヌを用いたそれぞれ最長 14 日間及び 13 週間の反復吸入投与試験を実施した。

本項における FF 及び VI の投与量及び濃度は、いずれも遊離塩基換算量として記載した。

実施した試験により得られた主要所見を以下に示す。

新生児を用いた試験

FF 及び VI を幼若ラット（投与開始時 21 日齢）及びイヌ（投与開始時 8 週齢）にそれぞれ最長 14 日間及び 13 週間吸入投与したときの変化は、副腎皮質ホルモン又は β2 刺激薬のどちらか一方を単独投与したときに予想されるクラスエフェクトによるものであり、併用投与による新たな毒性は認められなかった。FF 及び VI 併用投与により幼若動物でみられた所見の多くは、成熟動物でも同様に認められるものであったが、腎臓、眼、骨及び肺におけるいくつかの所見は、幼若イヌにのみ認められた。

2.6.6.2. 急性毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.3. 反復投与毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.4. 遺伝毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.5. がん原性試験

新たな試験は実施していない。

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

新たな試験は実施していない。

2.6.6.6.2. 胚・胎児発生に関する試験

新たな試験は実施していない。

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

新たな試験は実施していない。

2.6.6.6.4. 新生児を用いた試験

FF 及び VI を幼若動物に併用投与したときの影響について評価するため、幼若ラット及びイヌを用いたそれぞれ最長 14 日間及び 13 週間吸入投与試験を実施した（表 2.6.6-1）。

用量設定試験は GLP の一般原則に従って実施し、本試験は GLP に準拠して実施した。

表 2.6.6-1 幼若動物を用いた反復投与毒性試験一覧

動物種/系統	投与経路	投与期間	投与量(μg/kg/日) (FF:VI)	動物数/性/群	GLP 適用	実施施設	資料番号
幼若ラット (Sprague Dawley)	吸入 (鼻口部)	14 日間	0:0 41.8:0 0:20.4 0:629.8 32.8:18.8 26.2:3.6	10	非適	[redacted]	WD2008/00710
幼若イヌ (Beagle)	吸入 (鼻口部)	14 日間	0:0 27.1:0 0:30.6 0:94.1 43.1:26.8 39.8:1.1	1	非適	[redacted]	WD2008/00391
	吸入 (鼻口部)	13 週間	0:0 59.9:0 0:51.6 7.07:8.32 18.6:19.1 57.8:62.0 57.5:5.38	♂4/5 ♀3/4	適	[redacted]	2011N126501

[redacted] = [redacted]（カナダ）

2.6.6.6.4.1. 幼若ラット

2.6.6.6.4.1.1. 14 日間投与試験

幼若ラット（各群雌雄各 10 例）に生後 21 日から 14 日間にわたり、FF の 41.8 μg/kg/日又は VI の 20.4 若しくは 629.8 μg/kg/日を単独吸入投与、又は FF/VI の 32.8/18.8 若しくは 26.2/3.6 μg/kg/日を併用吸入投与（鼻口部から 1 時間吸入）した（WD2008/00710）。対照群には媒体［1%（w/w）ステアリン酸マグネシウム含有乳糖］を投与した。また、トキシコキネティクス評価のため、対照群及び投薬群にそれぞれ雌雄各 9 及び 18 例を追加した。毒性評価として、一般状態観察、体重・体重増加量・摂餌量測定、胸腺及び肝臓重量測定、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。トキシコキネティック評価は、試験 1 及び 14 日に採取したサンプルで実施した。

試験成績の概略を 2.6.7.11 に示す。FF の 26.2 μg/kg/日以上の群では、概ね用量依存的な体重増加量及び摂餌量の軽度低値がみられた。VI の 629.8 μg/kg/日群では、体重、体重増加量及び摂餌量の軽度高値が認められた。

FF 単独群及び VI との併用群において、胸腺重量の低値並びに骨髄、胸腺、NALT 及び BALT に組織学的変化が認められた。

FF/VI の 26.2/3.6 及び 32.8/18.8 μg/kg/日群並びに FF の 41.8 μg/kg/日群では、骨髄の細胞密度低下、NALT 及び BALT の萎縮及び胸腺のリンパ球枯渇（胸腺では重量の低値を伴う）がみられた。これらは FF によるコルチコステロイド作用と一致するものであった。VI に関連する組織学的変化は認められなかった。FF 及び VI のいずれにおいても、単独投与時と併用投与時で全身曝露量に概ね相違はみられなかった。

2.6.6.6.4.2. イヌ

2.6.6.6.4.2.1. 14 日間投与試験

幼若イヌ（各群雌雄各 1 例）に生後 55～57 日から 14 日間にわたり、FF の 27.1 μg/kg/日又は VI の 30.6 若しくは 94.1 μg/kg/日を単独吸入投与、又は FF/VI の 43.1/26.8 若しくは 39.8/1.1 μg/kg/日を併用吸入投与（フェイスマウスを用いて 30 分間）した（WD2008/00391）。対照群には媒体［1%（w/w）ステアリン酸マグネシウム含有乳糖］を投与した。毒性評価として、一般状態観察、体重・体重増加量測定、心拍数測定、呼吸数測定、体高・体長測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、病理組織学的検査及びトキシコキネティクス評価（試験 1 及び 14 日）を実施した。

試験成績の概略を 2.6.7.11 に示す。VI の 94.1 μg/kg/日群の雌雄及び 30.6 μg/kg/日群の雄で心拍数の高値（対照群の最大 1.3 倍、投与後 1 時間まで）がみられた。

FF/VI の 43.1/26.8 及び 39.8/1.1 μg/kg/日群の雌雄で好中球数の軽度高値及びリンパ球数の軽度～中等度低値がみられた。これらの所見の程度は、FF の単独群（27.1 μg/kg/日群）と同程度（FF の 27.1 μg/kg/日群の雌でみられた好中球数の中等度高値を除く）であったことから、これらの所見は FF に関連するものであると考えられた。

病理組織学的検査では、FF（27.1 μg/kg/日群）に関連する所見が肝臓（肝細胞細胞質淡明化）、副腎（軽微な束状帯の萎縮）、胸腺（軽微～中等度の萎縮）及び GALT（回腸：軽微なリンパ組織の萎縮）でみられ、VI（94.1 μg/kg/日群）に関連する所見が肝臓（雌で軽度の門脈周囲性肝細胞細胞質淡明化）で認められた。FF/VI の併用群（43.1/26.8 及び 39.8/1.1 μg/kg/日群）では、肝臓、副腎、胸腺及び GALT（回腸）に投薬に関連した変化がみられた。これらの変化は FF の 27.1 μg/kg/日群と同様であった。43.1/26.8 μg/kg/日群における GALT の変化の程度は、FF の 27.1 μg/kg/日群よりもわずかに増強していたが、その他の所見の程度は、FF の 27.1 μg/kg/日群と同程度であった。

FF の単独及び VI との併用群において、投薬に関連した副腎及び胸腺重量の低値がみられ、これに関連して副腎束状層萎縮及び胸腺萎縮が認められた。

2.6.6.6.4.2.2. 13 週間投与試験

幼若イヌ［各群 8 例（雄 4 又は 5 例、雌 3 又は 4 例）］に生後 56 日から 13 週間にわたり、FF の 59.9 μg/kg/日若しくは VI の 51.6 μg/kg/日を単独吸入投与、又は FF/VI の 7.07/8.32、18.6/19.1、57.8/62.0 若しくは 57.5/5.38 μg/kg/日を併用吸入投与（フェイスマウスを用いて 30 分間）した（2011N126501）。対照群には媒体［1%（w/w）ステアリン酸マグネシウム含有乳糖］を投与した。毒性評価として、一般状態観察（体長・体高測定を含む）、体重・体重増加量・摂餌量測定、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、トロポニン I 測定、免

疫化学的検査（シナクテン試験の一部でコルチゾール濃度測定）、眼科学的検査、心拍数測定、心電図検査、分時換気量測定、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査（電子顕微鏡及び免疫組織化学的検査を含む）。トキシコキネティック評価は、試験 1 日並びに試験 4、8 及び 13 週に採取したサンプルで実施した。

試験成績の概略を 2.6.7.15.1 に示す。FF の 59.9 µg/kg/日群では、雌 1 例が試験 60 日に死亡した。剖検及び病理組織学的検査においても死因は不明であった。FF/VI 併用群では、一般状態悪化／瀕死状態のため、雌 2 例を早期安楽死させた（57.8/62.0 及び 57.5/5.38 µg/kg/日群の各 1 例をそれぞれ試験 30 及び 91 日）。57.8/62.0 µg/kg/日群の早期安楽死の原因は、肺の炎症性変化によるものと考えられた。57.5/5.38 µg/kg/日群では、一般状態悪化の原因を明確に特定することはできなかったが、いくつかの炎症性変化（腹部皮下組織、頭部骨格筋、左室乳頭筋基部、膀胱及び肺）が複合的に関与している可能性が考えられた。また、上記 3 例とも、後述する予定剖検例にみられた変化が他の組織で認められており、これらの変化が早期死亡に一部関与している可能性が考えられた。

VI の 51.6 µg/kg/日群では、肝臓（軽微な細胞質淡明化）、胸腺（軽微なリンパ球枯渇）、鼻腔（軽微な杯細胞肥大）に組織学的変化が認められた。また、試験期間を通じた心拍数の高値［試験 4 及び 13 週にベースライン値の最大 1.43 倍、投与終了後 30 分以内にピークに達し、トロポニン I の高値（対照群の最大 164 倍、試験 1 日の投与 3 時間後）を伴う］、尿クレアチニンの軽度高値、並びに体重・体重増加量の軽度高値（それぞれ最大 1.18 及び 1.08 倍）及びこれに関連する摂餌量の軽度高値（最大 1.16 倍）が認められた。

