目　次

目　次 2
表 一 覧 3
略号一覧 5
1 まとめ 7
2 単回投与毒性試験 9
2.1 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（用量漸増投与試験相） 9
2.2 サルを用いた経口投与による用量漸増投与試験 10
3 反復投与毒性試験 11
3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験 11
3.1.1 雄ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 11
3.1.2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 12
3.1.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 14
3.1.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 27 週間回復性試験 16
3.2 イヌを用いた反復投与毒性試験 18
3.2.1 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 18
3.2.2 イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 19
3.2.3 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 22
3.2.4 イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 27 週間回復性試験 24
4 遺伝毒性試験 28
4.1 細菌を用いた *in vitro* 変異原性試験 28
4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（Miniscreen Ames test） 28
4.1.2 細菌を用いた復帰突然変異試験 28
4.2 哺乳類細胞を用いた *in vitro* 変異原性試験 28
4.2.1 TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験 28
4.2.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験 29
4.3 ラットを用いた *in vivo* 小核試験 29
5 がん原性試験 30
5.1 長期がん原性試験 30
5.1.1 ラットを用いた 104 週間がん原性試験 30
5.2 短・中期がん原性試験 32
5.2.1 野生型 rasH2 マウスを用いた最大耐量に関する試験 32
5.2.2 野生型 rasH2 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験 32
5.2.3 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験 33
6 生殖発生毒性試験 34
6.1 受胎能試験 34
6.1.1 雄ラットを用いた経口投与による授胎能試験 34

6.1.2 雌ラットを用いた経口投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験 35
6.2 胚・胎児発生に関する試験 36
6.2.1 ラットを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験 36
6.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験 37
6.3 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 39
6.4 幼若イヌを用いた毒性試験 40
6.4.1 幼若イヌを用いた 8 週間反復投与用量設定試験 40
6.4.2 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験及び 27 週間回復性試験 41
7 局所刺激性試験 44
8 その他の毒性試験 44
8.1 光毒性 44
8.1.1 3T3 細胞を用いた光毒性試験 44
8.1.2 マウスを用いた紫外線照射局所リンパ節アッセイ 45
8.2 免疫毒性試験 46
8.3 毒性発現機序検討試験 47
8.3.1 ラット及びイヌの精細管を用いた *ex vivo* 精巣毒性試験 47
8.3.2 アンドロゲン受容体及び甲状腺ホルモン受容体のレポーター活性に関する *in vitro* 試験 48
8.3.3 精子形成におけるヒストンリジン脱メチル化酵素阻害作用に関する *in vitro* 試験 48
8.3.4 甲状腺ペルオキシダーゼ活性に関する *in vitro* 試験 49
8.3.5 イヌ及びヒト骨髄由来の幹細胞及び前駆細胞における血液毒性に関する *in vitro* 試験 49
8.3.6 FB ノックアウトマウスにおける表現型検討 50
8.4 依存性 51
8.5 代謝物の毒性試験 51
8.6 不純物の毒性試験 51
8.7 労働衛生に関連した試験 54
9 考察及び結論 55
10 参考文献 63

表 一 覧

Table 1-1 毒性試験一覧 7
Table 2-1 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（用量漸増投与試験相）における平均 TK パラメータ 10

Table 2-2 サルを用いた用量漸増投与試験における平均 TK パラメータ 11
Table 3-1 雄ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ 12
Table 3-2 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ 14
Table 3-3 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ 15
Table 3-4 ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ 17
Table 3-5 イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ 19
Table 3-6 イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ 21
Table 3-7 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ 24
Table 3-8 イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ 27
Table 5-1 ラットを用いたがん原性試験の平均 TK パラメータ 31
Table 5-2 トランスジェニックマウスを用いたがん原性試験の平均 TK パラメータ 34
Table 6-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の平均 TK パラメータ 37
Table 6-2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験の平均 TK パラメータ 38
Table 6-3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の平均 TK パラメータ 39
Table 6-4 幼若イヌを用いた用量設定試験の平均 TK パラメータ 41
Table 6-5 幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ 43
Table 8-1 UV-LLNA アッセイの血漿中平均 TK パラメータ 46
Table 8-2 UV-LLNA アッセイの皮膚組織中及び血漿中 LNP023 濃度の比較.....46
Table 8-3 原薬及び製剤中の不純物の規格値.....53
Table 8-4 不純物の毒性試験における用量及び推定ヒト最大用量.....53
Table 9-1 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における総曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較.....60
Table 9-2 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における非結合型曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較.....62

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT（GPT）	alanine aminotransferase（glutamic pyruvate transaminase）	アラニンアミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ）
AP	alternative (complement) pathway	（補体）第二経路
AR	androgen receptor	アンドロゲン受容体
AST（GOT）	apartate aminotransferase（gutamic oxaloacetic tansaminase）	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ）
AUC0-t	area under the drug plasma concentration-time curve	血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
b.i.d.	twice daily (from Latin: ‘bis in die’)	1 日 2 回
CK	creatine kinase	クレアチンキナーゼ
Cmax	maximal drug plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
cTnI	cardiac Troponin I	心筋トロポニン I
EU	European Union	欧州連合
FB	complement factor B	補体 B 因子
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FSH	follicle stimulating hormone	卵胞刺激ホルモン
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
KLH	keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LH	luteinizing hormone	黄体形成ホルモン
LOAEL	lowest observed adverse effect level	最小毒性量
M / E	myeloid to erythroid	顆粒球／赤芽球
MAD	mutual acceptance of data	データ相互受け入れ制度
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NT-proANP	N-terminal pro a-type natriuretic peptide	N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド
NT-proBNP	N-terminal pro b-type natriuretic peptide	N 末端プロ脳性ナトリウム利尿ペプチド
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
P-BFU	progenitor cell burst forming unit	赤血球前駆細胞バースト形成細胞
P-GM	progenitor granulocyte and macrophage	顆粒球・マクロファージ前駆細胞
PIF	photo irritation factor	光毒性係数
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症
QTc	QT interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
(Q)SAR	(quantitative) structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
SC-GEMM	stem cell- granulocyte, erythroid, macrophage, megakaryocyte	顆粒球・赤血球・マクロファージ・巨核球系幹細胞
T3	triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T4	thyroxine	サイロキシン

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体産生試験
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TPO	thyroid peroxidase	甲状腺ペルオキシダーゼ
TSH	thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
Tmax	time to reach the maximum drug plasma concentration following drug administration	最高血漿中薬物濃度到達時間
UV-LLNA	ultraviolet-local lymph node assay	紫外線照射局所リンパ節アッセイ
UVA	ultraviolet A	紫外線 A
UVB	ultraviolet B	紫外線 B
Ugt2b1	UDP glucuronosyltransferase 2 family polypeptide B1	UDP グルクロン酸転移酵素 2 ファミリー・ポリペプチド B1

1 まとめ

イプタコパン（LNP023）は，補体第二経路（AP）の主要なプロテアーゼである補体 B 因子（FB）を標的とする低分子阻害剤であり，発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）を適応症として，予定臨床用量を 200 mg，1 日 2 回（b.i.d.）経口投与として開発中である。

LNP023 の非臨床安全性評価を目的として，単回投与毒性（用量漸増）試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，幼若動物を用いた毒性試験，光毒性試験，及び毒性発現機序検討試験を実施した（Table 1-1）。主要な毒性試験は ICH M3 ガイドライン及び非臨床安全性に関する ICH ガイドラインに準拠して実施した。用量漸増試験，短期反復投与試験，及び毒性発現機序検討試験を除き，すべての重要な毒性試験は欧州連合（EU）加盟国，経済協力開発機構（OECD）加盟国，又はデータ相互受け入れ制度参加国（MAD）の GLP 適合受託研究機関の試験施設で GLP 基準を遵守して実施した。

毒性試験では塩酸塩を供試し，すべて遊離塩基による用量を示した。遊離塩基から塩酸塩への換算には，換算係数：1.086（開発初期バッチでは 1.070）を使用する。

供試動物として，*in vitro* 試験でヒトと同様の FB 阻害作用が認められたマウス，ラット，イヌ，ウサギ，及びカニクイザルを選択した[2.6.2-2.1 項]。反復投与毒性試験に供試したラット及びイヌでは，代謝物はヒトと類似しており，毒性評価に十分な曝露が認められた[2.6.4-5 項]。毒性試験における標的阻害作用について，ラットを用いた 13 及び 26 週間反復投与毒性試験，イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験，並びに幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験の試料を使用して確認した[2.6.2-2.4.1 項]。

Table 1-1 毒性試験一覧

試験の種類・投与期間		投与経路	試験系
単回投与毒性	用量漸増	経口	イヌ
	用量漸増	経口	カニクイザル
反復投与毒性	2 週間	経口	ラット，イヌ
	4 週間	経口	ラット，イヌ
	13 週間	経口	ラット，イヌ
	26 週間	経口	ラット
	39 週間	経口	イヌ
遺伝毒性		*in vitro*	細菌，哺乳類細胞
		経口	ラット
がん原性	26 週間	経口	マウス（rasH2 トランスジェニック）
	104 週間	経口	ラット
生殖発生毒性	FEED	経口	ラット
	EFD	経口	ラット，ウサギ
	PPND	経口	ラット

試験の種類・投与期間		投与経路	試験系
幼若動物を用いた試験	8 週間	経口	イヌ
	52 週間	経口	イヌ
その他の毒性試験			
光毒性		*in vitro*	BALB/c マウス 3T3 線維芽細胞株
		経口	マウス
毒性発現機序検討			
精巣毒性評価		*ex vivo*	ラット，イヌ
アンドロゲン受容体，甲状腺ホルモン受容体に対する作用検討		*in vitro*	ヒト
精巣毒性におけるオフターゲット作用検討		*in vitro*	ヒト
甲状腺ペルオキシダーゼ活性に対する作用検討		*in vitro*	イヌ
血液毒性評価		*in vitro*	イヌ，ヒト

FEED = 受胎能及び初期胚発生，EFD = 胚・胎児発生，PPND = 出生前及び出生後の発生

一般毒性については，ラット（26 週間まで）及びイヌ（39 週間まで）を用いた反復投与毒性試験により評価した。

長期反復投与毒性試験における主な毒性標的器官として，ラット及びイヌで甲状腺及び精巣，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の雄 1 例では骨髄が特定された。さらに，イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験の高用量（300 mg/kg/日以上）群では，持続性頻脈の二次的変化と考えられる心臓の限局性心筋細胞変性／線維化が認められた。

甲状腺の変化として，ラット及びイヌで甲状腺重量の高値を伴う濾胞細胞肥大が認められた。甲状腺ホルモンの変動は軽微で一過性であることから，代償性機序による可能性が示唆された。甲状腺の変化は，長期投与により重症化せず，休薬による回復性がみられ，甲状腺機能低下又は亢進を示唆する一般状態の変化は認められなかった。したがって，長期反復投与毒性試験で認められた甲状腺の変化は毒性ではないと判断した。

ラット及びイヌで，雄性生殖器（精巣，精巣上体，及び前立腺）重量の変化を伴う精巣の精細管変性がみられ，一部の試験では下垂体-精巣軸に関連するホルモンの軽微な変化が認められた。ラット及びイヌの初代培養精細管モデルを用いた *ex vivo* 毒性発現機序検討試験の結果から，これらの変化はセルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達が関与する精子形成過程に対する LNP023 の直接作用である可能性が考えられた。ラット及びイヌを用いた毒性試験における精子検査パラメータ（精子の形態，運動性，及び精子数）に明らかな影響はみられず，ラットを用いた雄授胎能試験では異常は認められなかった。これらの変化については，ラットでは 8 週間，イヌでは 27 週間の休薬により完全な回復が認められた。

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の 150 mg/kg/日群の雄 1 例で，骨髄毒性がみられた。39 週間の投与期間終了時に中等度の低再生性貧血が認められ，回復性試験終了時に重度の非再生性

貧血への進行が確認された。病理組織学的検査における主な変化は重度の骨髄線維化であり，骨髄塗抹標本検査では赤血球形成異常が示唆された。雄 1 例でみられた変化であるが，変化の重症度，非可逆性，及び性特異的変化ではない可能性を考慮して，39 週間反復投与毒性試験におけるこの変化に対する無毒性量は雌雄で 30 mg/kg/日と判断した。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，LNP023 の変異原性及び染色体異常誘発性は認められなかった。rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験及びラットを用いた 104 週間がん原性試験では，がん原性を示唆する変化は認められなかった。