FF の 59.9 µg/kg/群では、副腎（シナクテン刺激に対するコルチゾール応答の低下及び中等度の皮質萎縮）、腎臓（軽度～中等度の糸球体腎症及び塩基性尿細管、軽微又は軽度の尿細管出血及び空胞化）、肺（マクロファージ集積、出血、気管支／細気管支上皮肥大及び血管周囲の単核細胞浸潤を伴う軽微又は軽度の細気管支上皮空胞化、軽微～中等度の細気管支肺胞上皮の鉱質沈着／炎症）、切歯及び小臼歯（軽微又は軽度の象牙芽細胞層の破壊／萎縮及び象牙前質の異常／破壊）、胸骨及び大腿骨（中等度の骨端軟骨肥大層の萎縮及び軽度又は中等度の海綿骨減少）、肝臓（軽度～重度の細胞質淡明化（グリコーゲンの蓄積）及び軽微な胆管上皮空胞化）、胆嚢（軽微～中等度の拡張／粘液嚢胞及び軽微又は軽度の上皮空胞化／肥大）、リンパ組織（胸腺、脾臓、GALT、扁桃、下顎・腸間膜・膝窩・気管気管支リンパ節）の軽微～重度のリンパ球枯渇（リンパ球及び好酸球数減少を伴う）及び腸間膜リンパ節の軽微～重度の赤血球増多／赤血球貪食）、骨髄（中等度の造血細胞数減少）、眼（突出又は漿液性眼漏）、全身［筋肉量減少示唆する脂肪組織の増加（血清クレアチニン濃度減少を伴う）］、膵臓及び耳下腺（軽微～中等度の脂肪細胞浸潤）、鼻腔／副鼻腔（軽度の杯細胞肥大）、皮膚（軽微又は軽度の表皮及び付属器の萎縮）、白血球（主に好中球）・大型非染色細胞・単球数の高値、赤血球系パラメータ及び血小板数の高値、ALT、ALP、トリグリセリド、コレステロール、総蛋白及びアルブミンの高値、血清リンの低値、血清カリウムの高値、腎臓への影響（尿量の高値及び尿比重の低値を伴う血清尿素の低値、尿蛋白排泄量の高値、糸球体腎症、塩基性尿細管、尿細管出血及び尿細管空胞化）、雄で軽度～中等度の体重低値（対照群の 0.79 倍）、軽度（雌）又は重度の（雄）体重増加量の低値（雌雄でそれぞれ対照群の 0.79 及び 0.56 倍）、軽度の摂餌量低値（対照群の最大 0.77 倍）、成長抑制

（体長：対照群の最大 0.31 倍、体高：最大 0.41 倍、骨端軟骨肥大層の萎縮を伴う）が認められた。同群 1 の同腹児 3 例において、試験 3～4 週に液状便／軟便（赤色）が観察されたが、本所見はコクシジウム症に関連したものであった。

FF/VI の 57.8/62.0 μg/kg/日（1：1 の割合）及び 57.5/5.38 μg/kg/日（11：1 の割合）群の生存例では、FF 単独群（59.9 μg/kg/日）と同様の臨床病理学的及び組織学的所見がみられ、発現頻度及び程度も同群と同程度であった（尿蛋白排出量の高値は FF 単独群のみ）。雄で軽度～中等度の体重低値（対照群の最大 0.64 倍）がみられ、雌でも同程度の変化が認められた。体重増加量の低値はより顕著（対照群の最大 0.43 倍）であり、これに関連して軽度の摂餌量低値及び成長抑制（体長：対照群の最大 0.10 倍、体高：最大 0.25 倍）が認められた。また、57.8/62.0 μg/kg/日群では、心拍数の高値（試験 4 週の投与 5 分後でベースライン値の最大 2.01 倍、試験 1 日にトロポニン I の高値を伴う）が試験期間を通してみられ、その程度は VI 単独群（51.6 μg/kg/日、試験 4 及び 13 週でベースライン値の最大 1.43 倍）と概ね同程度であった。57.5/5.38 μg/kg/日群の雌においても、心拍数の高値（試験 4 週の投与 1 時間後でベースライン値の最大 1.42 倍）がみられたが、試験 1 日に血清トロポニン I の高値は認められなかった。

FF/VI の 18.6/19.1 μg/kg/日（1：1 の割合）群では、57.8/62.0 μg/kg/日群と同様の組織学的所見が同程度で副腎（シナクテン刺激に対するコルチゾール濃度の低下を伴う）、腎臓（雌のみ）、胆嚢（胆管上皮）、胸腺、腸間膜リンパ節（赤血球増多／赤血球貪食）、骨髄、眼、全身及び鼻腔／副鼻腔に認められた。また、57.8/62.0 μg/kg/日群と同様の所見が肺（気管支空胞化・炎症、出血、マクロファージ集簇）、胸骨・大腿骨、肝臓（細胞質淡明化）、リンパ組織（リンパ球・好酸球数の低値に関連する GALT、脾臓、扁桃・下顎・腸間膜・気管気管支リンパ節のリンパ球枯渇）、耳下腺及び皮膚でみられたが、57.8/62.0 μg/kg/日群と比べてこれらの所見の発現頻度及び／又は程度は低く、用量依存性が示唆された。一方、57.8/62.0 μg/kg/日群とは異なり、歯及び膵臓に投薬に関連した変化はみられなかった。18.6/19.1 μg/kg/日群では、57.8/62.0 μg/kg/日群よりも軽度であるが、赤血球系パラメータの高値、ALT、ALP、トリグリセリド、総蛋白及びアルブミンの高値、血清カリウムの高値、尿量高値及び尿比重低値、体重増加量の軽度低値（対照群の最大 0.73 倍）、摂餌量の軽度高値（最大 1.14 倍）、成長抑制（体長：対照群の最大 0.44 倍、体高：最大 0.55 倍）が認められた。また、VI を単独（51.6 μg/kg/日）又は FF と併用（57.8/62.0 μg/kg/日）投与したときと同様に心拍数の高値（試験 1 日にトロポニン I の高値を伴う）がみられ、その程度はこれらの群と概ね同程度であった（心拍数：試験 13 週でベースライン値の最大 1.74 倍、トロポニン I：試験 1 日の投与 3 時間後で対照群の最大 13.4 倍）。

FF/VI の 7.07/8.32 μg/kg/日（1：1 の割合）群では、18.6/19.1 又は 57.8/62.0 μg/kg/日群と同様／同程度の組織学的所見が副腎（シナクテン刺激に対するコルチゾール濃度の低下を伴う）及び鼻腔／副鼻腔にみられた。また、18.6/19.1 μg/kg/日群と同様の所見が肺、胆嚢（胆管上皮）、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節（赤血球増多／赤血球貪食）、骨髄、耳下腺及び皮膚でみられたが、18.6/19.1 μg/kg/日群と比べてこれらの所見の発現頻度及び／又は程度は低く、用量依存性が示唆された。一方、同群では、18.6/19.1 及び 57.8/62 μg/kg/日群とは異なり、腎臓、歯、胸骨、大腿骨、眼、全身及び膵臓に投薬に関連した変化はみられず、雄 1 例

でみられた気管気管支リンパ節の軽微なリンパ球減少を除き、GALT、扁桃及びいずれのリンパ節でもリンパ球枯渇は認められなかった。7.07/8.32 μg/kg/日群では、18.6/19.1 μg/kg/日群よりも軽度であるが、赤血球系パラメータ及び血小板数の高値、好酸球・リンパ球数の低値並びに血清リンの低値が認められた。雌では、FF の高用量群（単独及び併用）よりも軽度であったものの、体重増加量の低値（対照群の 0.81 倍）がみられたが、雌雄の摂餌量は高値（それぞれ対照群の 1.32 及び 1.29 倍）を示した。成長への影響として、体高（雌雄でそれぞれ対照群の 0.87 及び 0.76 倍）及び体長（雌：対照群の 0.90 倍）の低値が認められた。VI を単独（51.6 μg/kg/日）及び FF と併用（18.6/19.1、57.8/62.0 μg/kg/日）投与したときと同様に心拍数の高値がみられたが、これらの群と比べてその程度は軽度（心拍数：試験 4 週でベースライン値の最大 1.30 倍、トロポニン I：試験 1 日の投与 3 時間後で最大 12.9 倍）であった。

2.6.6.7. 局所刺激性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8. その他の毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.9. 考察及び結論

FF 及び VI を小児喘息患者に併用投与したときの影響について検討するため、幼若ラット（投与開始時 21 日齢）及びイヌ（投与開始時 8 週齢）を用いた FF 及び VI の併用投与によるそれぞれ最長 14 日間及び 13 週間の吸入投与試験を実施した。いずれの試験においても、FF 及び VI の併用投与群だけでなく、FF 又は VI の単独投与群も設定した。

幼若イヌを用いた 13 週間投与試験で得られた FF の全身曝露量（AUC0-t）は、小児喘息患者に FF の 100 μg/日を投与したときの 4～34 倍であった（表 2.6.6-4）。VI については、小児喘息患者に 25 μg/日を投与したときの 56～487 倍の全身曝露が確認された（表 2.6.6-5）。

幼若動物を用いた FF 及び VI の併用投与試験における主要所見は、成熟動物を用いた試験と同様、副腎皮質ホルモン又は β2 刺激薬の投与後に予想されるものであり、副腎皮質ホルモンに関連する所見が多く認められた。幼若ラット又はイヌに FF を単独投与したときの所見の大部分は、成熟動物でも認められたものであった（表 2.6.6-2 及び表 2.6.6-3）。なお、表 2.6.6-3 の幼若イヌにおける所見は、特記しない限り、13 週間投与試験の結果を示す。

以下、FF を単独又は VI と併用投与した幼若イヌ 13 週間吸入投与試験で観察された所見のうち、両薬物の成熟イヌへの投与ではみられず、本試験でのみ認められた所見について、その詳細を示す。

腎臓への影響

イヌでは、副腎皮質ホルモン（プレドニゾン等）投与後又は自然発症性の副腎皮質機能亢進症を有する場合に糸球体変化及び蛋白尿が起こることが知られており[Waters, 1997]、FF

を投与した成獣においても軽度の腎所見（塩基性尿細管等）が認められている（アラミスト点鼻液 27.5μg 56 噴霧用：資料番号 WD2004/00523 及び WD2004/01625）。幼若イヌ（雌雄）では、FF 単独群（59.9 μg/kg/日）及び FF/VI 併用群（18.6/19.1、57.8/62.0 及び 57.5/5.38 μg/kg/日）において、FF 投与時の成獣でみられた上述の変化に加えて、糸球体腎症及び尿細管空胞化が認められた。イヌでは、腎臓の形態形成は生後 3 週に完了し[Zoetis, 2003]、糸球体を含む腎臓の成熟及び機能発達は生後 15 週まで継続することが報告されている[Laroute, 2005; Goldsmith, 1986; Horster, 1971]。したがって、幼若イヌで観察された腎所見は、明らかな原因は不明であるものの、成獣でも認められた所見が増悪したことによる可能性、又は FF 等の副腎皮質ホルモンの全身への高曝露によって引き起こされる影響に対して、形態的若しくは機能的に発達途中の糸球体では、感受性がより高かったことによる可能性が示唆された。一方、FF の 7.07 μg/kg/日群（VI の 8.32 μg/kg/日と併用）では（この時の AUC0-t は、小児患者に 100 μg/日を投与したときの 4 倍）、腎所見は認められていない。

眼への影響

幼若イヌの FF 単独群（59.9 μg/kg/日）及び FF/VI 併用群（18.6/19.1、57.8/62.0 及び 57.5/5.38 μg/kg/日）において、眼漏を時折伴う眼球突出が観察された。FF の成獣を用いた最長 39 週間投与試験では認められなかったが、ヒトではクッシング症候群患者[Morgan, 1958]やプレドニゾン等の外因性副腎皮質ホルモン投与後[VanDalen, 1989]に、ラットではコルチコステロン投与後[Aterman, 1958]に眼球突出が報告されており、本所見のイヌにおける発現は予想されないものではなく、副腎皮質ホルモンによるクラスエフェクトと考えられた。FF の 7.07 μg/kg/日（VI の 8.32 μg/kg/日との併用）を投与した幼若イヌでは、眼球突出はみられず、このときの曝露量は、小児患者に 100 μg/日を投与したときの 4 倍であった。また、この群では、漿液性眼漏の発生頻度の高値（試験開始前又は対照群と比較して）も認められなかった。

骨への影響

幼若イヌの FF 単独群（59.9 μg/kg/日）及び FF/VI 併用群（18.6/19.1、57.8/62.0 及び 57.5/5.38 μg/kg/日）において、胸骨及び大腿骨の成長軟骨帯の萎縮並びに成長板の菲薄化がみられた。本所見は FF を成熟イヌに投与したときには観察されていないが、コルチゾン又はプレドニゾロンファルネシル酸エステルを投与したラットで成長板の菲薄化が報告されており[Leininger, 1990; Okazaki, 1992]、また、グルココルチコイドは成長板軟骨細胞に直接的に作用するだけでなく、成長ホルモンによる成長を抑制させることが知られている[Klaus, 2000]。FF を投与した幼若イヌでは、成長板への影響と関連して大腿骨及び胸骨における海綿骨の骨量及び骨細胞の減少並びに成長抑制（体長及び体高の低値）がみられ、骨における変化も副腎皮質ホルモンによる影響として知られている[Gronowicz, 1995; Hirayama, 2002]。これらのことから、上記所見は、副腎皮質ホルモンによるクラスエフェクトと考えられた。FF の 18.6 μg/kg/日（VI の 19.1 μg/kg/日との併用）を投与したときの AUC0-t は、小児患者に 100 μg/日を投与したときの 13 倍であった。

肺への影響

幼若イヌの FF 単独群（59.9 µg/kg/日）及び FF/VI 併用群（7.07/8.32、18.6/19.1、57.8/62.0 及び 57.5/5.38 µg/kg/日）において、肺の気管支／細気管支／肺胞に炎症性変化がみられ、細気管支上皮の空胞化が認められた。電子顕微鏡及び免疫組織化学的検査により、空胞化は細胞内の脂質蓄積によるものであることが判明した。また、FF 単独群（59.9 µg/kg/日）及び FF/VI 併用群（18.6/19.1、57.8/62.0 及び 57.5/5.38 µg/kg/日）において、気管支／細気管支上皮の肥厚及び／又は血管周囲単核細胞浸潤がみられ、FF 単独群（59.9 µg/kg/日）及び FF/VI 併用群（57.8/62.0 及び 57.5/5.38 µg/kg/日）では、細気管支／肺胞の鉱質沈着も認められた。また、これらの変化に伴って肺胞出血及び／又はマクロファージ集簇が時折認められた。これらの炎症性変化は、FF の免疫抑制作用により、動物が呼吸器感染症に罹患しやすくなったためと考えらえる。このことは、FF 単独群（59.9 µg/kg/日）で一般状態悪化により早期死亡した雌 1 例の肺から大腸菌が分離され、FF/VI 併用群（57.8/62.0 及び 57.5/5.38 µg/kg/日）の雌 2 例において肺胞に微生物（微細構造的にニューモシスチス属に一致）が確認されたことからも支持される。同様の呼吸器の組織学的所見は、FF を投与した成熟イヌの試験でもみられており（アラミスト点鼻液 27.5µg 56 噴霧用：資料番号 WD2004/00523、WD2003/00645）、また、他の副腎皮質ホルモン投与時においても観察されている[Lewis, 2013]。これらのことから、上記の呼吸器の組織学的所見は、FF を含む副腎皮質ホルモンのクラスエフェクトに関連したものと考えられる。

以上のように、FF を単独投与又は VI と併用投与した幼若イヌの 13 週間吸入投与試験で観察された所見のうち、両薬物の成熟イヌへの投与ではみられず、本試験でのみ認められた所見は、腎臓、眼、骨及び肺への影響であった。これらの所見は、成熟イヌではみられなかったが、本試験において VI 単独群では認められず、FF 単独群及び FF/VI 併用群でともに観察されたことから、FF に関連したものと考えられた。これらの所見を含め、FF 及び VI を併用投与した幼若イヌで観察された変化は、どちらか一方の化合物を単独投与したときに予想されるクラスエフェクトであり、併用投与による新たな毒性は認められなかった。なお、上記所見（肺への影響を除く）が認められたときの FF の曝露量（AUC0-t）は、小児患者に FF の 100 µg/日を投与したときの 13 倍以上に相当する（表 2.6.6-4）。肺への影響については、FF の最小用量（7.07 µg/kg/日）からみられており、無影響量は求めることはできなかったが、認められた所見はいずれも軽微な変化であり、本用量を投与したときの曝露量は、小児患者に FF の 100 µg/日を投与したときの 4 倍であった。また、イヌ 14 日間投与用量設定試験では、FF/VI の 43.1/26.8 µg/kg/日群において、FF 単独群と比較して、GALT（回腸）におけるリンパ組織の萎縮の程度がわずかに増強していたが、13 週間投与試験では、FF 単独群又は VI との併用群で同程度であった。これらのことから、予定している用法・用量での小児喘息患者への投与において、FF/VI の併用投与により新たに懸念すべき毒性学的又は臨床的に意義のある変化が発現する可能性は低いと考えられた。

表 2.6.6-2 成熟ラット及びイヌに FF 及び VI を 13 週間単独又は併用吸入投与したときの主要所見

所見	ラット	イヌ
	影響量 (µg/kg/日)	影響量 (µg/kg/日)
FF 関連所見		
胸腺及びその他の組織: リンパ球枯渇 胸腺: 萎縮、重量低値	≥7.85[d]	≥6.92[d]
骨髄: 細胞密度低下	≥7.85[d]	≥6.92[d]
白血球数: リンパ球、好酸球、好塩基球、単球又は大型非染色細胞数の低値	≥19.8[d]	≥6.92[d]
副腎: 重量低値	≥29.4[c]	≥6.92[d]
副腎: 空胞化／萎縮	34.9[c]	≥6.92[d]
肝臓: 重量高値、肝細胞細胞質淡明化	NO	≥6.92[d]
皮膚所見: 休止期毛嚢 皮膚所見: 表皮過形成／限局性潰瘍形成／痂皮形成	≥19.8[d] ≥7.85[d]	≥20.6[d] NO
乳腺(雌): 分泌亢進	≥7.85[d]	NO
胆嚢: 上皮細胞肥大／空胞化、ムチン増加、胆管上皮空胞化	NO	≥6.92[d]
肺胞: 泡沫化マクロファージ	≥7.85[d]	NO
骨格筋: 筋線維萎縮	NO	≥56.1[d]
体重増加量の低値、体重減少	≥7.85[d]	≥6.92[d]
切歯: 肉眼的・組織学的所見	≥7.85[d]	NE
胃・食道: 炎症性変化	NO	≥20.6[d]
VI 関連所見		
心拍数高値(試験 1 日)	NM	≥1.17[e]
心臓: 心筋変性、線維化	NO	≥0.953[b]
血清中トリグリセリド・グルコースの低値	24.9	NO
カリウムの高値	5.24	NO
肝臓: 細胞質淡明化	NO	33.5
胸腺: 退縮／萎縮の程度亢進	NO	33.5
骨格筋: 単一筋線維の炎症／変性	≥6.29[a]	NO

Key:
a = 4 週間投与試験（雄）でみられたが、13 週間投与試験の高用量（30.7 µg/kg/日）では認められなかった。
b = 4 週間投与試験でみられたが、13 週間投与試験の高用量（33.5 µg/kg/日）では認められなかった。
c = 4 週間投与試験でみられたが、13 週間投与試験の高用量（56.4 µg/kg/日）では認められなかった。
d = FF の用量。当該用量以上の FF を単独又は VI と併用投与した群で観察された。
e = VI の用量。当該用量以上の VI を単独又は FF と併用投与した群で心拍数増加が観察された。
NE = 病理組織学的検査は実施していないが、剖検で異常は認められず
NM = 測定せず
NO = 観察されず
Note:
これらの所見は、FF 又は VI を単独投与したときに認められた。FF 及び VI を併用投与したときに、発現頻度／程度が増加／増強した所見がみられたが（網掛け）、新たな毒性は認められなかった。
Data source:
レルベア初回申請時申請資料（Rat 4 week study: WD2007/00766, Rat 13 week study: FD2008/00342, Dog 4 week study: WD2007/00765, Dog 13 week study: WD2008/01441）