雄ラットを用いた授胎能試験では，交尾能，授胎能，及び生殖能力への影響はみられず，精巣及び精巣上体の病理組織学的検査，並びに精子検査に対する影響も認められなかった。雌ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験では，1000 mg/kg/日群で着床前及び着床後胚死亡率の増加が認められ，雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，胎児に毒性変化はみられなかった。ウサギでは，450 mg/kg/日群の母動物で体重増加量及び摂餌量の低値がみられ，無毒性量は 250 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では，母動物及び出生児に毒性変化は認められなかった。

幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験を実施した結果，幼若イヌと成熟イヌにおける毒性及びトキシコキネティクス（TK）プロファイルは概ね類似していたが，30 mg/kg/日以上の群で心臓重量の高値及び大動脈鉱質沈着が認められた。これらの幼若イヌにおける心血管系の変化は，成熟イヌと比較して幼若イヌでは LNP023 の心血管系及び血行動態への作用に対する感受性が高く，この作用の持続により発現したものと推察され，ヒト成人患者における臨床的意義はないと考えられた。

光毒性試験では，LNP023 の軽度の光毒性リスクが示唆された。

以上のことから，本概要に示す非臨床安全性試験の成績は，PNH の治療のために LNP023 を予定臨床用量（200 mg b.i.d.）で患者に長期経口投与することを支持するものと考える。

2 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施していないが，急性毒性についてはイヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験における用量漸増投与試験相及びサルを用いた用量漸増投与試験の成績から評価した。

2.1 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（用量漸増投与試験相）

本試験[Table 2.6.7.6-1470220]には用量漸増投与試験相及び反復投与毒性試験相を設定し，LNP023 の急性毒性又は反復投与毒性，並びに TK プロファイルの検討を目的として，GLP 非適用で実施した。本項では急性毒性の評価として用量漸増投与試験相の結果のみを記載する。雄 3

例のビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 50，100，300，600，及び 1000 mg/kg の用量で，Day 1，4，8，11，及び 15 にそれぞれ単回経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡はみられず，すべての用量で概ね良好な忍容性が認められた。一般状態の変化として，300 mg/kg 以上の用量で嘔吐，600 mg/kg 以上で流涎がいずれも用量依存的に認められた。体重及び摂餌量に LNP023 投与の影響はみられず，眼科学的検査及び血液学的検査で異常は認められなかった。心電図検査では，100 mg/kg 以上の用量で心拍数の用量依存的な増加がみられ，300 mg/kg 以上で顕著であった。いずれの群においても QRS，PR，及び QT 間隔に対する直接の影響は認められなかった。血液凝固系検査では，1000 mg/kg の用量で全例にフィブリノゲンの増加が認められ，炎症が示唆された。血液生化学的検査では，1000 mg/kg の用量の雄 1 例で，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アルカリホスファターゼ（ALP），及び総ビリルビンの増加が認められた。同個体ではクレアチンキナーゼ（CK）の増加がみられ，心拍数の増加を考慮すると横紋筋（心筋）の変化に由来するものと推察された。

本試験における平均 TK パラメータを Table 2-1 に示す。

以上の結果から，本試験の反復投与毒性試験相には 100，300，及び 1000 mg/kg/日を設定することが推奨された。本試験における概略の致死量は 1000 mg/kg 超と考えられた。

Table 2-1　イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（用量漸増投与試験相）における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)	検査日	動物数	AUC0-24h (ng.h/mL)		Cmax (ng/mL)	
			平均	S.D.	平均	S.D.
50	1	3	228513	1524	28000	1860
100	4	3	586110	36161	73900	3610
300	8	3	2123267	64168	154000	21100
600	11	3	2651050	925357	205000	43000
1000	15	3	3937300	818030	267000	29000

Source: Table 2.6.7.6-1470220

S.D. = 標準偏差

2.2　サルを用いた経口投与による用量漸増投与試験

本試験[Table 2.6.7.5-1370389]は，LNP023 の毒性及び TK プロファイル，並びに心電図及び心拍数に対する影響を検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。雄 3 例のカニクイザルに 0.5% w/v methylcellulose + 0.5% v/v Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 10，50，100，300，及び 600 mg/kg の用量で，Day 1，8，12，15，及び 20 にそれぞれ単回経口投与し，観察終了後は病理学的検査を実施せずに Day 21 に飼育コロニーに返却した。本試験では，一般状態観察，体

重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，心電図検査（ジャケット式テレメトリー），及び TK 試験を実施した。

本試験で死亡はみられず，一般状態，体重，及び摂餌量に LNP023 投与に関連した影響は認められなかった。血液学的検査では，10 mg/kg 以上の用量で好中球数の増加，リンパ球数及び好酸球数の減少がみられた。これらの変化に用量依存性は認められなかった。血液生化学的検査では，600 mg/kg の用量でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及び AST の上昇，並びに総ビリルビンの増加が認められた。心電図検査では，300 mg/kg 以上の用量で心拍数補正 QT（QTc）間隔の用量依存的な延長が認められた。

本試験における平均 TK パラメータを Table 2-2 に示す。

以上のとおり，サルに LNP023 を 600 mg/kg までの用量で単回投与したときの忍容性は良好であった。しかしながら，300 mg/kg 以上の用量で QTc 間隔の延長が認められた。本試験における概略の致死量は 600 mg/kg 超と考えられた。

Table 2-2　　サルを用いた用量漸増投与試験における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg)	検査日	AUC0-24h (ng.h/mL)		Cmax (ng/mL)		Tmax (h)
		平均	S.D.	平均	S.D.	平均
10	1	25700	1930	2490	593	1.00
50	8	127000	29500	18600	8260	0.667
100	12	326000	64800	35600	5880	3.00
300	15	1270000	105000	88800	9820	6.00
600	20	1680000	346000	138000	28700	5.00

Source: Table 2.6.7.5-1370389
S.D. = 標準偏差

3　反復投与毒性試験

3.1　ラットを用いた反復投与毒性試験

3.1.1　雄ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験

本試験[Table 2.6.7.6-1370303]は，LNP023 の反復投与毒性及び TK プロファイルの検討を目的として，GLP 非適用で実施した。1 群雄 5 例，計 4 群のラットに 0.5% w/v methylcellulose + 0.5% v/v Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，2 週間反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡・瀕死動物は認められなかった。一般状態の変化として，1000 mg/kg/日群の 1 例に紅涙，2 例にラッセル音がいずれも一過性にみられたが，LNP023 投与との関連性は不明で

あった。体重及び摂餌量に LNP023 投与の影響は認められなかった。血液学的検査では，対照群と比較して，100 mg/kg/日以上の群で好中球数の高値が認められた。血液生化学的検査では異常は認められなかった。

器官重量の変化として，1000 mg/kg/日群で甲状腺重量の高値がみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。剖検及び病理組織学的検査では，LNP023 投与に関連した異常は認められなかった。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 3-1）。

以上のとおり，雄ラットに LNP023 を 1000 mg/kg までの用量で 2 週間反復投与したときの忍容性は良好であった。すべての LNP023 投与群で軽微な好中球数の高値が，1000 mg/kg/日投与群で甲状腺重量の高値が認められたが，いずれの変化も毒性と判断せず，無毒性量は 1000 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-1　　雄ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	1	52700	11000	0.5
	14	59000	12300	0.5
300	1	235000	37500	0.5
	14	181000	29900	0.5
1000	1	591000	46500	3
	14	653000	83800	1

Source: Table 2.6.7.6-1370303

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

本試験[Table 2.6.7.7A-1470568]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 10 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラット［Crl:WI(Han)］に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% v/v Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，4 週間反復経口投与した。さらに，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 6 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 4 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，甲状腺ホルモン測定［トリヨードサイロニン（T3），サイロキシン（T4），甲状腺刺激ホルモン（TSH）］，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，走査電子顕微鏡検査（一部の雌の腎臓），及び TK 試験を実施した。また，肝臓における遺伝子発現解析を実施した[2.6.7.7A-DIS-R1470568]。本試験には *in vivo* 小核試験を組み入れ，投与期間終了時に小核試験用血液試料を採取し，1 群雌雄各 6 例の試料を用いて LNP023 の小核誘発性について検討した。

本試験では LNP023 投与に関連した死亡・瀕死例はみられず，一般状態，体重，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，剖検，及び小核誘発性に LNP023 投与の影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群で Day 8 に摂餌量の低値が一過性に認められた。血液生化学的検査では，100 mg/kg/日以上の群で総ビリルビン及び直接ビリルビンの高値が認められた。他のパラメータに統計学的に有意な変化がみられたが，軽微な変化であり用量関連性が認められないことから，生理学的範囲内の変動と考えられた。尿検査では，300 mg/kg/日群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌雄で蛋白尿が認められた。甲状腺ホルモン測定では，1000 mg/kg/日群の雌 1 例で TSH の高値（対照群の 4.5 倍）が認められたが，T3 及び T4 の変化はみられなかった。

剖検で異常は認められなかった。器官重量の変化として，100 mg/kg/日以上の群の雌で甲状腺重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，1000 mg/kg/日群の雌 2 例の甲状腺で軽微から軽度の濾胞細胞肥大が認められた。1000 mg/kg/日群の雌雄で炎症性細胞浸潤を伴うハーダー腺の変性／再生性変化の重症度及び発現頻度の増加が認められた。対照群の雌 2 例及び 1000 mg/kg/日群の雌 4 例（蛋白尿が認められた個体）の腎臓（糸球体，近位尿細管）の電子顕微鏡検査では，対照群と比較して 1000 mg/kg/日群の腎臓に形態学的異常は認められなかった。

甲状腺で変化がみられたことから，遺伝子発現解析により肝臓における抱合及び排泄に関与する UDP グルクロン酸転移酵素 2 ファミリー・ポリペプチド B1（*Ugt2b1*）の誘導について検討した。ラットでは，甲状腺ホルモンクリアランスの亢進が視床下部-下垂体-甲状腺軸における負のフィードバックを介して TSH の上昇を誘導し，甲状腺濾胞細胞肥大が発現すると考えられている（McClain 1989，McClain et al. 1989，Ennulat et al. 2010）。遺伝子発現解析の結果，異物代謝のすべての相に関与する *Ugt2b1* 等の遺伝子の用量依存的発現がみられた。しかしながら，甲状腺濾胞細胞肥大が認められた 1000 mg/kg/日群の雌 2 例では *Ugt2b1* 誘導はみられず，甲状腺濾胞細胞肥大と *Ugt2b1* 発現との関連性はないものと考えられた。

投与期間終了時にみられた変化については，いずれも休薬による回復又は回復傾向が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 3-2）。

以上のとおり，LNP023 を 1000 mg/kg/日までの用量でラットに 4 週間反復経口投与した結果，良好な忍容性が認められた。100 mg/kg/日以上の群でビリルビンの高値がみられ，300 mg/kg/日以上の群で蛋白尿が認められた。1000 mg/kg/日群でみられたハーダー腺（変性／再生性変化及び炎症性細胞浸潤）及び甲状腺（濾胞細胞肥大，TSH 上昇を伴う）の病理組織学的変化は毒性と判断し，本試験の無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-2 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	1	雄	52000	11100	1.0
		雌	57100	22100	0.5
		雌雄平均	54600	16600	0.75
	28	雄	61000	13200	1.0
		雌	55600	19000	0.5
		雌雄平均	58300	16100	0.75
300	1	雄	189000	31500	0.5
		雌	166000	35500	0.5
		雌雄平均	177500	33500	0.5
	28	雄	170000	31300	0.5
		雌	186000	36000	1.0
		雌雄平均	178000	33650	0.75
1000	1	雄	614000	42900	1.0
		雌	599000	85100	1.0
		雌雄平均	606500	64000	1.0
	28	雄	952000	67100	7.0
		雌	802000	90100	1.0
		雌雄平均	877000	78600	4.0

Source: Table 2.6.7.7A-1470568

3.1.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7B-1570195]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 10 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラット［Crl:WI(Han)］に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），50，150，及び 500 mg/kg/日の用量で，13 週間反復経口投与した。さらに，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 5 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 8 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，甲状腺ホルモン測定（T3，T4，TSH），剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，精子検査（高用量群），及び TK 試験を実施した。