表 2.6.6-3 幼若イヌに FF 及び VI を 13 週間単独又は併用吸入投与したときの主要所見

所見	イヌ 影響量 (μg/kg/日)
幼若イヌにのみ認められた所見; FF 関連所見	
腎臓: 糸球体腎症、尿細管空胞化	≥18.6[a]
眼: 眼球突出	≥18.6[a]
骨: 骨端軟骨肥大層の萎縮、成長板の菲薄化	≥18.6[a]
肺: 気管支／細気管支／肺胞の炎症／鉱質沈着、気管支上皮空胞化	≥7.07[a]
FF 関連所見	
胸腺及びその他の組織: リンパ球枯渇	≥7.07[a]
骨髄: 細胞密度低下	≥7.07[a]
白血球数: リンパ球、好酸球又は大型非染色細胞数の低値	≥7.07[a]
副腎: 空胞化／萎縮	≥7.07[a]
肝臓: 肝細胞細胞質淡明化(グリコーゲン蓄積)	≥7.07[a]
皮膚: 表皮・付属器の萎縮	≥7.07[a]
胆嚢: 上皮細胞肥大、ムチン増加	≥7.07[a]
全身: 脂肪組織の増加	≥18.6[a]
体重増加量の低値、体重減少	≥7.07[a]
切歯・小臼歯: 象牙芽細胞層の破壊／萎縮、象牙前質層の異常／破壊	≥57.8[a]
鼻腔／副鼻腔: 杯細胞肥大	≥7.07[a]
VI 関連所見	
体重増加量の高値	51.6
心拍数・心筋トロポニン高値(試験 1 日)	≥5.38[b]
胸腺: リンパ球枯渇	51.6
肝臓: 肝細胞細胞質淡明化(グリコーゲン蓄積)	51.6
鼻腔／副鼻腔: 杯細胞肥大	51.6

Key:
a = FF の用量。当該用量以上の FF を単独又は VI と併用投与した群で観察された。
b = VI の用量。当該用量以上の VI を単独又は FF と併用投与した群で観察された。
NE = 病理組織学的検査は実施していないが、剖検で異常は認められず
NO = 観察されず

Note:
幼若イヌにおいて FF 又は VI を単独又は併用投与したときにみられた所見（上記表）の多くは、成獣イヌにおいても認められ（表 2.6.6-2）、FF 及び VI を併用投与してもその発現頻度及び程度の増加／増強は認められなかった。しかしながら、FF の投与に関連するいくつかの所見については幼若イヌにのみ認められた（上記表及び 2.6.6.9）。

表 2.6.6-4　幼若イヌに FF/VI を併用投与したときの FF の曝露量比較

動物種 試験の種類 (資料番号)	投与量 (μg/kg/日)[a]	Cmax (ng/mL)[b]	AUC0-t (ng.h/mL)[b]	動物／ヒト曝露量比	
				Cmax	AUC
幼若イヌ 13 週間投与試験 (2011N126501)	59.9 (0)	5.86	6.88	233	34
	7.07 (8.32)	0.83	0.72	33	4
	18.6 (19.1)	2.58	2.68	103	13
	57.8 (62.0)	2.09	3.32	83	16
	57.5 (5.38)	3.31	4.83	132	24
ヒト小児 [c]	100 μg/日	0.02515	0.20135	NA	NA

Key:
a = 用量は各試験の全投与期間を通しての推定投与量。VI との併用投与試験については、VI の用量を括弧内に示した。
b = 全身曝露量は全投与期間を通してのすべての測定値の算術平均である。曝露量はサンプリング時の推定投与量から全投与期間を通しての推定投与量により補正した。
c = 臨床試験（HZA106855、HZA102942、HZA112777）の血漿中 FF 濃度データを用いた PopPK 解析に基づく日本人小児患者に FF の 100 μg/日投与時の平均全身曝露量（n=2）（2.7.2.3.4.2 の表 2.7.2.3-9）。
NA = 該当せず

表 2.6.6-5　幼若イヌに FF/VI を併用投与したときの VI の曝露量比較

動物種 試験の種類 (資料番号)	投与量 (μg/kg/日)[a]	Cmax (ng/mL)[b]	AUC0-t (ng.h/mL)[b]	動物／ヒト曝露量比	
				Cmax	AUC
幼若イヌ 13 週間投与試験 (2011N126501)	51.6(0)	17.4	30.3	239	370
	8.32 (7.07)	2.12	5.53	29	68
	19.1 (18.6)	7.11	16.0	98	195
	62.0 (57.8)	20.2	39.9	277	487
	5.38 (57.5)	1.58	4.57	22	56
ヒト小児 [c]	25 μg/日	0.0728	0.0819	NA	NA

Key:
a = 用量は各試験の全投与期間を通しての推定投与量。FF との併用投与試験については、FF の用量を括弧内に示した
b = 全身曝露量は全投与期間を通してのすべての測定値の算術平均である。曝露量はサンプリング時の推定投与量から全投与期間を通しての推定投与量により補正した。
c =臨床試験（HZA106853、HZA112776、HZA112777）の血漿中 VI 濃度データを用いた PopPK 解析に基づく日本人小児患者に 25 μg/日投与時の平均全身曝露量（n=5）（2.7.2.3.4.2 の表 2.7.2.3-10）。
NA = 該当せず

2.6.6.10. 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11. 参考文献

Aterman K. Exophthalmos in Cushings's Syndrome. Br Med J. 1958;2:975.

Goldsmith DI, Jodorkovsky RA, Sherwinter J, et al. Glomerular capillary permeability in developing canines. American J Physiol. 1986;251:F528-31.

Gronowicz GA, McCarthy MB. Glucocorticoids inhibit the attachment of osteoblasts to bone extracellular matrix proteins and decrease beta 1-integrin levels. Endocrinology. 1995;136:598-608.

Hirayama T, Sabokbar A, Athanasou NA. Effect of corticosteroids on human osteoclast formation and activity. J endocrinol. 2002;175:155-63.

Horster M, Valtin H. Postnatal development of renal function: Micropuncture and clearance studies in the dog. J Clin Invest. 1971;50:779-95.

Klaus G, Jux C, Fernandez P, et al. Suppression of growth plate chondrocyte proliferation by corticosteroids. Pediatr Nephrol. 2000;14:612-5.

Laroute V, Chetboul V, Roche L, et al. Quantitative Evaluation of Renal Function in Healthy Beagle Puppies and Mature Dogs. Research in Veterinary Science. 2005;79:161-7.

Leininger JR, Riley MGI. Pathology of the Fischer rat. London:Academic Press; 1990:222.

Lewis DJ, McKevitt TP. Chapter 11 - Respiratory system. In: Sahota PS, Popp JA, Hardisty JF, Gopinath C, editor. Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment. CRC Press; 2013:367-419.

Morgan DC, Mason AS. Exophthalmos in Cushing's Syndrome. Br Med J. 1958;23:481-3.

Okazaki S, Yamazaki E, Tamura K, et al. A 13-week subcutaneous toxicity study of prednisolone farnesylate (PNF) in rats. J Toxicol Sci. 1992;17(Suppl 3):1-48.

VanDalen JTW, Sherman MD. Corticosteroid-induced exophthalmos. Documenta Ophthalmologica. 1989;72:273-7.

Waters CB, Adams LG, Scott-Moncrieff JC, et al. Effects of Glucocorticoid Therapy on Urine Protein-to-Creatinine Ratios and Renal Morphology in Dogs. J Vet Intern Med. 1997;11:172-7.

Zoetis T, Hurtt ME. Species Comparison of Anatomical and Functional Renal Development. Birth Defects Research. 2003;68:111-20.

アラミスト点鼻液 27.5μg 56 噴霧用／アラミスト点鼻液 27.5μg 120 噴霧用. フルチカゾンフランカルボン酸エステル. 2009 年 4 月 22 日. WD2004/00523.

アラミスト点鼻液 27.5μg 56 噴霧用／アラミスト点鼻液 27.5μg 120 噴霧用. フルチカゾンフランカルボン酸エステル. 2009 年 4 月 22 日. WD2004/01625.

アラミスト点鼻液 27.5μg 56 噴霧用／アラミスト点鼻液 27.5μg 120 噴霧用. フルチカゾンフランカルボン酸エステル. 2009 年 4 月 22 日. WD2003/00645.

2.6.7. 毒性試験概要表

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表

Test Article: GW685698 and GW642444 (as the triphenylacetate salt, GW642444M)

Type of Study	Species (Strain)	No./ Group	Method of Administration	Dose (mcg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)
Juvenile toxicity	Rat (Sprague Dawley)	10M/10F[a]	Inhalation	0 : 0 41.8 : 0 0 : 20.4 0 : 629.8 32.8 : 18.8 26.2 : 3.6 (GW685698 : GW642444)	14 days	No	[redacted]	WD2008/00710/00 (R27692)
Juvenile toxicity	Dog (beagle)	1M/1F	Inhalation	0 : 0 27.1 : 0 0 : 30.6 0 : 94.1 43.1 : 26.8 39.8 : 1.1 (GW685698 : GW642444)	14 days	No	[redacted]	WD2008/00391/00 (D27693)
Juvenile toxicity	Dog (beagle)	4 to 5M/ 3 to 4F[b]	Inhalation	0 : 0 59.9 : 0 0 : 51.6 7.07 : 8.32 18.6 : 19.1 57.8 : 62.0 57.5 : 5.38 (GW685698 : GW642444)	13 weeks	Yes	[redacted]	2011N126501_00 (D29424)

Key: GW685698 and/or GW642444 were administered as a dry powder blended with lactose containing magnesium stearate (1% w/w) for inhaled doses.
a = Additional 18 animals/sex/group included for toxicokinetic investigations.
b = Total of 8 animals per group.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted].