本試験では LNP023 投与に関連した死亡・瀕死例はみられなかった。対照群及び 150 mg/kg/日群の各雌 1 例が投与過誤により死亡した。生存例の一般状態の変化として，500 mg/kg/日群で投与前及び投与 2 時間後に流涎が散見された。体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，尿検査に LNP023 投与の影響は認められなかった。血液生化学的検査では，150 mg/kg/日以上の群の雌でアルブミン，総蛋白，及びトリグリセリドの低値，コレステロールの高値が認められた。これらの変化に用量依存性はみられず，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，LNP023 の毒性ではないと考えられた。甲状腺ホルモン測定では，すべての LNP023 投与群で T3 及び T4 の高値がみられた。50 及び 150 mg/kg/日群でみられた T3 及び T4 の高値に関して，関連する病理組織学的変化は認められず，毒性学的意義は不明であった。

剖検では LNP023 投与に関連した異常は認められなかった。器官重量の変化として，すべての LNP023 投与群の雄で前立腺重量の高値，500 mg/kg/日群の雄で甲状腺重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，500 mg/kg/日群で甲状腺の濾胞細胞の肥大，雄 1 例の精巣で軽微な精細管変性が認められた。精子検査では，試験施設の背景値との比較により，総精子数，精子運動率，精子速度，及び異常精子数の変動が認められた。いずれの変化も低頻度の非特異的変化であり，偶発的変化の可能性が考えられたが，LNP023 投与との関連性は否定できなかった。

前立腺重量の高値を除いて，投与期間終了時にみられた変化については休薬による回復性が認められた。前立腺重量の変化については，関連する病理組織学的変化がみられないことから毒性学的意義は不明であった。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 3-3）。

以上のとおり，LNP023 を 50，150，及び 500 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与した結果，概ね良好な忍容性が認められた。500 mg/kg/日群では甲状腺の濾胞細胞の肥大がみられ，甲状腺重量の高値及び甲状腺ホルモンの変化を伴っていた。しかしながら，軽度の病理組織学的変化であり，回復期間終了時の器官重量及び病理組織学的検査で影響が認められなかったことから，毒性ではないと判断した。500 mg/kg/日群の精巣に変化がみられたことから，本試験の無毒性量は雄で 150 mg/kg/日，雌で 500 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-3　　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
50	1	雄	20600	3490	1.0
		雌	24400	4860	0.5
		雌雄平均	22500	4175	0.75
	87	雄	26000	5110	0.5
		雌	22300	4750	0.5
		雌雄平均	24150	4930	0.5
150	1	雄	68700	12800	1.0
		雌	57000	12000	0.5
		雌雄平均	62850	12400	0.75
	87	雄	69500	15700	0.5
		雌	49700	12100	1.0
		雌雄平均	59600	13900	0.75

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
500	1	雄	222000	27500	0.5
		雌	298000	41600	1.0
		雌雄平均	260000	34550	0.75
	87	雄	249000	32400	3.0
		雌	181000	29800	1.0
		雌雄平均	215000	31100	2.0

Source: Table 2.6.7.7B-1570195

3.1.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 27 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7C-1570193]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 20 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラット［Crl:WI(Han)］に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），50，150，及び 750 mg/kg/日の用量で，26 週間反復経口投与した。さらに，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 10 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 27 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，ホルモン測定，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，精子検査，及び TK 試験を実施した。

本試験では，LNP023 投与に関連した死亡・瀕死例は認められなかった。投与期間中又は回復性試験中に 750 mg/kg/日群の雌雄各 2 例，150 mg/kg/日群の雄 2 例，50 mg/kg/日群の雌 1 例，及び対照群の雄 1 例の死亡・瀕死が認められた。LNP023 投与に関連した死因が特定されなかったことから，いずれも偶発的死亡又は瀕死と考えられた。死亡又は安楽死処分した 3 例に呼吸系の一般状態の変化がみられ，病理組織学的検査で鼻腔の炎症が認められたことから，死亡・瀕死の原因として投与に関連した逆流が考えられた。生存例の一般状態の変化として，750 mg/kg/日群で流涎が認められた。50 mg/kg/日以上の群の雄で体重増加量の低値，雌で体重増加量の高値が認められた。750 mg/kg/日群の雌で摂餌量の高値が認められた。

眼科学的検査，血液学的検査，及び血液凝固系検査で異常は認められなかった。血液生化学的検査では，750 mg/kg/日群で ALP 及び総ビリルビンの高値が認められた。尿検査では，50 mg/kg/日以上の群で尿蛋白陽性，150 mg/kg/日以上の群の雄及び 750 mg/kg/日群の雌でクレアチニンの低値が認められた。ホルモン測定では，750 mg/kg/日群の雄で T3 及び T4 の高値，雌で T3，T4，及び TSH の高値が認められた。卵胞刺激ホルモン（FSH），黄体形成ホルモン（LH），テストステロン，及びアンドロステンジオン濃度に LNP023 投与の影響はみられなかった。

精子検査では，総精子数，精子運動率，精子速度，及び異常精子数の変動がみられたが，LNP023 投与に関連した影響は認められなかった。

剖検では，750 mg/kg/日群の雄 2 例で甲状腺の大型化がみられ，器官重量の変化として，すべての LNP023 投与群で甲状腺／上皮小体重量の高値，雄で精巣重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，150 mg/kg/日以上の群で甲状腺濾胞細胞肥大の重症度及び発現頻度の増加が認められた。H&E 染色では前立腺に異常はみられなかったが，Ki67 染色では 750 mg/kg/日群の雄で Ki67 陽性上皮細胞の増加が認められた。

回復性試験終了時には，いずれの変化においても休薬による回復性が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 3-4）。

以上のとおり，ラットに LNP023 を 50，150，及び 750 mg/kg/日の用量で 26 週間反復経口投与した結果，概ね良好な忍容性が認められた。50 mg/kg/日以上の群で甲状腺／上皮小体重量の高値が，150 mg/kg/日以上の群では甲状腺濾胞細胞肥大が認められた。前立腺の変化として，750 mg/kg/日群の雄で Ki67 陽性上皮細胞の増加が認められた。すべての LNP023 投与群で精巣重量の高値がみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。いずれの変化においても休薬による回復性が認められたことから毒性変化ではないと判断し，本試験の無毒性量は 750 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-4　　ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
50	1	雄	24400	4180	0.5
		雌	24400	4550	0.5
		雌雄平均	24400	4360	0.5
	152	雄	45700	7210	0.542 [a]
		雌	30900	5870	0.575 [a]
		雌雄平均	38300	6540	0.558 [a]
150	1	雄	99900	13600	0.5
		雌	69000	22700	0.5
		雌雄平均	85200	18200	0.5
	152	雄	101000	35500	0.542 [a]
		雌	99300	26500	1
		雌雄平均	100000	29000	0.542 [a]
750	1	雄	461000	47900	3
		雌	534000	55000	0.5
		雌雄平均	497000	48600	3
	152	雄	295000	63900	3
		雌	369000	65200	3
		雌雄平均	332000	64500	3

Source: Table 2.6.7.7C-1570193

a = 測定値

3.2 イヌを用いた反復投与毒性試験

3.2.1 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験

本試験[Table 2.6.7.6-1470220]は，LNP023 の急性毒性又は反復投与毒性，並びに TK プロファイルの検討を目的として，GLP 非適用で実施した。本試験では，用量漸増投与試験相及び反復投与毒性試験相を実施したが，本項では反復投与毒性試験相の結果のみを記載する。1 群雄 3 例（高用量群は 2 例），計 4 群のビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，2 週間反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査（ジャケット式テレメトリー），血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。さらに，幼若イヌを用いた毒性試験でみられた変化に関する検討の一環として，100 及び 300 mg/kg/日群の心尖部組織試料を用いて遺伝子発現解析を実施した[Table 2.6.7.6-DIS-R1470220]。

本試験では，1000 mg/kg/日群の 1 例が Day 14 に死亡した。一般状態の変化として，投与期間中に流涎及び嘔吐，Day 9 から鎮静・動作緩慢，Day 10 から頭部反転動作，失調性歩行，及び半眼，Day 14 に痙攣が認められた。Day 14 の心電図検査では，心拍数増加，QRS，QT 及び QTc 間隔延長が認められた。剖検では，消化管の赤色／変色，胆嚢拡張，膵臓暗色化，膀胱表面粘膜の赤色化・肥厚が認められた。病理組織学的検査では，食道，胃，十二指腸，空腸，及び回腸で炎症又はびらん／潰瘍，心臓で心筋変性，腎臓で尿細管の変性／再生性変化，甲状腺で濾胞細胞肥大，及び肝臓で肝細胞空胞化が認められた。死亡原因は特定できなかったが，LNP023 投与に関連したものと考えられた。その他の変化として，副腎で空胞化減少，胸腺でリンパ萎縮，脾臓，腸間膜及び下顎リンパ節，並びにパイエル版で低細胞性，膵臓で脱顆粒がみられ，いずれも死線期又はストレスに関連した変化と考えられた。

生存例の一般状態の変化として，300 mg/kg/日以上の群で流涎及び嘔吐，Day 3 に振戦及び頭部攣縮，1000 mg/kg/日群で Day 9 から鎮静・動作緩慢が認められた。1000 mg/kg/日群では体重及び摂餌量の減少が認められた。眼科学的検査で異常は認められなかった。心電図検査では，Day 3 及び 13 のいずれの測定日においても 300 mg/kg/日以上の群で心拍数増加が認められた。血液学的検査では，300 mg/kg/日以上の群で網状赤血球数及び平均赤血球容積（MCV）の低値，1000 mg/kg/日群で好中球数及びリンパ球数の低値がみられた。血液凝固系検査では，1000 mg/kg/日群でフィブリノゲンの高値が認められた。血液生化学的検査では，1000 mg/kg/日群で ALT，AST，ALP，総ビリルビン，CK，クレアチニン，尿素，マグネシウム，リン，及び重炭酸塩の高値，ナトリウム，クロール，カリウム，アルブミン，総蛋白，及びカルシウムの低値が認められた。

剖検で異常は認められなかった。器官重量の変化として，すべての LNP023 投与群で脾臓重量の低値，1000 mg/kg/日群で甲状腺／上皮小体重量の低値が認められた。病理組織学的検査では，300 mg/kg 以上の群で甲状腺の濾胞細胞肥大が認められた。

遺伝子発現解析の結果，100 mg/kg/日以上の群で心臓における用量依存的な遺伝子発現の調節が認められた。100 mg/kg/日群で心筋細胞のアドレナリン及びカルシウム関連シグナル伝達系，心筋細胞の脂肪酸酸化，心臓ペーシング，心臓肥大／リモデリング，GPCR: cAMP/cGMP/MAPK/AMPK 経路，及び RAS/PI3K/AKT 経路に関わる遺伝子シグネチャーのダウンレギュレーションがみられたが，300 mg/kg/日群ではアップレギュレーションが認められた。100 mg/kg/日以上の群で血圧調節及びリラキシン経路に関わる遺伝子シグネチャー，並びに適応性変化関連遺伝子（心臓線維化／修復，虚血／低酸素，及び血管新生遺伝子シグネチャー）の用量依存的なアップレギュレーションが認められた。100 mg/kg/日以上の群で心筋細胞の収縮及び甲状腺ホルモンシグナル伝達経路に関わる遺伝子シグネチャーのダウンレギュレーションが認められた。100 mg/kg/日群の転写調節パターンは適応性反応を示唆するものであったが，300 mg/kg/日群では適応性反応は示唆されなかった。本試験の高用量（1000 mg/kg/日）群及び 4 週間反復投与毒性試験（3.2.2 項）の高用量（300 mg/kg/日）群では持続性の頻脈及び心筋細胞変性がみられており，転写調節パターンとの関連が推察された。

TK 試験では，LNP023 投与群のすべての動物で曝露が確認された（Table 3-5）。Day 15 に採取したすべての脳脊髄液及び脳組織試料中に LNP023 が検出された。死亡例 1 例の脳組織では特に高い曝露が認められ，一般状態悪化との関連が考えられた。

以上のことから，本試験における無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられ，反復投与毒性試験の高用量として推奨された。