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧

Test Article: GW685698 and GW642444

Type of Study	Species (Strain)	No./ Group	Method of Administration	Dose (mcg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing (Sampling Occasions)	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)
Toxicokinetic (reproductive and developmental toxicity study) juvenile toxicity	Rat (Sprague Dawley)	18M18F	Inhalation	41.8 : 0 0 : 20.4 0 : 629.8 32.8 :18.8 26.2 : 3.6 (GW685698 : GW642444)	14 days (Days 1 & 14)	No	[redacted]	WD2008/00710/00 (R27692)
Toxicokinetic (reproductive and developmental toxicity study) juvenile toxicity	Dog (beagle)	1M/1F	Inhalation	27.1 : 0 0 : 30.6 0 : 94.1 43.1 : 26.8 39.8 : 1.1 (GW685698 : GW642444)	14 days (Days 1 & 14)	No	[redacted]	WD2008/00391/00 (D27693)
Toxicokinetic (reproductive and developmental toxicity study) juvenile toxicity	Dog (beagle)	4 to 5M/ 3 to 4F[a]	Inhalation	59.9 : 0 0 : 51.6 7.07 : 8.32 18.6 : 19.1 57.8 : 62.0 57.5 : 5.38 (GW685698 : GW642444)	13 weeks (Day 1 and Weeks 4, 8 & 13)	Yes	[redacted]	2011N126501_00 (D29424)

Key: Unless otherwise indicated, GW685698 and/or GW642444 were administered as a dry powder blended with lactose containing magnesium stearate (1% w/w) for inhaled doses.
a = Total of 8 animals per group.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted].

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

Test Article: GW685698

Overview of Toxicokinetic Data from Pivotal Toxicology Studies GW685698 Steady State AUC (mcg.h/mL)

Daily Dose (mcg/kg/day)[a]	Dogs	Humans
2		0.20135[d]
7.07 (8.32)	0.72[c]	
18.6 (19.1)	2.68[b, c]	
57.5 (5.38)	4.83[b, c]	
57.8 (62.0)	3.32[b, c]	
59.9 (0)	6.63[b, c]	

Key:
a = Inhaled doses are estimated achieved doses calculated for the whole duration of each study. For combination studies with GW642444 the dose levels of GW642444 are given in parenthesis.
b = Calculated exposure values have been normalised from estimated achieved dose on sampling occasion to overall estimated achieved dose for whole study
c = 2011N126501_00, Dog juvenile IH combination with GW642444
d = Model predicted mean following administration of 100 mcg GW685698 in Japanese pediatric patients. Equivalent to 2 mcg/kg for a 50 kg human.

Test Article: GW642444

Overview of Toxicokinetic Data from Pivotal Toxicology Studies GW642444 Steady State AUC (mcg.h/mL)

Daily Dose (mcg/kg/day)[a]	Dogs	Humans
0.5		0.0819[e]
5.38 (57.5)	4.57[d]	
8.32 (7.07)	5.53[d]	
19.1 (18.6)	16.0[b, c, d]	
51.6 (0)	29.5[b, c, d]	
62.0 (57.8)	39.9[b, c, d]	

Key:
a = Inhaled doses are estimated achieved doses calculated for the whole duration of each study. For combination studies with GW685698 the dose levels of GW685698 are given in parentheses.
b = Calculated exposure values have been normalised to overall estimated achieved dose for whole study.
c = Mean toxicokinetic data of all measurements taken in study.
d = 2011N126501_00, Dog juvenile IH combination with GW685698
e = Model predicted mean following administration of 25 mcg GW642444 in Japanese pediatric patients. Equivalent to 0.5 mcg/kg for a 50 kg human.

2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: GW685698

Drug Substance used in Pivotal toxicology Studies

Drug Substance Batch Number	Drug Substance Specified (Drug Related) Impurities [% w/w]															Report (Study) Number	Type of Study
	Purity	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	US	total		
Proposed Specification:	98.0 to 102.0	≤0.3	≤0.4	≤0.2	≤0.15	≤0.15		≤0.15		≤0.15		≤0.15	≤0.2	≤0.1	≤1.5		
[redacted]	99.3	<0.05	ND	<0.05	<0.05	<0.05		0.05		<0.05		<0.05	<0.05	<0.05	0.05	WD2008/00710	JTS
																WD2008/00391	JTS
[redacted]	99.5	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		<0.05		<0.05		<0.05	<0.05	<0.05	0.05	2011N126501	JTS

Key:
IMPURITIES: A = GR112801X. B = CCI22341. C = GW675713X. D = GW694301X. E = GW872664X. F = GW836850X. G = GSK1042706A. H = GSK1103877A. I = GSK465433A. J = GSK1322631A. K = GSK180878A. L = GW871519X. US = Any unspecified impurity.
Type of study: JTS = Juvenile Toxicity Study

Test Article: GW642444

Drug Substance used in Pivotal toxicology Studies

Drug Substance Batch Number	Drug Substance Specified (Drug Related) Impurities [% w/w]															Report (Study) Number	Type of Study
	Purity	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	total		
Proposed Specification:	>98.0	0.4	0.4		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	-	-	-	≤2.0		
[redacted] (K064212)	99.7	0.08	0.11		-	-	0.19	0.08	0.09	<0.05	-	-	-	-	0.54	WD2008/00710	JTS
																WD2008/00391	JTS
[redacted] (K219413)	100.0	<0.05	<0.05		<0.05	0.06	0.09	0.11	0.09	<0.05	-	-	-	-	0.45	2011N126501	JTS

Key:
IMPURITIES: A = GSK1649016A. B = GSK356142A. C = GW852687D. D = GSK2863707A. E = GSK356140A. F = GSK1453457A. G = GSK1454187A. H = GW643318X. I =GW613556X. J = GSK907117C (enantiomer). K = GSK1452689A. L = Phenylcinnamic acid. M = Toluene.
Type of study: JTS = Juvenile Toxicity Study

2.6.7.5. 単回投与毒性試験

該当試験なし

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当試験なし

2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験

該当試験なし

2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験

該当試験なし

2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験

該当試験なし

2.6.7.10. がん原性試験

該当試験なし

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: GW685698 and GW642444

Species/ Strain	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Estimated Achieved Dose[a] (µg/kg)	Achieved Aerosol Conc.[a] (µg/L)	No. of Animals/ Sex[b]	Noteworthy Findings	Report/ Study No.
Rat (Sprague Dawley) Day 21 pp on Day 1 of treatment	Snout-only inhalation ([Groups 2&3]: 3/1.5% or 3/0.4% w/w GW685698/GW642444 blended in lactose with 1% w/w magnesium stearate [Group 4]: 1% GW685698 blended in lactose with 1% w/w magnesium stearate [Groups 5&6]: 1% GW642444 blended in lactose with 1% w/w magnesium stearate)	60 minutes/ day for 14 days	0 32.8 / 18.8 26.2 / 3.6 41.8 / 0 0 / 20.4 0 / 629.8 (GW685698 / GW642444)	0 0.667 / 0.383 0.525 / 0.073 0.838 / 0 0 / 0.4196 0 / 13.004 (GW685698 / GW642444)	19 28 28 28 28 28	Body weight gains and food consumption in males and females were mildly decreased at 26.2 mcg/kg/day and above in a generally dose-related fashion in groups treated with GW685698. Body weights, gains and food consumption were slightly increased in groups treated with the 629.8 mcg/kg GW642444. Microscopic changes in the bone marrow, thymus, NALT and BALT and reduced thymus weights were seen in rats treated with GW685698X alone and in combination with GW642444M using nose-only inhalation exposure. The decrease in cellularity of the bone marrow, reduction in NALT and BALT and lymphoid depletion of the thymus (and reduced thymus weight) seen in rats given 36/5 mcg/kg/day of GW685698/GW642444, 36/18 mcg/kg/day of GW685698/GW642444 or 36 mcg/kg/day of GW685698 were consistent with the corticosteroid effects of GW685698. There were no clear microscopic test article-related findings that were attributed to the administration of GW642444.	WD2008/00710/00 (R27692)
Dog (beagle) Approximately 8 weeks on Day 1 of treatment	Oronasal face mask inhalation Vehicle: Lactose with 1% Magnesium Stearate Formulation: ([Groups 2 & 3]: 3 / 1.5% or 3 / 0.083% GW685698 / GW642444 % w/w	30 minutes daily for 14 days	0 / 0 43.1 / 26.8 39.8 / 1.1 27.1 / 0 0 / 30.6 0 / 94.1 (GW685698 / GW642444)	0 / 0 0.964 / 0.599 0.983 / 0.027 0.729 / 0 0 / 0.831 0 / 2.564 (GW685698 / GW642444)	1 1 1 1 1 1	Heart rates were increased (up to 1.3X the control and up to 1 hour post dose) in all animals given GW642444 alone at 94.1 mcg/kg/day and in the male given GW642444 alone at 30.6 mcg/kg/day. Microscopic findings related to GW685698 alone at 27.1 mcg/kg/day were present in the liver (increased degree of hepatocyte rarefaction), adrenal (minimal atrophy of the zona fasciculata), thymus (minimal to moderate thymic atrophy) and ileum gut associated lymphoid tissue (GALT) (minimal lymphoid atrophy). Microscopic findings related to GW642444 alone at	WD2008/00391/00 (D27693)

blended in lactose with 1% Magnesium Stearate [Groups 5 & 6]: 1.5% GW642444 blended in lactose with 1% Magnesium Stearate [Group 4]: 3% GW685698 blended in lactose with 1% Magnesium Stearate)	94.1 mcg/kg/day were present in the liver of the female (slight decreased centrilobular rarefaction/increased periportal rarefaction). Microscopic findings related to the co-administration of GW685698/GW642444 at 43.1/26.8 or 39.8/1.1 mcg/kg/day were present in the liver, adrenal, thymus and GALT (ileum) at the same degree as the respective findings seen in animals given GW685698 alone at 27.1 mcg/kg/day with the exception of a marginal increase in the degree of ileal GALT findings in animals given GW685698/GW642444 at 43.1/26.8 mcg/kg/day. The weight decreases of the adrenal and thymus observed in animals given GW685698 alone or in combination with GW642444 are suggestive of a treatment- related effect and were associated with adrenal zona fasciculata and thymic atrophy. Mild increases in neutrophil counts and mild to moderate decreases in lymphocyte counts seen in both sexes given GW685698/GW642444 at 43.1/26.8 or 39.8/1.1 mcg/kg/day were at the same degree as the respective findings in all animals given GW685698 alone at 27.1 mcg/kg/day, with the exception of the moderate increases in leukocyte and neutrophil counts seen in the female given GW685698 alone at 27.1 mcg/kg/day, thus attributing these findings to GW685698.