Table 3-5　　イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	動物数	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	1	3	558000	68700	3.00
	14	3	561000	84700	1.00
300	1	3	2020000	146000	3.00
	14	3	2280000	200000	3.00
1000	1	2	2370000	189000	3.00
	14	1	5600000	349000	3.00

Source: Table 2.6.7.6-1470220

3.2.2　　イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7D-1470567]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 3 例，計 4 群のビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% v/v Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），15，50，及び 300 mg/kg/日の用量で，4 週間反復経口投与した。さらに，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 4 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検

査，甲状腺ホルモン測定（T3，T4，TSH），心臓バイオマーカー測定（Troponin I，NT-proANP，NT-proBNP），剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。さらに，幼若イヌを用いた毒性試験でみられた変化に関する検討の一環として，対照群を含むすべての投与群の心尖部組織試料を用いて遺伝子発現解析を実施した[Table 2.6.7.7D-DIS-R1470567c]。また，甲状腺でみられた変化についての探索的検討として，甲状腺及び肝臓試料を用いた遺伝子発現解析を実施した[Table 2.6.7.7D-DIS-R1470567]。

本試験では死亡・瀕死例はみられず，LNP023 投与に関連した一般状態の変化も認められなかった。体重の変化として，Day 8 に 300 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 2 例に体重減少がみられたため，体重が回復するまで高用量群のすべての動物に補助食を供与した。投与期間終了時の体重に LNP023 投与の影響はみられなかった。摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，及び尿検査で LNP023 投与に関連した異常は認められなかった。心電図検査では，心拍数増加が Week 1 にすべての LNP023 投与群でみられたが，Week 4 には 300 mg/kg/日群を除いて消失したことから，15 及び 50 mg/kg/日群では適応性反応が示唆された。PR 間隔の短縮がすべての LNP023 投与群で散見されたが，心拍数増加に伴う二次的変化と考えられた。

血液生化学的検査では，15 及び 300 mg/kg/日の群の雄，並びに 50 mg/kg/日以上の群の雌でビリルビンの高値が認められた。ホルモン測定では，すべての LNP023 投与群で T4 の用量依存的な低値がみられたが，T3 及び TSH に対する明らかな影響は認められなかった。心臓バイオマーカー測定では，Troponin I，NT-proANP，及び NT-proBNP の明らかな変化は認められなかった。

剖検では，300 mg/kg/日群の雌 1 例で甲状腺の小型化が認められた。器官重量測定では，すべての LNP023 投与群で甲状腺重量の低値，300 mg/kg/日群で精巣及び精巣上体重量の低値が認められた。病理組織学的検査では，すべての LNP023 投与群で甲状腺の濾胞細胞肥大，300 mg/kg/日群で心臓の心筋細胞の変性／壊死，300 mg/kg/日群の雄 2 例の精巣で生殖細胞の剥離，精巣上体で精子減少及び精巣上体管内細胞残屑，300 mg/kg/日群の雌 1 例の肝臓で胆管過形成及びクッパー細胞に色素沈着が認められた。甲状腺の濾胞細胞肥大の重症度は用量依存的な増加を示した。下垂体への影響の検討として，対照群及び高用量群の下垂体標本を用いて抗 TSH 抗体による免疫組織化学検査を実施した結果，TSH の局在に LNP023 投与の影響は認められなかった。

心尖部組織試料を用いた遺伝子発現解析では，300 mg/kg/日群では遺伝子シグネチャーの調節がみられたが，50 mg/kg/日以下の群では転写の変化は認められなかった。300 mg/kg/日群では，心筋細胞カルシウムシグナル伝達及び脂肪酸酸化に関わる遺伝子シグネチャーのアップレギュレーション，心臓線維化／修復，心臓肥大／リモデリング，Wnt 経路，リラキシン経路に関わる遺伝子シグネチャーのダウンレギュレーションが認められた。心臓ペーシング，RAS/PI3K/AKT 経路，GPCR: cAMP/cGMP/MAPK/AMPK 経路，血圧調節，血管新生，甲状腺ホルモンシグナル伝達経路，及び心筋細胞アドレナリンシグナル伝達，収縮及び虚血／低酸素に関わる遺伝子シグネチャーの調節パターンからは，適応性は示唆されなかった。これらの転写調節パターンはイヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験（3.2.1 項）と同様であり，本試験の 300 mg/kg/日群では LNP023

の血行動態への影響に対する適応性反応が不十分であったことが示唆され，同群で認められた持続性の頻脈及び心筋細胞変性との関連が考えられた。

甲状腺試料を用いた遺伝子発現解析では，甲状腺濾胞細胞における甲状腺ホルモン生合成，鉄結合に関わる遺伝子シグネチャーの用量依存的なアップレギュレーション，カテプシン K 関連遺伝子シグネチャーのダウンレギュレーションが認められた。甲状腺ホルモン生合成関連遺伝子の発現増加から甲状腺細胞の代謝活性化が示唆されたが，T3 及び T4 濃度に対する明らかな影響は伴わなかった。肝臓試料を用いた遺伝子発現解析では，300 mg/kg/日群のみで CYP1A2 のアップレギュレーションがみられ，複数の代謝関連遺伝子の調節が認められた。これらの変化は，同群における体重及び摂餌量の変化に関連している可能性が推察された。甲状腺ホルモン代謝関連遺伝子又は甲状腺ホルモン結合蛋白質をコードする遺伝子に変化がみられないことから，肝代謝及び甲状腺ホルモン輸送の異常は甲状腺濾胞細胞肥大の主な原因ではない可能性がある。

回復性試験では，300 mg/kg/日群における心臓，精巣，及び精巣上体の変化が回復傾向にとどまったことを除いて，いずれの変化においても休薬による完全な回復が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 3-6）。

以上のとおり，LNP023 をイヌに 4 週間反復経口投与した結果，300 mg/kg/日までの用量で忍容性がみられたが，すべての用量で心拍数増加，ビリルビンの高値，甲状腺重量の低値及び甲状腺濾胞細胞肥大が認められた。300 mg/kg/日群では，器官重量，剖検，及び病理組織学的検査で心臓，肝臓，精巣，及び精巣上体における変化が認められた。300 mg/kg/日群の心臓，肝臓，精巣，精巣上体，及び甲状腺にみられた変化を毒性と判断し，本試験の無毒性量は 50 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-6　　イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-23h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
15	1	雄	83200	11900	1.00
		雌	75600	13100	0.833
		雌雄平均	79400	12500	0.917
	25	雄	91800	14100	0.833
		雌	88000	13400	1.00
		雌雄平均	89900	13750	0.917
50	1	雄	230000	33600	1.00
		雌	230000	36400	1.00
		雌雄平均	230000	35000	1.00
	25	雄	253000	41200	0.833
		雌	224000	36200	1.00
		雌雄平均	238500	38700	0.917

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-23h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
300	1	雄	1790000	137000	2.60
		雌	1470000	132000	2.60
		雌雄平均	1630000	134500	2.60
	25	雄	2220000	215000	3.00
		雌	1810000	188000	2.20
		雌雄平均	2015000	201500	2.60

Source: Table 2.6.7.7D-1470567

3.2.3 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7E-1570194]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 3 例，計 4 群のビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），5，30，及び 150 mg/kg/日の用量で，13 週間反復経口投与した。さらに，対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 8 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，精子検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，ホルモン測定（T3，T4，TSH，FSH，LH，テストステロン，アンドロステンジオン，及びジヒドロテストステロン），剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，骨髄検査，及び TK 試験を実施した。甲状腺及び雄性生殖器でみられた変化についての探索的検討として，甲状腺及び精巣試料を用いた遺伝子発現解析を実施した。精巣毒性に関与する分子経路の転写因子の調節について検討するために精巣試料の分子プロファイリングを実施した[Table 2.6.7.7E-DIS-R1570194b]。さらに，感染が疑われた高用量群の 2 例（動物番号 14 及び 112）について，骨髄塗抹標本及び肝臓組織を用いた追加検査（銀染色及びグラム染色）を実施した[Table 2.6.7.7E-1920095]。

本試験では死亡・瀕死例は認められなかった。忍容性は良好であり，一般状態の変化として 30 mg/kg/日以上の群の雄で流涎が散見されたのみであった。150 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量の低値が Week 8 から認められた。心電図検査では，150 mg/kg/日群で Day 2 の投与後約 3 時間に心拍数増加がみられたが，Week 13 に同様の変化は認められず適応性が示唆された。精子検査では，対照群を含むすべての投与群で大きな変動がみられたため，LNP023 投与の影響を判断することはできなかった。

血液学的検査では，150 mg/kg/日群の雌で血小板数の高値が認められた。150 mg/kg/日群の雄 1 例（動物番号 14）で好中球数，白血球数，赤血球系パラメータ（ヘマトクリット，ヘモグロビン，赤血球数），及び血小板数の低値，雌の各 1 例で好中球数の低値（動物番号 112），単球数の高値（動物番号 115），及びフィブリノゲンの高値（動物番号 114）がみられた。血液生化学的検査では，150 mg/kg/日群の雌雄各 1 例（動物番号 14 及び 114）でグロブリン及び総蛋白の高

値，アルブミン／グロブリン比の低値が認められた。甲状腺ホルモン測定及び尿検査では，LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。ホルモン測定では，Week 7 以降にすべての LNP023 投与群で総テストステロン及びアンドロステンジオンの高値が用量依存的に認められた。FSH 及び LH の変化は認められなかった。

剖検で異常は認められなかった。器官重量の変化として，5 mg/kg/日以上の群の雌及び 30 mg/kg/日以上の群の雄で甲状腺重量の高値，150 mg/kg/日群の雄で前立腺，精巣，及び精巣上体重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，30 mg/kg/日以上の群の腸間膜リンパ節，150 mg/kg/日群の雌の脾臓，及び 150 mg/kg/日群の雄の下顎リンパ節でリンパ系細胞枯渇，30 mg/kg/日以上の群の雄の精巣で精細管変性，精巣上体管内に細胞残屑，30 mg/kg/日群の雌及び 150 mg/kg/日群の甲状腺で濾胞細胞肥大が認められた。150 mg/kg/日群の肝臓では胆管過形成及び単細胞壊死がみられ，雌雄各 1 例（動物番号 14 及び 114）では混合性炎症細胞浸潤を伴い，さらに雌雄各 1 例（動物番号 14 及び 112）では肝細胞及びクッパー細胞に色素沈着が認められた。色素はリポフスチン及び鉄に対して陽性であり，赤血球量低下との関連が考えられた。これらの動物における骨髄塗抹標本検査では雌の骨髄に影響はみられなかった。雄の骨髄では顆粒球比率の高値及び赤芽球比率の低値に関連した顆粒球／赤芽球（M / E）比の軽微な高値が認められ，好中球数及び白血球数の低値に対する反応と考えられた。雄の骨髄では成熟赤血球比率の低値がみられ，末梢血で赤血球系パラメータが低値を示すものの網状赤血球数の高値がみられないことを踏まえると，骨髄での赤血球形成低下が示唆された。いずれの動物においても，肝臓，大腿骨，及び胸骨にグラム陽性菌及びグラム陰性菌，又は銀染色陽性微生物は認められなかったことから，感染を証明することはできなかった。

精巣試料の遺伝子発現解析では，ライディッヒ細胞，セルトリ細胞，減数分裂期精母細胞，及び精子細胞に関わる遺伝子シグネチャーへの影響は認められなかった。精巣試料の分子プロファイリングにおいて，転写因子（又は転写因子ファミリー）である SRY，SOX5，AR，MSC，NEUROD1，NR3C2，TGIF2，RHOX11，及び STAT6 のモチーフエンリッチメント（転写因子が結合するヌクレオチドシークエンスの過剰表現）が認められた。これらの転写因子が標的とする遺伝子の発現プロファイル解析では，SRY の上流因子（KDM3A 等）及び下流の遺伝子の発現に一貫した傾向がみられ，精巣毒性の発現に精巣決定因子が役割を果たしていることが裏付けられた。

甲状腺における分子変化の経時的評価として，4 週間反復投与毒性試験（3.2.2 項）でみられた遺伝子シグネチャーについて本試験でも検討した。150 mg/kg/日群においても，甲状腺濾胞細胞，鉄結合，エンドリソソーム，及びミトコンドリア等の甲状腺経路に関連する遺伝子又は遺伝子シグネチャーの調節は認められなかった。さらに，150 mg/kg/日群においても，甲状腺におけるその他の主要な転写変化は認められなかった。

回復性試験では，精巣の精細管変性及びリンパ系組織のリンパ系細胞枯渇が回復傾向にとどまったことを除いて，いずれの変化においても休薬による完全な回復が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 の曝露が確認された（Table 3-7）。

以上のとおり，LNP023 を 5，30，及び 150 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与した結果，30 mg/kg/日以上の群で精巣及び精巣上体の毒性変化（それぞれ精細管変性及び細胞残屑）及び 150 mg/kg/日群で炎症性変化（肝臓の混合性炎症細胞浸潤を伴う単細胞壊死，並びに単球，グロブリン及びフィブリノゲンの増加を伴う好中球数減少）が認められた。本試験の無毒性量は，雄で 5 mg/kg/日，雌で 30 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-7　　イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax [a] (h)
5	1	雄	28200	4050	0.5
		雌	23200	3580	0.5
		雌雄平均	25700	3815	0.5
	89	雄	35500	4390	0.5
		雌	32700	4000	0.5
		雌雄平均	34100	4195	0.5
30	1	雄	113000	18100	1
		雌	105000	21000	1
		雌雄平均	109000	19550	1
	89	雄	148000	25600	0.5
		雌	149000	22600	1
		雌雄平均	148500	24100	0.75
150	1	雄	576000	62900	3
		雌	607000	74300	3
		雌雄平均	591500	68600	3
	89	雄	733000	75000	1
		雌	611000	79800	1
		雌雄平均	672000	77400	1

Source: Table 2.6.7.7E-1570194
a = 中央値を示す

3.2.4　　イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 27 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.7F-1570192]は，LNP023 の反復投与毒性及び回復性の検討を目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 4 例，計 4 群のビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），5，30，及び 150 mg/kg/日の用量で，39 週間反復経口投与した。さらに，対照群，中用量群，及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例を回復性試験群として設定し，投与期間終了後 27 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，体温測定，心電図検査，精子検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，ホルモン測定（T3，T4，TSH，FSH，LH，

テストステロン，アンドロステンジオン，及びジヒドロテストステロン），ヘプシジン測定，リンパ球フェノタイピング，T 細胞依存性抗体産生試験（TDAR），剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，骨髄塗抹標本検査，及び TK 試験を実施した。さらに，雄性生殖器でみられた変化についての探索的検討として，精巣試料を用いて分子プロファイリングを実施した[Table 2.6.7.7F-DIS-R1570192e]。

本試験では，雄 2 例を一般状態不良のため安楽死処分した。5 mg/kg/日群の雄 1 例では，Day 236 の投与直後から投与過誤による誤嚥に関連した一般状態の悪化（鎮静・動作緩慢，努力性呼吸，軟便，及び嘔吐）がみられたため，安楽死処分した。臨床検査値の変動として，ナトリウム及びクロールの高値，並びにカリウムの低値がみられ，病理組織学的変化として，喉頭室の異物及び喉頭の軽度炎症が認められた。150 mg/kg/日群の回復性試験群の雄 1 例では，一般状態不良（耳介及び歯肉蒼白，鎮静・動作緩慢，冷触感）がみられたため回復性試験 Day 103 に安楽死処分した。体重減少が Week 34 から投与期間終了時までみられ，休薬により一時的に回復傾向がみられたが回復性試験 Day 29 から体重及び摂餌量の減少傾向が認められた。臨床検査値の変動として，Day 88 から白血球パラメータ（好中球数，好酸球数，リンパ球数，単球数，及び白血球数）の低値，Day 179 及び 272 にフィブリノゲンの高値がみられた。Day 272 に赤血球量パラメータ（赤血球数，ヘマトクリット，及びヘモグロビン）及び網状赤血球数の低値，並びに有核赤血球が認められた。回復性試験 Day 103 の剖検時には，平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の低値及び MCV の高値を伴う赤血球量パラメータ及び網状赤血球数の著明な低値が認められ，投与期間終了時と同様の変化であるがより重篤であった。重篤な貧血が認められたにもかかわらず，Day 274 の骨髄塗抹標本検査では，M / E 比及び増殖性細胞率は対照群と同等であり，骨髄の赤血球形成異常が示唆された。Week 39 及び回復性試験 Day 103 に，ヘプシジンの軽度の低値が認められた。病理組織学的検査では，大腿骨及び胸骨の骨髄で高度の線維化（造血低下と関連），海綿骨の軽度増加，軽微な淡褐色色素沈着がみられた。さらに，貧血の二次的変化と考えられる病理組織学的変化が，肝臓（小葉中心性肝細胞変性，巣状壊死，髄外造血：巨核球性，肝細胞及びクッパー細胞に褐色色素：主に鉄と確定）及び脾臓（髄外造血：未分化細胞性）で認められた。肝臓，大腿骨，及び胸骨の組織標本で，グラム陽性菌又はグラム陰性菌，並びに銀染色陽性の微生物は認められなかった。さらに，精巣及び精巣上体で，軽微な精細管変性及び上体管内残屑がそれぞれ認められた。以上より，一般状態不良の原因は骨髄線維症を伴う重度の非再生性貧血と特定され，LNP023 投与の影響である可能性が考えられた。

生存例の一般状態の変化として，30 mg/kg/日以上の群で嘔吐がみられ，対照群を含むすべての投与群で投与手技関連と考えられる流涎が散見された。体重及び摂餌量に明らかな LNP023 投与の影響は認められなかった。眼科学的検査，体温測定，及び精子検査で LNP023 投与に関連した明らかな変化は認められなかった。心電図検査では，Day 2 に 150 mg/kg/日群で統計学的に有意な心拍数増加，並びにそれに伴う PR 及び QT 間隔の短縮が認められた。Week 38 に統計学的に有意ではない心拍数増加がみられたが変化は減弱しており，時間の経過に伴う適応性が示唆された。

血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，及び尿検査では，LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。血液塗抹標本検査では，150 mg/kg/日群の一部の雄で少数の有核赤血球がみられたが，赤血球量パラメータ及び網状赤血球数の変化，並びに骨髄の病理組織学的変化は認められず，毒性学的意義は不明であった。ホルモン測定では，30 mg/kg/日以上の群の雄で Week 13 及び 26 に T3 の高値，150 mg/kg/日群の雄 2 例で Week 26 又は 39 に TSH の高値が認められた。T4 及びリバース T3（rT3）に LNP023 投与の影響はみられなかった。FSH，LH，テストステロン，アンドロステンジオン，及びジヒドロテストステロンに LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。13 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項）でリンパ性細胞の枯渇が認められたことから免疫毒性試験を実施した。リンパ球フェノタイピングでは，T 細胞（$CD3^+$，$CD3^+/CD4^+$，及び $CD3^+/CD8^+$）及び B 細胞（$CD21^+$）の変化は認められなかった。免疫組織化学検査では，すべての投与群で脾臓及び腸間膜リンパ節の CD4，CD8，CD20，及び Ki67 染色に差は認められなかった。TDAR では，すべての LNP023 投与群で抗原惹起後の一次応答（IgM 及び IgG 抗体価）の低下がみられ，30 mg/kg/日以上の群の雌で二次応答の軽微な低下が認められた。投与 24 時間後の薬力学試験では，30 mg/kg/日以上の群で AP 活性の完全阻害が確認され，試験期間中の補体経路の完全阻害が示唆された。

剖検で異常は認められなかった。器官重量の変化として，150 mg/kg/日群の雄で精巣重量の低値，30 mg/kg/日以上の群で前立腺重量の高値，5 mg/kg/日以上の群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌で甲状腺重量の高値が認められた。病理組織学的検査では，30 mg/kg/日以上の群の雄の精巣で精細管変性，精巣上体の精巣上体管管腔に細胞残屑，5 mg/kg/日以上の群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌の甲状腺で濾胞細胞肥大，150 mg/kg/日群の肝臓でクッパー細胞の色素沈着（ヘモジデリン）が認められた。前立腺の Ki67 染色に対照群との差は認められなかった。

精巣毒性に関与する分子経路の転写因子の調節について検討するために分子プロファイリングを実施した。13 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項）と同様に，転写因子（又は転写因子ファミリー）である SRY，SOX5，ALX3，BSX，HOXA9，NEUROG1，NFATC2，RARB，MEIS1，及び TGIF2 のモチーフエンリッチメントが認められた。これらの転写因子が標的とする遺伝子の発現プロファイル解析では，転写因子 SRY を制御する上流因子（KDM3A 等）及び下流の遺伝子発現に一貫した傾向がみられ，LNP023 の精巣毒性の発現における精巣決定因子の関与が裏付けられた。

150 mg/kg/日群の雄 1 例（動物番号 D0306）で認められた非再生性貧血の発現機序検討を目的として，肝臓及び脾臓の遺伝子発現解析を実施した。その結果，髄外造血に関わる遺伝子シグネチャー（巨核球及び赤芽球）のアップレギュレーション，赤血球成熟に関連する遺伝子（ヘモグロビン及び Wnt/catenin 経路）のダウンレギュレーションが認められた。さらに，同個体の肝臓及び脾臓，並びにクッパー細胞の色素沈着がみられた 150 mg/kg/日群の動物の肝臓で，程度はより低いものの転写変化が確認され，これらの動物では蛋白質分解を伴う折りたたみ不全蛋白質／小胞体ストレス，急性期反応，抗菌ペプチド，自然免疫系に関わる遺伝子シグネチャーのアップ

レギュレーションが認められた。特殊染色により感染が確認されなかったが，この転写パターンから感染の二次的変化である自然免疫系の活性化が示唆された。特殊染色に用いたのはホルマリン固定及びパラフィン包埋された肝臓組織であり，感染病原体の診断に適切ではないとされている（Hutchins et al. 2012）。

150 mg/kg/日群の雄 1 例（動物番号 D0306）における免疫介在性貧血の可能性の検討として，150 mg/kg/日群の脾臓及び骨髄（胸骨及び大腿骨）の免疫組織化学検査を実施したが，高いバックグラウンド染色のために補体 C3 の染色については判断できなかった。IgG の結合及び顆粒状沈殿物は認められなかったことから，動物番号 D0306 を含む LNP023 投与動物の骨髄で免疫系の介在がないことが示唆された。さらに，腸間膜リンパ節及び脾臓における Ki67，CD4，CD8，及び CD20 の免疫組織化学検査において対照群との差はみられなかった。以上のことから，免疫介在性貧血ではないことが支持された。

回復性試験では，いずれの変化においても休薬による完全な回復が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 の曝露が確認された（Table 3-8）。

以上のとおり，LNP023 を 5，30，及び 150 mg/kg/日の用量で 39 週間反復経口投与した結果，概ね良好な忍容性が認められた。30 mg/kg/日以上の群で精巣に精巣重量の低値を伴う精細管変性及び精巣上体の細胞残屑が認められ，毒性と判断した。30 mg/kg/日以上の群における甲状腺濾胞細胞肥大の頻度及び重篤度の軽度増加は，明らかな甲状腺機能亢進又は低下を伴わないことから，毒性と判断しなかった。150 mg/kg/日の群で肝臓にクッパー細胞の色素沈着が認められたが，軽微な変化であり，脾臓には所見を伴わなかったことから，毒性と判断しなかった。150 mg/kg/日群の雄 1 例の瀕死状態は骨髄線維化を伴う非再生性貧血が原因であり，LNP023 投与と関連した変化である可能性が考えられた。本試験の無毒性量は，雄で 5 mg/kg/日，雌で 30 mg/kg/日と考えられた。

Table 3-8　イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
5	1	雄	29100	3960
		雌	29500	4020
		雌雄平均	29300	3990
	273	雄	39300	4580
		雌	37900	4710
		雌雄平均	38500	4650
30	1	雄	139000	20300
		雌	132000	19300
		雌雄平均	136000	19800
	273	雄	183000	25000
		雌	155000	21000
		雌雄平均	169000	23000

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
150	1	雄	794000	71400
		雌	417000	55100
		雌雄平均	605000	63200
	273	雄	840000	88200
		雌	628000	65900
		雌雄平均	734000	77000