Key:
a = Expressed in terms of the parent GW685698/GW642444.
b = 9 animals/sex in Group 1 and 18 animals/sex in Groups 2 to 6 were used for toxicokinetic sampling.
pp = Post partum.

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

該当試験なし

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当試験なし

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

該当試験なし

2.6.7.15. 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1. 幼若イヌ 13 週間吸入投与試験

Report Title: GW685698X and GW642444M: 13-week Juvenile Inhalation Toxicity Study of a Powder Aerosol Formulation in the Beagle Dog (Commencing 8 Weeks of Age)

Species/Strain: Beagle dog

Initial Age: 56 days of age

Date of First Dose: 26 October 2010

Duration of Dosing: 13 weeks

Route/Frequency: Oronasal face mask inhalation, once daily (30 minutes/day)

Vehicle: Lactose [Batch Number [redacted]] with 1% w/w magnesium stearate (MgSt) [Batch Number [redacted]]

Formulation: 12% w/w GW685698 with 1% w/w MgSt blended in lactose
4% w/w GW642444 with 1% w/w MgSt blended in lactose
1.4% w/w GW685698 and 1.4% w/w GW642444 with 1% w/w MgSt blended in lactose
4% w/w GW685698 and 4% w/w GW642444 with 1% w/w MgSt blended in lactose
12% w/w GW685698 and 0.8% w/w GW642444 with 1% w/w MgSt blended in lactose

Test Article: GW685698 and GW642444 (as the triphenylacetate salt GW642444M)

Input Batch Nos.: [redacted] (GW685698) and [redacted] (GW642444)

GSK Reference No.: D29424

GSK Document Number: 2011N126501_00

Study in Compliance with GLP: Yes

Data Collected: Aerosol concentration, particle size distribution, respiratory minute volume, toxicokinetics, clinical observations (including growth measurements), body weight, food consumption, ophthalmoscopy, electrocardiography, haematology, clinical chemistry, urinalysis, immunology (Troponin I), Synacthen test/challenge, organ weights, macroscopic and microscopic pathology.

Conclusion: Test article-related findings consistent with the expected class effects of administration of either a corticosteroid or beta2-agonist were noted. Co-administration of GW685698 and GW642444 did not modify the expected class effects of either compound administered alone or result in any novel toxicity. In the 1:1 ratio combination groups, with the exception of adrenal and nasal cavity changes, microscopic changes in other tissues generally showed evidence of a dose response.

In animals given GW685698 alone or in combination with GW642444, microscopic changes seen previously in dogs dosed with GW685698 and considered related to glucocorticoid pharmacology were seen in the adrenal glands, nasal cavities/sinuses, lung, bone marrow, liver, gall bladder, lymphoid tissues, whole body, parotid salivary gland and/or skin. A reduction in the response to Synacthen challenge and alterations in some clinical pathology endpoints, reduced body weight gain and/or decreased food consumption were also expected sequelae of GW685698 administration.

Findings in eyes, kidney, lung, teeth and bones whilst not described previously in dogs given GW685698 have been described in other species or in dogs dosed with other glucocorticoids and are also considered related to corticosteroid pharmacology.

Microscopic changes attributed to the pharmacology of GW642444 were noted in the liver, thymus and nasal cavity, with no changes present in clinical pathology parameters. Consistent dose-dependent increases in heart rate throughout the study following daily dosing correlated with increases in serum Troponin I. Mild increases in body weight and body weight gain and associated mild increases in food consumption were also noted.

A decrease in systemic exposure (about 2- to 3-fold) was observed when GW685698 was dosed in combination with GW642444 compared to when dosed alone. Generally, there were no large changes in systemic exposure to GW642444 when dosed in combination with GW685698 compared to when dosed individually. Systemic exposure to both GW685698 and GW642444 increased in an approximately proportional manner with increasing dose across the duration of the study.

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Achieved Aerosol Concentration[a]	**698**	0	5.50	0	0.664	1.70	5.01	5.00	0	5.50	0	0.664	1.70	5.01	5.00
(mcg/L)	**444**	0	0	5.49	0.781	1.74	5.46	0.466	0	0	5.49	0.781	1.74	5.46	0.466
Mass Median Aerodynamic Diameter (mcm) ±GSD	**698**	-	3.0 ± 1.8	-	2.4 ± 2.1	2.6 ± 1.9	2.5 ± 1.9	2.8 ± 1.9	-	3.0 ± 1.8	-	2.4 ± 2.1	2.6 ± 1.9	2.5 ± 1.9	2.8 ± 1.9
	444	-	-	2.4 ± 1.8	2.2 ± 2.0	2.6 ± 1.9	2.4 ± 1.8	2.9 ± 1.9	-	-	2.4 ± 1.8	2.2 ± 2.0	2.6 ± 1.9	2.4 ± 1.8	2.9 ± 1.9
Numbers of Animals (from Number of Litters):		4 (2)	5 (3)	5 (3)	4 (2)	4 (2)	4 (2)	5 (2)	4 (2)	3 (2)	3 (3)	4 (2)	4 (2)	4 (2)	3 (2)
AUC0-24 (ng.h/mL)[b]	Day 1	-	3.03	-	0.232	1.10	3.28	4.41	-	3.44	-	0.204	1.66	2.71	3.88
GW685698	Week 4	-	6.85	-	0.927	4.13	2.84	5.23	-	6.08	-	0.739	3.25	2.98	2.97
	Week 8	-	10.2	-	0.937	3.62	3.80	5.90	-	6.66	-	0.865	3.72	4.03	3.01
	Week 13	-	7.44	-	1.04	1.95	3.42	6.70	-	11.3	-	0.786	2.04	3.49	6.55
Cmax (ng/mL)[b]	Day 1	-	2.31	-	0.534	1.34	1.66	2.43	-	3.03	-	0.381	2.20	1.74	2.38
GW685698	Week 4	-	4.47	-	0.790	2.79	1.54	3.89	-	4.33	-	0.898	2.08	1.78	2.03
	Week 8	-	9.84	-	0.824	3.88	2.99	4.85	-	5.69	-	1.21	3.34	3.16	2.56
	Week 13	-	4.69	-	0.954	3.04	2.05	3.62	-	12.5	-	1.03	1.96	1.83	4.70
AUC0-24 (ng.h/mL)[b]	Day 1	-	-	30.2	5.89	18.5	63.7	4.79	-	-	31.4	4.42	18.9	96.6	11.0
GW642444	Week 4	-	-	24.1	6.01	20.8	25.7	2.26	-	-	32.2	4.25	15.0	30.1	1.36
	Week 8	-	-	30.7	5.37	15.2	26.2	2.17	-	-	38.0	4.76	14.7	28.3	1.43
	Week 13	-	-	25.5	6.32	12.9	26.5	6.16	-	-	30.4	7.19	11.6	21.8	7.42
Cmax (ng/mL)[b]	Day 1	-	-	14.6	2.60	11.0	37.7	1.73	-	-	18.4	1.80	8.69	46.4	3.16
GW642444	Week 4	-	-	15.1	1.90	6.78	11.2	0.755	-	-	17.1	1.66	5.41	15.2	0.465
	Week 8	-	-	17.2	1.91	6.28	14.5	0.768	-	-	22.8	2.15	6.78	13.7	0.547
	Week 13	-	-	15.6	2.31	6.55	13.0	3.33	-	-	18.0	2.61	5.35	10.1	1.90
Noteworthy Findings:															
Unscheduled Deaths[c]:		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
Clinical Observations:		Unilateral/bilateral discharge with/without enlargement of the eye was noted in 4/5 males and 2/3 females given 59.9 mcg/kg/day GW685698, 2/4 males and 2/4 females given 18.6/19.1 mcg/kg/day GW685698/GW642444, 1/4 females given 57.8/62.0 mcg/kg/day GW685698/GW642444 and 1/5 males and 1/3 females given 51.6 mcg/kg/day GW685698/GW642444 throughout the course of the study. Confirmed cases of coccidiosis in selected animals given 59.9 mcg/kg/day (Nos. 205, 252 and 253) correlated with liquid/soft red feces noted clinically during Week 3 and into Week 4.													
Overall Growth (Length)[e]:	(Weeks 1 to 13)	22.3 cm	0.31X	0.99X	1.0X	0.60X	0.32X	0.37X	22.5 cm	0.34X	0.98X	0.90X	0.44X	0.19X	0.10X
Overall Growth (Height)[e]:	(Weeks 1 to 13)	12.5 cm	0.41X	1.0X	0.76X	0.55X	0.41X	0.30X	9.50 cm	0.73X	1.1X	0.87X	0.58X	0.50X	0.25X
Body Weight (X Control[d]):	(Day 92)	7.75 kg	0.79X	1.18X	1.11X	1.04X	0.64X	0.76X	7.35 kg	0.95X	1.03X	0.92X	0.85X	0.64X	0.65X
Body Weight Gain (X Control):	(Weeks 1 to 13)	5.18 kg	0.56X	1.08X	0.96X	0.86X	0.43X	0.52X	4.58 kg	0.79X	0.95X	0.81X	0.73X	0.43X	0.44X