Source: Table 2.6.7.7F-1570192

4 遺伝毒性試験

4.1 細菌を用いた *in vitro* 変異原性試験

4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（Miniscreen Ames test）

本試験[Table 2.6.7.8A-1313007]は，LNP023 の遺伝子突然変異誘発性についての予備的検討を目的として，GLP 非適用で実施した。本試験では，代謝活性化系存在下及び非存在下で，LNP023 を 5，15，50，150，及び 500 µg/well の用量で，ネズミチフス菌株（TA98 及び TA100）を 3 日間処理した。

試験の結果，本試験条件下において LNP023 の遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

4.1.2 細菌を用いた復帰突然変異試験

本試験[Table 2.6.7.8B-1470563]は，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA97a，及び TA102）を用いた復帰突然変異試験により LNP023 の遺伝子突然変異誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

本試験では，代謝活性化系存在下及び非存在下ともに dimethyl sulfoxide（DMSO）に溶解した LNP023 を 5，16，50，160，500，1600，及び 5000 µg/plate の濃度で処理した。

試験の結果，いずれの菌株においても LNP023 による復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。したがって，本試験条件下において LNP023 に遺伝子突然変異誘発性はないものと判断した。

4.2 哺乳類細胞を用いた *in vitro* 変異原性試験

4.2.1 TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験

本試験[Table 2.6.7.8C-1314004]は，EB ウイルスを遺伝子導入した TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験により，LNP023 の小核誘発性を評価することを目的として GLP 非適用で実施した。

本試験では，DMSO に溶解した LNP023 を適用した。代謝活性化系非存在下では 179.7～500.0 µg/mL の濃度で 20 時間処理し，代謝活性化系存在下では 125.0～500.0 µg/mL の濃度で 3 時間処理した。

試験の結果，いずれの試験条件においても小核を有する細胞の増加は認められなかった。したがって，LNP023 に染色体構造異常誘発性及び異数性誘発性はないものと判断した。

4.2.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験

本試験[Table 2.6.7.8D-1470562]は，培養ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 小核試験により LNP023 の小核誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。

用量設定試験の結果から，本試験の処理濃度には LNP023 の 300～459 µg/mL（約 1 mM に相当）を設定した。処理時間は，実験 1 では代謝活性化系存在下及び非存在下で 3 時間処理 + 21 時間回復，並びに 24 時間処理 + 24 時間回復とし，実験 2 では代謝活性化系存在下及び非存在下で 3 時間処理 + 21 時間回復とした。LNP023 の媒体には DMSO を使用した。

実験 1 の結果，短時間処理法の代謝活性化系非存在下では 300，400，及び 459 µg/mL 濃度で，代謝活性化系存在下では 300 及び 459 µg/mL 濃度で，媒体対照群に比較して，小核を有する二核細胞の発現頻度の統計学的に有意な増加がみられたが，いずれも背景値の範囲内の変動であった。連続処理法では小核発現頻度に媒体対照群との差は認められなかった。実験 1 の結果は陽性判定基準を満たすものではなかったため，実験 2 を実施した。実験 2 では，いずれの条件においても小核を有する細胞の発現頻度に媒体対照群との差は認められなかった。実験 1 の結果に再現性がみられなかったことから，実験 1 でみられた小核発現頻度の増加に生物学的意義はないものと考えられた。

以上のとおり，培養ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験において，代謝活性化系存在下及び非存在下で LNP023 の小核誘発性は認められなかった。

4.3 ラットを用いた *in vivo* 小核試験

本試験[Table 2.6.7.9A-1470568]は，ラットの末梢血を用いた小核試験により LNP023 の小核誘発性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。本試験は，ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（3.1.2 項）に組み込み実施した。1 群雌雄各 10 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラット［Crl:WI(Han)］に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% v/v Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，4 週間反復経口投与した。投与期間終了時にすべての投与群から小核試験用血液試料を採取し，1 群雌雄各 6 例の試料を用いてフローサイトメトリーによる小核試験を実施した。

試験の結果，4 週間反復投与後の末梢血において，細胞増殖の指標とした網状赤血球数及び小核を有する網状赤血球の発現頻度に対照群との差は認められなかった。したがって，本試験条件下において，LNP023 に小核誘発性はないものと考えられた。

5 がん原性試験

5.1 長期がん原性試験

5.1.1 ラットを用いた 104 週間がん原性試験

本試験[Table 2.6.7.10A-1770877]は，ラットを用いた 104 週間がん原性試験により，LNP023 のがん原性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 50 例，計 3 群のラット［Crl:WI(Han)］に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 150, 300，及び 750 mg/kg/日の用量で，104 週間反復経口投与した。1 群雌雄各 50 例，計 2 群を陰性及び媒体対照群として設定し，それぞれ精製水及び媒体を 5 mL/kg の容量で 104 週間反復経口投与した。なお，高用量群の死亡率が予想よりも高くなったため，Week 21 から投与容量を 7.5 mL/kg に変更した。また，TK 試験用サテライト群として，媒体対照群及び LNP023 投与群には 1 群雌雄各 10 例，陰性対照群には雌雄各 2 例を設定し，104 週間反復経口投与した。

本試験の高用量（750 mg/kg/日）は，ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（3.1.4 項）の無毒性量であることから設定した。当該試験では投与手技に関連した逆流が原因と考えられる死亡・瀕死例がみられ，特に 750 mg/kg/日群で顕著であった。中用量には 300 mg/kg/日を，低用量には投与後 24 時間の完全標的阻害が得られる最小用量として 150 mg/kg/日を設定した。

本試験では，750 mg/kg/日群の雌雄で死亡率の増加がみられ，同群の雄については生存例が 20 例となった Week 94 で投与を中止した。雄の生存例は休薬して試験を継続した。750 mg/kg/日群の雄の生存例が 15 例になった Week 102～103 に，すべての投与群の雄を早期試験中止とした。750 mg/kg/日群の雌については生存例が 15 例となった Week 99～100 に早期試験終了とし，他のすべての投与群の雌は計画通り Week 105～106 に試験終了とした。

本試験では合計 243 例（雄 132 例，雌 111 例）の死亡・瀕死例が認められた。750 mg/kg/日群の雌雄で統計学的に有意な生存率の低下が認められたが，LNP023 の毒性に関連したと考えられる死亡は認められなかった。Week 20 までは投与液が高濃度（150 mg/mL）であったため，投与液の逆流及び死亡を誘発したと考えられた（Damsch et al. 2011）。Week 21 以降は投与液濃度を 150 mg/mL から 100 mg/mL に，投与容量を 5 mL/kg から 7.5 mL/kg に変更したことにより，Week 94 まで 750 mg/kg/日群を維持することが可能であった。他の死亡・瀕死については，この系統（Wistar Hannover）のラットで一般的にみられる変化が原因と考えられた。

一般状態の変化として，750 mg/kg/日群の早期終了動物（雄：Week 94，雌：Week 99）で流涎過多及び異常呼吸（呼吸音，呼吸促拍，呼吸不整，努力呼吸，及び浅呼吸）が雄ではほぼ投与期間中に，雌では Week 27 から認められた。これらの変化は，同群の生存例においても同様の頻度で認められた。低頻度ではあるが同様の異常呼吸が 300 mg/kg/日群の雄では投与 2 年目の初期から，150 及び 300 mg/kg/日群の雌では Week 91 から認められた。

750 mg/kg/日群の雄で体重増加量の低値がみられたが，すべての LNP023 投与群の雌で体重増加量の高値及び肥満が認められ，750 mg/kg/日群の雌では摂餌量の高値と関連していた。

投与期間終了後に触知可能な腫瘤は認められず，眼科的検査で異常は認められなかった。

病理組織学的検査では，750 mg/kg/日群においても LNP023 投与に関連した腫瘍性病変の増加は認められなかった。雌では皮膚／皮下組織の扁平上皮癌の発現頻度に傾向検定で有意な増加がみられたが，750 mg/kg/日群の 1 例に腫瘍 1 個が認められたのみであったこと，扁平上皮癌はまれに Wistar 系ラットの雌でみられる腫瘍であることから，偶発的変化であり LNP023 のがん原性を示唆する変化ではないと判断した。また，750 mg/kg/日群の雌では胸腺の良性胸腺腫及び良性／悪性混合型胸腺腫の発現頻度に，媒体対照群と比較して有意な増加が認められた。しかし，媒体対照群の胸腺腫瘍の発現頻度はすべての投与群中で最も低く，陰性対照群に比較しても著しく低値であった。陰性対照群とすべての LNP023 投与群における発現頻度は同様であった。本所見は 2 群の対照群のうちの 1 群のみに対して片性のみで統計学的有意差がみられたものであり，媒体対照群の発現頻度が低値であったことを踏まえると，LNP023 のがん原性を示唆する変化ではないと判断した。

LNP023 投与に関連した非腫瘍性病変として，300 mg/kg/日以上の群の雄及び 750 mg/kg/日群の雌の甲状腺，並びにすべての LNP023 投与群の肝臓で認められた。これらは，剖検でみられた甲状腺（雌で暗調化）及び肝臓（斑状）の変化と関連していた。既知の変化である甲状腺の濾胞細胞肥大が，300 mg/kg/日以上の群の雄及び 750 mg/kg/日群の雌で概ね用量依存的に認められた。過形成又は前がん病変への進行は認められなかった。すべての LNP023 投与群で甲状腺にびまん性 C 細胞過形成の発現頻度及び重症度の軽度の増加が認められた。一般に，びまん性 C 細胞過形成は前がん病変とは考えられず（Brändli-Baiocco et al. 2018），限局性の C 細胞過形成又は腫瘍形成への進行は認められなかった。肝臓では，すべての LNP023 投与群で肝細胞空胞化の発現頻度及び重症度の軽度増加が認められた。肝細胞空胞化の重篤度は低く，変性，炎症，又は壊死は認められなかったことから，軽度の代謝変化に関連していることが示唆された。

TK 試験の結果，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 5-1）。

以上のとおり，本試験では 750 mg/kg/日群で死亡率の増加が認められたが，LNP023 に関連した死亡ではないと考えられた。LNP023 投与に関連した腫瘍性病変がみられなかったことから，LNP023 にがん原性はないものと考えられた。

Table 5-1　　ラットを用いたがん原性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
150 (Group 3)	Day 1	雄	61800	11700	0.500
		雌	57600	12100	1.00
		雌雄平均	59700	11500	1.00
	Day 176	雄	88800	16800	0.500
		雌	58100	14700	0.500
		雌雄平均	73500	15800	0.500

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
300 (Group 4)	Day 1	雄	162000	24900	1.00
		雌	118000	19800	0.500
		雌雄平均	140000	21500	0.500
	Day 176	雄	170000	21700	0.500
		雌	136000	19100	1.00
		雌雄平均	153000	19000	1.00
750 (Group 5)	Day 1	雄	497000	52900	3.00
		雌	501000	40500	0.500
		雌雄平均	499000	41400	0.500
	Day 176	雄	733000	94600	3.00
		雌	498000	61600	3.00
		雌雄平均	620000	78100	3.00

Source: Table 2.6.7.10A-1770877

5.2 短・中期がん原性試験

5.2.1 野生型 rasH2 マウスを用いた最大耐量に関する試験

本試験[Table 2.6.7.10B-2070102]は，野生型 rasH2 マウスを用いて最大耐量を決定し，がん原性試験の用量設定に必要な情報を得ることを目的として GLP 非適用で実施した。1 群雌雄各 3 例，計 3 群の野生型 rasH2 マウスに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 150，500，及び 1000 mg/kg/日の用量で 7 日間反復経口投与した。1 群雌雄各 3 例を媒体対照群として設定し，媒体を 10 mL/kg/日の容量で 7 日間反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を実施した。

本試験で死亡・瀕死例はみられず，すべての LNP023 投与群で良好な忍容性が認められた。LNP023 投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。500 mg/kg/日以上の群の雄で一過性の体重及び摂餌量の軽度の減少が認められた。

いずれの変化も軽度であり動物の全身状態への影響が認められないことから，本試験の無毒性量は 1000 mg/kg/日と考えられた。したがって，野生型 rasH2 マウスを用いた 28 日間反復投与毒性試験の高用量には 1000 mg/kg/日を設定することが推奨された。