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Food Consumption (X Control[e]):															
(Weeks 1 to 13)		17664 g	0.78X	1.16X	1.29X	1.12X	0.86X	0.85X	17349 g	0.77X	1.14X	1.32X	1.14X	0.74X	0.88X
Ophthalmoscopy:															
Number of Animals Examined:		4	5	5	4	4	4	5	4	3	3	4	4	4	3
Serous Discharge (Pre-Study):	Unilateral	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Bilateral		1	0	1	0	2	0	0	1	1	0	1	3	1	0
Number of Animals Examined:		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Serous Discharge (Week 13):	Unilateral	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
	Bilateral	1	5	0	1	3	4	5	1	2	1	0	4	3	3
Exophthalmos (Week 13):	Unilateral	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bilateral	0	5	0	0	1	4	4	0	2	0	0	2	3	3
Heart Rates (Pulse Rates Via Oximeter):															
Day 1, PreRx heart rates (beats/min)		181	179	197	176	167	181	183	190	171	200	180	172	186	182
Day 1, 5 minutes PostRx[f]		0.98X	1.1X	1.4X	1.3X	1.4X	1.6X	1.2X	0.94X	1.1X	1.4X	1.3X	1.4X	1.6X	1.1X
Week 4, PreRx heart rates (beats/min)		183	170	178	147	129	133	120	189	149	177	143	151	127	121
Week 4, 5 minutes PostRx[f]		1.0X	1.0X	1.4X	1.2X	1.6X	1.9X	1.2X	0.97X	1.3X	1.4X	1.3X	1.5X	2.0X	1.4X
Week 13, PreRx heart rates (beats/min)		139	157	149	131	108	142	160	154	154	141	126	120	132	159
Week 13, 5 minutes PostRx[f]		0.95X	1.0X	1.4X	0.97X	1.5X	1.4X	1.1X	1.0X	1.0X	1.4X	1.1X	1.2X	1.4X	1.0X
Haematology:															
White blood cell count (10^9/L)	Week 4	11.0	16.1	8.88	8.85	9.82	15.1	16.5	12.5	14.0	9.37	11.1	10.9	16.1	17.4
Week 14		8.33	16.9	9.39	7.49	10.2	11.7	14.2	8.14	12.1	8.88	7.91	11.5	12.2	11.6
Eosinophil count (10^9/L)	Week 4	0.233	0.138	0.280	0.075	0.033	0.048	0.160	0.218	0.090	0.220	0.133	0.035	0.045	0.190
	Week 14	0.453	0.098	0.238	0.065	0.063	0.063	0.043	0.178	0.130	0.210	0.050	0.078	0.077	0.030
Lymphocyte count (10^9/L)	Week 4	3.71	2.50	3.35	3.12	2.47	2.05	2.61	4.33	1.88	3.39	2.92	2.68	1.94	2.35
	Week 14	3.50	1.85	3.43	2.44	2.18	1.45	2.47	3.40	1.67	3.69	2.10	2.25	1.64	1.58
Monocyte count (10^9/L)	Week 4	0.588	0.452	0.522	0.543	0.465	0.628	0.674	0.640	0.307	0.470	0.515	0.440	0.473	0.743
	Week 14	0.588	1.31	0.544	0.578	0.697	0.758	1.18	0.460	0.700	0.410	0.503	0.850	1.09	0.760
Neutrophil count (10^9/L)	Week 4	6.29	12.72	4.63	4.89	6.63	12.14	12.89	7.01	11.5	5.14	7.36	7.48	13.4	13.8
	Week 14	3.68	13.29	5.09	4.25	6.95	9.15	10.26	3.99	9.43	4.50	5.11	7.93	9.06	8.90
Red blood cell count (10^{12}/L)	Week 4	5.61	6.31	5.46	6.58	6.73	6.79	6.10	5.93	7.26	5.64	6.39	6.77	6.66	6.41
	Week 14	6.43	6.50	6.38	6.93	7.57	7.67	6.94	5.98	6.70	6.17	6.98	7.87	6.84	6.94
Hemoglobin (g/L)	Week 4	117	133	116	141	139	145	136	130	158	122	137	144	149	141
	Week 14	139	146	140	151	160	165	156	135	155	136	152	173	156	155
Hematocrit (%)	Week 4	34.4	39.6	34.0	40.7	40.8	42.6	38.7	38.2	46.6	35.2	39.7	42.2	43.2	40.8
	Week 14	40.8	42.7	40.7	43.2	47.2	48.3	46.0	39.0	44.8	39.3	43.7	50.1	45.7	44.4
Platelet count (10^9/L)	Week 4	315	613	322	427	532	625	697	273	463	324	423	539	662	711
	Week 14	313	546	360	377	577	535	749	348	654	411	387	529	526	503

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Clinical Chemistry:															
Alanine aminotransferase (U/L)	Week 4	43.3	39.6	40.6	41.0	38.5	56.3	31.8	42.0	29.7	40.7	43.8	39.3	60.5	37.0
	Week 14	39.8	60.2	44.6	45.8	58.0	70.8	63.8	38.5	112	37.0	44.5	48.8	79.0	45.0
Alkaline phosphatase (U/L)	Week 4	135	207	128	193	167	206	149	171	184	122	191	166	203	126
	Week 14	103	111	90.8	123	94.3	123	107	121	209	91.0	125	94.5	163	115
Albumin (g/L)	Week 4	31.0	32.8	32.4	35.5	36.3	41.0	38.6	30.8	35.0	32.7	34.3	37.3	40.8	38.7
	Week 14	33.0	35.2	35.6	35.5	37.3	37.0	39.4	33.0	41.0	34.7	34.3	39.5	39.7	33.5
Creatinine (mcmol/L)	Week 4	27.0	20.3	30.2	29.0	31.0	27.0	23.4	29.0	24.0	35.0	27.0	29.0	27.0	21.0
	Week 14	46.3	21.0	56.6	35.0	33.0	22.5	19.8	41.8	18.0	56.0	35.0	35.3	24.0	18.0
Phosphate (mmol/L)	Week 4	2.75	2.17	2.87	2.47	2.42	2.51	2.37	2.79	2.46	2.79	2.39	2.47	2.50	2.28
	Week 14	2.40	2.03	2.43	2.09	2.08	2.14	2.11	2.27	2.77	2.25	2.09	2.30	2.03	1.86
Potassium (mmol/L)	Week 4	5.06	5.27	5.69	5.42	5.74	6.08	5.89	4.81	5.26	5.60	5.46	5.94	6.14	5.92
	Week 14	4.72	5.46	5.69	4.95	5.76	5.83	5.99	4.52	5.88	5.47	4.94	5.85	5.73	5.53
Total protein (g/L)	Week 4	46.8	51.8	48.8	53.3	54.0	61.0	56.2	48.0	57.0	48.0	51.8	55.5	60.3	56.0
	Week 14	51.0	53.8	54.2	54.0	56.5	57.5	59.8	49.8	62.0	51.3	51.0	60.0	59.7	54.5
Triglycerides (mmol/L)	Week 4	0.353	0.536	0.428	0.418	0.525	0.608	0.428	0.445	0.650	0.453	0.360	0.470	0.623	0.470
	Week 14	0.445	0.884	0.474	0.440	0.808	0.843	0.778	0.423	0.870	0.400	0.480	0.798	0.660	0.930
Urea (mmol/L)	Week 4	3.15	4.66	2.80	3.03	4.30	3.68	3.62	3.33	4.77	2.50	3.78	4.75	3.83	3.87
	Week 14	3.43	2.30	3.46	3.20	3.08	1.78	1.78	3.75	2.15	3.30	3.53	3.43	1.80	1.55
Urinalysis:															
Creatinine (mmol/L)	Week 4	7.83	2.96	9.42	6.68	4.97	3.35	3.56	8.03	4.23	8.77	6.85	3.40	2.90	4.27
	Week 13	13.0	2.58	13.5	7.40	5.48	4.90	4.36	9.07	4.00	10.7	9.33	5.93	4.17	5.00
Specific gravity	Week 4	1.03	1.02	1.03	1.03	1.02	1.02	1.02	1.03	1.03	1.03	1.04	1.02	1.02	1.03
	Week 13	1.05	1.02	1.04	1.03	1.03	1.02	1.02	1.03	1.02	1.03	1.04	1.03	1.02	1.02
Protein (mg/L)	Week 4	573	180	488	368	210	90.0	102	515	127	453	665	188	92.5	130
	Week 13	370	1366	366	183	128	230	200	273	555	293	303	248	137	183
Volume (mL)	Week 4	79.5	210	98.8	124	207	196	211	67.5	227	117	75.0	221	173	189
	Week 13	87.3	156	121	142	156	106	123	227	134	139	111	119	108	93.3
Immunochemistry:															
Cardiac Troponin I (mcg/L on Day 1)															
3 hours post dose		0.034	0.048	3.52	0.125	0.167	5.58	0.154	0.029	0.057	4.76	0.375	0.389	4.38	0.065
8 hours post dose		0.048	0.075	1.61	0.077	0.192	2.25	0.065	0.034	0.067	2.07	0.155	0.286	2.06	0.030
23 hours post dose		0.018	0.025	0.085	0.026	0.036	0.130	0.024	0.020	0.026	0.141	0.044	0.066	0.127	0.015
Synacthen Test/Challenge Results:															
Cortisol levels (mcg/dL)	Week 4, pre-dose	1.27	0.130	3.41	0.130	0.130	0.130	0.130	2.32	0.130	4.10	0.130	0.130	0.130	0.130
	Week 4, postRx[f]	10X	1.75X	2.74X	3.92X	1.00X	1.27X	1.43X	5.68X	1.00X	2.23X	3.83X	2.96X	1.68X	1.98X
	Week 13, pre-dose	1.15	0.130	2.12	0.130	0.130	0.130	0.130	2.08	0.130	1.73	0.130	0.130	0.130	0.130
	Week 13, postRx[f]	14X	1.00X	4.87X	5.04X	1.00X	1.00X	1.00X	7.09X	1.00X	6.28X	1.00X	1.00X	1.00X	1.00X

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Organ Weights[g] X Control:															
Adrenal Absolute		0.846 g	0.33X	0.84X	0.46X	0.43X	0.29X	0.30X	0.781 g	0.43X	0.84X	0.41X	0.53X	0.29X	0.39X
Relative to body weight		0.0109%	0.44X	0.73X	0.42X	0.43X	0.47X	0.40X	0.0106 %	0.45X	0.82X	0.45X	0.66X	0.48X	0.59X
Liver Absolute		249 g	1.4X	1.2X	1.4X	1.5X	1.1X	1.3X	215 g	2.2X	1.1X	1.2X	1.4X	1.3X	0.96X
Relative to body weight		3.22%	1.8X	0.97X	1.2X	1.4X	1.8X	1.7X	2.93%	2.3X	1.1X	1.3X	1.6X	2.0X	1.5X
Lung															
Absolute		79.1 g	0.43X	1.1X	0.82X	0.55X	0.39X	0.40X	70.0 g	0.49X	1.0X	0.75X	0.57X	0.42X	0.41X
Relative to body weight		1.02%	0.56X	0.92X	0.74X	0.53X	0.62X	0.53X	0.957%	0.52X	1.0X	0.81X	0.66X	0.67X	0.64X
Thymus															
Absolute		12.0 g	0.21X	1.0X	0.37X	0.30X	0.18X	0.24X	11.5 g	0.24X	1.0X	0.40X	0.21X	0.15X	0.12X
Relative to body weight		0.156%	0.26X	0.87X	0.33X	0.28X	0.29X	0.32X	0.158%	0.24X	1.0X	0.43X	0.26X	0.26X	0.18X
Macroscopic Examination (Number of Animals Examined)[h]:		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Adrenal															
Small		0	4	0	2	4	4	2	0	2	0	2	4	3	3
Whole Body															
Abundant adipose tissue		0	4	0	0	4	2	4	0	2	0	0	1	1	2
Eye															
Protrusion		0	4	0	0	2	4	5	0	2	0	0	2	3	3
Unilateral opacity/depressed area		0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Gall Bladder															
Area/foci dark		0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Area raised		0	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0	2	0	1
Material dark		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	1
Thickened wall		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney															
Bilateral enlargement		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver															
Enlargement		0	4	0	0	0	3	2	0	2	0	0	0	2	1
Area pale		1	2	1	1	1	2	4	0	0	2	1	1	1	2
Lymph Node (Mesenteric)															
Dark discoloration/area		1	3	0	0	4	2	2	0	1	0	1	4	1	3
Lung															
Dark discoloration/area		0	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1	0
Area depressed/area raised		0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
Thymus															
Small		0	5	0	0	4	4	5	0	2	0	0	4	3	3

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Microscopic Examination:															
Adrenals: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Atrophy: Cortical	Moderate	0	5	0	4	4	4	3	0	2	0	4	4	3	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1
Bone (Femur): Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Atrophy: Physis hypertrophic zone															
	Minimal	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	Moderate	0	5	0	0	0	4	5	0	2	0	0	0	3	3
Decreased cancellous bone	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	Slight	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
	Moderate	0	3	0	0	0	4	4	0	2	0	0	0	3	1
Bone (Sternum): Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Atrophy: Physis hypertrophic zone															
	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Moderate	0	5	0	0	2	4	5	0	2	0	0	4	3	2
Decreased cancellous bone	Minimal	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	5	0	0	0	4	5	0	2	0	0	4	3	3
Bone Marrow (Sternum): Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Hypocellularity: Hematopoietic	Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	Slight	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Moderate	0	5	0	0	1	3	5	0	2	0	0	4	3	2
Nasal Cavity/Sinuses: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Hypertrophy: Goblet cell	Minimal	0	0	5	2	1	1	2	0	0	3	1	0	0	0
	Slight	0	5	0	2	3	3	3	0	2	0	3	4	3	3
Nasal Cavity/Sinuses (Teeth):															
Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Disorganisation/atrophy: Odontoblastic cell layer	Minimal	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	1
	Slight	0	5	0	0	0	1	4	0	2	0	0	0	3	2
Eye: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Ulceration/proliferation	Moderate	0	1[i]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infiltration: Mixed cell	Minimal	0	0	0	0	0	0	1[i]	0	1[i]	0	0	0	0	0
Gall Bladder: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Vacuolation: Epithelial	Minimal	0	2	0	1	3	3	5	0	0	0	0	4	2	2
	Slight	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Hypertrophy: Epithelial	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2
	Slight	0	0	0	0	4	0	2	0	2	0	0	0	0	1
Dilated/cystic glans	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
	Moderate	0	1	0	2	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT):															
Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Moderate	0	0	0	0	4	0	1	0	0	0	0	4	0	1
	Marked	0	5	0	0	0	4	4	0	2	0	0	0	3	2
Kidney: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Glomerulopathy	Minimal	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	1
	Slight	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Basophilia: Tubular	Minimal	1[i]	0	0	0	1[i]	1	3	0	0	0	0	1	1	1
	Slight	0	3	0	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0
	Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage: Tubular	Minimal	0	3	0	0	0	3	2	0	2	0	0	2	2	2
	Slight	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pyelitis/pyelonephritis	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0
	Moderate	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Vacuolation: Tubular	Minimal	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	1	1
	Slight	0	1	0	0	0	1	4	0	2	0	0	1	0	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Liver: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Cytoplasmic rarefaction	Minimal	0	0	4	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1
	Slight	0	1	0	1	4	1	2	0	0	0	1	3	0	0
	Moderate	0	3	0	0	0	3	3	0	1	0	0	1	3	1
	Marked	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Vacuolation biliary epithelium	Minimal	0	5	0	0	2	4	5	0	2	0	3	3	3	3
Lung: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Mineralization: Bronchiolar/alveolar															
	Minimal	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1
	Moderate	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation	Minimal	0	0	0	3	2	0	2	0	0	0	2	2	1	2
	Slight	0	1	0	0	1	3	2	0	1	0	0	0	1	1
	Moderate	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Hypertrophy: Epithelial bronchial/bronchiolar															
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	Slight	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1	0
	Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infiltration: Mononuclear cell perivascular															
	Minimal	0	1	0	0	1	1	2	0	0	0	0	2	0	0
	Slight	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Hemorrhage	Minimal	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	2	1
	Slight	0	2	0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Macrophage accumulation	Minimal	1	3	1	2	2	0	0	0	1	1	2	1	0	0
	Slight	0	1	0	0	2	4	3	0	1	0	0	3	2	3
	Moderate	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
Bronchiolar vacuolation with foamy macrophages	Minimal	0	3	0	1	1	2	3	0	0	0	1	3	0	1
	Slight	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	2	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node Mandibular: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	2	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	Slight	1	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	3	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	4	0	1	0	0	0	0	3
Lymph Node Mesenteric: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0
	Moderate	0	4	0	0	0	1	5	0	2	0	0	0	1	2
	Marked	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erythrocytosis/erythrophagocytosis															
	Minimal	2	1	0	1	0	0	1	0	0	2	3	1	0	0
	Slight	0	0	0	1	0	4	2	0	1	0	0	2	0	0
	Moderate	0	2	0	0	4	0	1	0	1	0	0	1	1	2
	Marked	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node Popliteal: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Moderate	0	4	0	0	0	1	1	0	1	0	0	2	1	1
	Marked	0	0	0	0	0	2	2	0	1	0	0	0	2	1
Lymph Node Tracheobronchial: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Moderate	0	2	0	0	0	3	5	0	1	0	0	0	2	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Infiltration: Adipocyte	Minimal	0	3	0	0	0	1	2	0	2	0	0	0	1	2
	Slight	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	1
Salivary Gland (Parotid): Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Infiltration: Adipocyte	Minimal	0	3	0	0	3	2	0	1	2	0	2	3	2	0
	Slight	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0
	Moderate	0	2	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2
Skin: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Atrophy: Epidermis and adnexa	Minimal	0	0	0	1	4	0	1	0	1	0	3	3	0	2
	Slight	0	5	0	0	0	4	4	0	1	0	0	0	3	1
Spleen: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	1	0	4	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	Moderate	0	4	0	0	0	4	5	0	2	0	0	2	3	3
Thymus: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Moderate	0	4	0	0	2	3	3	0	0	0	0	0	0	0
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3	3
	Severe	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Tonsils: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Depletion: Lymphoid	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4	0	1
	Moderate	0	5	0	0	0	4	5	0	2	0	0	0	3	2
Urinary Bladder: Number Examined[h]		4	5	5	4	4	4	5	4	2	3	4	4	3	3
Inflammation	Slight	0	0	0	0	0	1[i]	0	1	0	0	2[i]	1[j]	0	1[i]
	Moderate	0	1[i]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0

		Male							Female						
Estimated Achieved Dose[a]	**698**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**	**0**	**59.9**	**0**	**7.07**	**18.6**	**57.8**	**57.5**
(mcg/kg/day)	**444**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**	**0**	**0**	**51.6**	**8.32**	**19.1**	**62.0**	**5.38**

Key:
a = Expressed in terms of parents GW685698 (698) and/or GW6424444 (444), with estimated achieved dose - males and females combined.
b = Calculated values by dose normalizing on the individual TK sampling occasion and re-normalized with the overall estimated achieved dose for both sexes (results reported as means).
c = Animal No. 253 (59.9 mcg/kg/day GW685698) found dead during dosing on study Day 60 (animal lost consciousness and stopped breathing on the restraint platform).
Animal No. 654 (57.8/62.0 mcg/kg/day GW685698/GW642444) was euthanized in extremis on study Day 30 (prior to dosing) due to poor and/or deteriorating condition.
Animal No. 753 (57.5/5.38 mcg/kg/day GW685698/GW642444) was euthanized in extremis on study Day 91 (prior to dosing) due to poor and/or deteriorating condition.
d = At end of dosing period. For controls, group means are presented. For test article-treated groups, change from control is shown.
e = For controls, group means are presented. For test article-treated groups, change from control is shown.
f = Fold change from preRx on same occasion.
g = For controls, group means are shown for absolute and/or relative weights. For test article-treated groups, change from control is shown.
h = Data from Animal No. 253 (59.9 mcg/kg/day GW685698) and Animal No. 654 (57.8/62.0 mcg/kg/day GW685698/GW642444) excluded.
i = Unilateral.
j = Bacteria visible in association with urinary bladder inflammation.
* = $p<0.05$. ** = $p<0.01$. - = Not examined.

2.6.7.16. 局所刺激性試験

該当試験なし

2.6.7.17. その他の試験

該当試験なし