5.2.2 野生型 rasH2 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

本試験[Table 2.6.7.10C-1770875]は，野生型 rasH2 マウスを用いた反復投与毒性試験により，がん原性試験の用量設定に必要な情報を得ることを目的として GLP 適用で実施した。1 群雄 10 例，雌 12 例，計 3 群の野生型 rasH2 マウスに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 150，500，及び 1000 mg/kg/日の用量で 28 日間反復経口投与した。1 群雄 10 例，雌 12 例を媒体対照群として設定し，媒体を 10 mL/kg/日の容量で 28 日間反復経口投与した。

本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。

本試験では，1000 mg/kg/日群の雌 1 例を Day 5 に一般状態悪化（流涙過多，立毛，削痩，円背位，不整呼吸，及びスキンテンティング）のため安楽死処分した。剖検では食道に裂傷がみられ，病理組織学的検査で食道及び胸腔内の食道周辺組織に炎症が認められたことから，投与過誤による一般状態の悪化と考えられた。生存例に LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。器官重量，剖検及び病理組織学的検査で LNP023 投与に関連した異常は認めれなかった。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 の曝露が確認された。

以上のとおり，LNP023 を 1000 mg/kg/日までの用量で野生型 rasH2 マウスに 28 日間反復経口投与した結果，良好な忍容性が認められ，LNP023 投与に関連した一般状態，体重及び摂餌量，眼科学的検査，臨床検査，剖検，器官重量，及び病理組織学的検査の異常は認められなかった。したがって，本試験の無毒性量は 1000 mg/kg/日と考えられた。

5.2.3 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験

本試験[Table 2.6.7.10D-1770876]は，rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験により，LNP023 のがん原性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 25 例，計 3 群の rasH2 トランスジェニックマウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，26 週間反復経口投与した。1 群雌雄各 25 例，計 2 群を媒体及び陰性対照群として設定し，それぞれ媒体及び精製水を 15 mL/kg の容量で 26 週間反復経口投与した。さらに，雌雄各 25 例を陽性対照群として設定し，N-methyl-N-nitrosourea（MNU）を 75 mg/kg の用量で Day 1 に単回腹腔内投与した。また，TK 試験用サテライト群として，LNP023 投与群には 1 群雌雄各 10 例，媒体及び陰性対照群には 1 群雌雄各 3 例を設定し，22 週間反復経口投与した。

本試験の高用量（1000 mg/kg/日）は，野生型 rasH2 マウスを用いた用量設定試験成績（5.2.2 項），ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における忍容性（3.1.4 項），及びラットを用いた 104 週間がん原性試験成績（5.1.1 項）を参考にして設定した。野生型 rasH2 マウスを用いた 4 週間用量設定試験では高用量（1000 mg/kg/日）群でも良好な忍容性がみられ，LNP023 投与に関連した一般状態の変化，臨床検査値の変動，及び病理組織学的変化は認められなかった。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 104 週間がん原性試験では，150 mg/mL 濃度の投与溶液投与により忍容性の問題又は投与過誤がみられたため，100 mg/mL 濃度で 10 mL/kg の投与容量による 1000 mg/kg/日が投与可能な最高用量と考えられた。

本試験では，生存率に LNP023 投与の影響はみられず，投与期間終了時の各群の生存率は，100 mg/kg/日群の雄で 96%，雌で 92%，300 mg/kg/日群の雄で 92%，雌で 92%，1000 mg/kg/日群の雄で 92%，雌で 92%であり，媒体対照群（雄：80%，雌：96%）及び陰性対照群（雄：96%，雌：92%）との差は認められなかった。

一般状態及び触知可能な腫瘤，体重及び体重増加量，並びに摂餌量に LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。

剖検では LNP023 投与に関連した異常はみられなかった。病理組織学的検査では，非腫瘍性病変として，100 mg/kg/日以上の群の雄及び 300 mg/kg/日以上の群の雌の肝臓で肝細胞空胞化の発生頻度の軽度の高値のみが認められた。腫瘍性病変は認められず，LNP023 のがん原性は示唆されなかった。

陽性対照群の投与期間終了時の生存率には雄で 16%，雌で 4%と顕著な低下が認められた。この生存率低下は，概ねリンパ芽球性リンパ腫（複数部位）及び扁平上皮細胞乳頭腫（耳を含む皮膚／皮下組織）等の腫瘍発現に関連しており，同群の死亡・瀕死の原因と考えられた。

TK 試験では，LNP023 投与群のすべての動物で LNP023 の曝露が認められた（Table 5-2）。

以上のとおり，本試験における忍容性は良好であり，LNP023 の生存に対する影響は認められなかった。LNP023 に関連した腫瘍性病変がみられなかったことから，LNP023 にがん原性はないものと考えられた。

Table 5-2　トランスジェニックマウスを用いたがん原性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	148	雄	25500	9800	0.5
		雌	27100	10800	0.5
		雌雄平均	26300	10300	0.5
300	148	雄	63100	26100	0.5
		雌	56000	30600	0.5
		雌雄平均	60600	28300	0.5
1000	148	雄	196000	71500	0.5
		雌	258000	80400	0.5
		雌雄平均	227000	75900	0.5

Source: Table 2.6.7.10D-1770876

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能試験

6.1.1　雄ラットを用いた経口投与による授胎能試験

本試験[Table 2.6.7.12A-1870193]は，雄ラットの授胎能に対する LNP023 の影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雄 25 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラットに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），50，150，及び 750 mg/kg/日の用量で，116 日間（交配前 13 週間，交配期間中，及び剖検前日まで）反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，性周期観察，剖検，器官重量測定，

病理組織学的検査，及び精子検査を実施した。交配が確認された雌は妊娠 13 日に帝王切開し，子宮内検査を実施した。

本試験では，LNP023 投与に関連した死亡・瀕死例は認められなかった。50 及び 150 mg/kg 日群の雄各 1 例，750 mg/kg/日群の雄 2 例の死亡が認められた。50 及び 150 mg/kg 日群の死亡例は剖検の結果，投与過誤が原因と考えられた。750 mg/kg/日群の雄 1 例では，一般状態の変化として喘ぎ呼吸及び異常呼吸音がみられ，剖検では肺に暗色又は赤色領域が認められたことから，裂傷は確認されなかったが投与過誤により瀕死状態に至ったものと考えられた。750 mg/kg/日群の他の 1 例については剖検で異常はみられなかったが，他の生存例の一般状態及び体重に明らかな変化が認められなかったことから，偶発的死亡と判断した。

生存例の一般状態観察では，150 mg/kg/日以上の群で流涎及び口を擦る動作のみが認められ，体重，摂餌量及び生殖行動への影響を伴わなかったことから毒性ではないと判断した。雄の体重，妊娠中の雌の体重，摂餌量，交尾率，受胎率，雄授胎率，妊娠状態，及び剖検で LNP023 投与の影響は認められなかった。精巣及び精巣上体の重量，剖検，及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。精子検査では，総精子濃度及び精子移動速度に LNP023 投与の影響はみられなかった。150 及び 750 mg/kg/日群では形態異常精子の発現頻度の統計学的に有意な高値がみられ，各群の発現頻度は対照群（0.9%）に対して，それぞれ 1.3%及び 2.3%であった。しかしながら，いずれも試験施設の背景値の範囲内であり，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，LNP023 投与とは関連性のない偶発的変化と考えられた。

以上のとおり，LNP023 を 750 mg/kg/日までの用量で，交配前 13 週間，交配中，及び雌の妊娠確認までの期間，雄ラットに投与した結果，良好な忍容性が確認された。精巣及び精巣上体に病理組織学的変化はみられず，交配能，授胎能，及び受胎率に LNP023 投与の影響は認められなかった。したがって，雄授胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 750 mg/kg/日と考えられた。

6.1.2 雌ラットを用いた経口投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.12B-1770670]は，雌ラットの受胎能及び初期胚発生に対する LNP023 の影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 24 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラットに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，最長 35 日間（交配前 2 週間，交配期間中，及び妊娠 6 日まで）反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，性周期観察を行い，妊娠 13 日に帝王切開し，剖検及び子宮内検査を実施した。

本試験では，死亡・瀕死例はみられず，一般状態及び摂餌量に LNP023 投与に関連した影響は認められなかった。300 mg/kg/日以上の群で，交配前投与期間終了時の体重増加量の高値（最大 66%），妊娠期間中の体重増加量の低値（最低−21%）が用量依存的に認められた。しかしながら，平均体重への影響がみられないことから毒性変化ではないと考えられた。

性周期，交尾率，及び受胎率に LNP023 投与に関連した影響は認められなかった。剖検では異常はみられなかった。子宮内検査では，1000 mg/kg/日群で着床前胚死亡率，早期吸収胚数，及び着床後胚死亡率の高値（母動物 2 例で着床後胚死亡率が 100%），並びに生存胎児数の低値が認められた。300 mg/kg/日までの群では LNP023 投与の影響は認められなかった。

以上のとおり，LNP023 を交配前 2 週間，交配期間中，及び妊娠 6 日まで雌ラットに投与した結果，母動物における良好な忍容性が確認された。性周期，交尾率，及び受胎率に LNP023 投与に関連した影響はみられなかった。1000 mg/kg/日群では着床前胚死亡率，早期吸収胚数，及び着床後胚死亡率の高値，並びに生存胎児数の低値が認められた。したがって，本試験の雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。

6.2 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1 ラットを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.13A-1670321]は，ラットの胚・胎児発生に対する LNP023 の影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 24 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラットに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，雌ラットの妊娠 6～17 日に反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，並びに血液生化学的検査（ビリルビン）を行い，妊娠 21 日に帝王切開し，剖検，子宮内検査，及び胎児検査（外表，内臓，及び骨格）を実施した。さらに，妊娠 17 日に TK 試験用動物から採血し，TK 評価を行った。

本試験では LNP023 投与に関連した死亡は認められなかった。妊娠 13 日に 1000 mg/kg/日群の 1 例に努力呼吸，呼吸異常音，速迫呼吸，及び立毛が認められたため安楽死処分した。剖検では異常は認められなかった。1 例のみの事象であり，他の生存例に同様の変化が認められなかったことから，LNP023 投与による一般状態の悪化ではなく偶発的変化と判断した。生存例の一般状態の変化として，1000 mg/kg/日群の 2 例で妊娠 8 日の投与 6 時間後，300 mg/kg/日群の 2 例で妊娠 17 日の投与 6 時間後に立毛が認められた。同様の発現時刻であり，LNP023 投与との関連性は否定できないが，いずれも一過性の事象であり，同群の体重及び摂餌量に影響がみられていないことから毒性変化ではないと考えた。体重に異常はみられなかった。1000 mg/kg/日群では，投与開始から 4 日間に摂餌量の低値がみられたが，その後の投与期間中は対照群と同様に推移し，妊娠 20～21 日には高値を示した。血液生化学的検査ではビリルビン値の異常は認められなかった。

剖検で異常はみられず，妊娠パラメータ（着床数，着床前及び着床後胚死亡率，生存胎児数，及び性比）及び胎児体重に LNP023 投与の影響は認められなかった。胎児検査では，胎児の内臓異常として 100 mg/kg/日群の 1 例で大脳半球形態異常及び内水頭症，1000 mg/kg/日群の同腹児 2 例で前頭頭頂左側嚢胞，骨格異常として 100 mg/kg/日群の 1 例で前頭間縫合拡張，300 mg/kg/日群の 1 例で肋骨遠位部癒合及び頸椎体／胸椎弓癒合が認められた。これらの異常には用量関連性がみられないことから，自然発生性変化と考えられた。1000 mg/kg/日群で認められた頭部の嚢胞

は，同腹児の 2 例でみられた片側性の変化であり，頭蓋骨又は脳の構造に影響はみられなかったことから毒性変化ではないと考えられた。また，骨格変異として，用量依存的な頭頂間骨又は頭頂骨の不完全骨化の発現頻度の増加が認められたが，胎児発生への影響がみられないことから毒性変化ではないと考えられた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 6-1）。

以上のとおり，母動物の一般状態及び体重に異常がみられず，胎児の発生に毒性変化が認められなかったことから，本試験の母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と考えられた。

Table 6-1　　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	妊娠 17 日	41500	10400	0.5
300	妊娠 17 日	123000	22700	1
1000	妊娠 17 日	278000	36000	1

Source: Table 2.6.7.13A-1670321

6.2.2　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

6.2.2.1　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.13B-1670322]は，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定に必要な情報を得ることを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 6 例，計 4 群のニュージーランドホワイト（NZW）ウサギに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），50，300，及び 600 mg/kg/日の用量で，雌ウサギの妊娠 7～20 日に反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，並びに血液生化学的検査（ビリルビン）を行い，妊娠 29 日に帝王切開し，剖検，子宮内検査，及び胎児検査（外表及び内臓）を実施した。さらに，妊娠 20 日に全例から採血し TK 評価を行った。

本試験では，600 mg/kg/日群の 1 例を一般状態不良（体重減少及びほぼ無摂食）のため，妊娠 18 日に安楽死処分した。剖検では一般状態不良の原因を確定することはできなかった。したがって，LNP023 に関連した体重減少が原因と考えられた。生存例の一般状態の変化として，600 mg/kg/日群で被毛の汚れの発現頻度の増加が認められた。600 mg/kg/日群では体重及び体重増加量，並びに摂餌量の低値が認められた。妊娠 29 日のビリルビン測定では，すべての動物が測定下限未満であった。600 mg/kg/日群の瀕死例 1 例では妊娠 18 日のビリルビン測定で 5.7 µmol/L であった。

いずれの LNP023 投与群においても剖検で異常はみられず，子宮内検査で LNP023 投与の影響は認められなかった。生存胎児数，胎児体重及び性比に LNP023 投与に関連した影響はみられず，外表及び内臓検査で LNP023 投与に関連した異常及び変異は認められなかった。

TK 試験では，すべての LNP023 投与動物で LNP023 による曝露が確認された（Table 6-2）。

以上のとおり，600 mg/kg/日群で母動物の体重及び摂餌量の低値がみられたことから，母動物毒性に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。胎児の外表及び内臓検査で異常及び変異が認められなかったことから，胎児毒性に対する無毒性量は 600 mg/kg/日と考えられた。

Table 6-2　　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
50	妊娠 20 日	37800	6070	1
300	妊娠 20 日	188000	20400	2
600	妊娠 20 日	732000	65600	3

Source: Table 2.6.7.13B-1670322

6.2.2.2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

本試験[Table 2.6.7.13C-1670323]は，ウサギの胚・胎児発生に対する LNP023 の影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 20 例，計 4 群の NZW ウサギに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，250，及び 450 mg/kg の用量で，雌ウサギの妊娠 7～20 日に反復経口投与した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に帝王切開し，剖検，子宮内検査，及び胎児検査（外表，内臓，及び骨格）を実施した。さらに，妊娠 20 日に全例から採血し TK 評価を行った。

本試験では，LNP023 投与に関連した死亡は認められなかった。一般状態の変化として，450 mg/kg/日群の 4 例で削痩がみられた。450 mg/kg/日群では妊娠 7～21 日に体重増加量の低値，投与期間中に摂餌量の低値が認められた。250 mg/kg/日群でも摂餌量の低値がみられたが，体重増加量の変化が認められないことから，毒性変化ではないと考えられた。

剖検では，450 mg/kg/日群の 1 例に削痩が認められた。この母動物には生存胎児が確認され，吸収胚は認められなかった。LNP023 投与群の妊娠動物数に差はみられず，子宮内検査では着床前及び着床後胚死亡率，並びに性比に LNP023 投与の影響は認められなかった。450 mg/kg/日群では胎児体重の低値がみられた。母動物の体重及び摂餌量の低値に関連した変化であり，変化の程度が小さく，毒性学的意義のある胎児の異常がみられていないことから毒性変化ではないと考えられた。胎児検査では，LNP023 投与に関連した胎児の異常及び変異は認められなかった。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 6-3）。

以上のとおり，450 mg/kg/日群の母動物で体重増加量及び摂餌量の低値がみられたが，胎児の発生には LNP023 投与の影響が認められなかったことから，本試験の母動物における無毒性量は 250 mg/kg/日であり，胎児に対する無毒性量は 450 mg/kg/日と考えられた。

Table 6-3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	妊娠 20 日	51800	5900	3
250	妊娠 20 日	153000	15000	3
450	妊娠 20 日	400000	30600	7

Source: Table 2.6.7.13C-1670323

6.3 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

本試験[Table 2.6.7.14-1770878]は，ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に対する LNP023 の影響を検討することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 22 例，計 4 群の Wistar Hannover 系ラットに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で，雌ラットの妊娠 6 日から授乳 21 日まで反復経口投与した。母動物の一般状態観察，体重及び摂餌量測定，分娩状態及び哺育状況の観察を行い，出生児の離乳後又は妊娠 26 日（非分娩動物）に剖検した。出生児については出生児数及び性比を観察し，生後 4 日に母動物 1 例あたりの同腹児数を 8 例（雌雄各 4 例）に調整した。その後，一般状態観察及び体重測定を行い，身体的発達，性成熟，感覚機能，運動機能，学習・記憶機能を評価した。F1 児の生殖機能評価として，約 10～11 週齢の時点で同群内の雌雄を交配させ，妊娠 13 日に帝王切開し，剖検及び子宮内検査を実施した。

本試験では LNP023 投与に関連した死亡は認められなかった。1000 mg/kg/日群では妊娠 13 日に雌 1 例が死亡し，妊娠 8 日に雌 1 例を一般状態不良のため安楽死処分したが，剖検の結果，いずれも投与過誤が原因と考えられた。100 mg/kg/日群の雌 1 例が妊娠 11 日に死亡したが，剖検で死亡原因を明らかにすることはできなかった。しかしながら，LNP023 投与との関連を示唆する変化がみられなかったことから，偶発的死亡と考えた。対照群の雌 1 例を妊娠 15 日に一般状態不良のため安楽死処分したが，剖検から投与過誤が原因と考えられた。生存例の一般状態及び体重に LNP023 投与の影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群では摂餌量の低値がみられたが，毒性変化ではないと判断した。分娩状態及び哺育状況に異常は認められなかった。F1 児の自発運動量測定では，すべての LNP023 投与群で自発運動量パラメータの低値が認められたが，F1 児の他のパラメータに変化がみられなかったことから毒性変化ではないと考えられた。

以上のとおり，LNP023 をラットの妊娠 6 日から授乳 21 日まで投与した結果，母動物及び F1 児に LNP023 投与の影響がみられなかったことから，本試験の無毒性量は母動物及び F1 児ともに 1000 mg/kg/日と考えられた。

6.4 幼若イヌを用いた毒性試験

6.4.1 幼若イヌを用いた 8 週間反復投与用量設定試験

本試験[Table 2.6.7.15A-1770671]は，幼若イヌを用いた反復投与毒性試験の用量設定に必要な情報を得ることを目的として，GLP 非適用で実施した。1 群 4 又は 5 例，計 4 群の幼若ビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を，5，30，150，及び 300 mg/kg/日の用量で，生後 28 日又は 31 日から 8 週間反復経口投与した。さらに，1 群 6 例を媒体対照群として，媒体を 5 mL/kg の容量で同様に反復経口投与した。なお，LNP023 を 600 mg/kg/日の用量で雌 1 例に生後 29 日から 2 日間経口投与したが，忍容性が認められず生後 31 日に安楽死処分した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，剖検，骨形態計測，病理組織学的検査，及び TK 試験を実施した。

本試験では，600 mg/kg/日群の雌 1 例を 2 日間投与後に一般状態不良のため安楽死処分した。一般状態の変化として活動性低下，振戦，及び流涎がみられ，2 回目投与後に心拍数増加（268 beats/min）が認められた。剖検では異常は認められなかった。300 mg/kg/日以下の群では，死亡はみられず，一般状態，体重，摂餌量，及び臨床検査値への LNP023 投与の影響は認められなかった。心電図検査では，150 mg/kg/日以上の群で投与 2.5～3.5 時間後に RR 間隔短縮を伴う心拍数増加が認められた。心拍数増加は，Day 7 及び Week 8 の検査に比較して Day 2 で顕著であった。心電図検査における定性的評価で異常は認められなかった。

骨形態計測では，LNP023 投与群で大腿骨及び脛骨の長さに減少傾向がみられたが，各群の評価動物数が少なく，個体間の変動が大きかったことから，LNP023 投与との関連性を結論付けることはできなかった。剖検では，300 mg/kg/日群の雄 1 例の心臓に淡色巣が認められた。病理組織学的検査では，300 mg/kg/日群の雌雄の心臓で軽微から中等度の心筋（左心室及び心室中隔）変性／壊死，肺で肺胞に好酸性物質が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 による曝露が確認された（Table 6-4）。

以上のとおり，LNP023 を 600 mg/kg/日の用量で幼若イヌに投与した結果，忍容性はみられず，2 日間投与後に安楽死処分した。300 mg/kg/日までの用量で 8 週間反復経口投与した結果，150 mg/kg/日以上の群で心電図の変化（心拍数増加及び RR 間隔短縮）がみられ，300 mg/kg/日群では心臓及び肺で病理組織学的変化が認められた。

Table 6-4 幼若イヌを用いた用量設定試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
5	31	雄	42100	5200
		雌	43100	5470
		雌雄平均	42600	5330
	85	雄	25500	3640
		雌	30500	3470
		雌雄平均	28000	3550
30	28	雄	182000	22100
		雌	199000 [a]	24900 [a]
		雌雄平均	186000	22800
	82	雄	113000	20200
		雌	108000 [a]	9790 [a]
		雌雄平均	112000	17600
150	28	雄	749000 [a]	80600 [a]
		雌	781000	75300
		雌雄平均	775000	76400
	82	雄	568000 [a]	64100 [a]
		雌	716000	75800
		雌雄平均	686000	73500
300	28 or 31	雄	1400000	101000
		雌	1600000	126000
		雌雄平均	1520000	116000
	82 or 85	雄	1170000	158000
		雌	1280000	149000
		雌雄平均	1240000	152000
600	29	雌	2580000 [a]	179000 [a]

Source: Table 2.6.7.15A-1770671
a = 1 例の測定値

6.4.2 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験及び 27 週間回復性試験

本試験[Table 2.6.7.15B-1870009]は，LNP023 の幼若イヌにおける反復投与毒性及び回復性，並びに TK プロファイルを評価することを目的として，GLP 適用で実施した。8 週間用量設定試験において 300 mg/kg/日以上の群で心血管系の毒性変化がみられたことから，最高用量を 150 mg/kg/日に設定した。1 群雌雄各 5 例，計 4 群の幼若ビーグル犬に 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を，0（媒体），5，30，及び 150 mg/kg/日の用量で，生後 28 日（ヒトの 6 ヵ月齢から 1 歳相当）から 52 週間反復経口投与した。さらに，媒体対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 5 例を回復性試験群として設定し，投与期

間終了後 27 週間の休薬による回復性を検討した。本試験では，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，神経学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，ホルモン測定，心機能バイオマーカー（NT-proBNP）測定，骨髄塗抹標本検査，リンパ球イムノフェノタイピング，TDAR，器官重量測定，剖検，骨形態計測，精子検査，病理組織学的検査，電子顕微鏡検査，及び TK 試験を実施した。さらに，心筋細胞の病理組織形態計測（対照群及び高用量群），並びに血液，大腿骨骨髄，精巣，肝臓，及び腎臓の遺伝子発現解析を実施した。

本試験では LNP023 に関連した死亡は認められなかった。投与過誤による死亡が対照群及び 150 mg/kg/日群の各雄 1 例にみられ，対照群の雄 1 例を一般状態不良のため回復性試験中（生後 421 日）に安楽死処分した。生存例の一般状態の変化として，すべての LNP023 投与群で流涎が生後 29 日から，削痩が生後 91 日から投与期間中を通して認められた。体重，発育パラメータ（体長及び体高），摂餌量，眼科学的検査，神経学的検査，尿検査，TDAR，リンパ球フェノタイピング，骨髄塗抹標本検査，及び骨形態計測に LNP023 投与の影響はみられなかった。

心電図検査では，150 mg/kg/日群で Week 2，13，及び 52 の投与 2.5～3.5 時間後に軽度から中等度の心拍数増加及び RR 間隔短縮が認められた。これらの変化は可逆的であり，投与 24 時間後又は回復性試験終了時には認められなかった。QTc 間隔及び QRS 間隔への影響は認められなかった。

血液学的検査では，30 mg/kg/日以上の群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌で赤血球数，ヘモグロビン，及びヘマトクリットの低値，5 mg/kg/日以上の群の雄及び 30 mg/kg/日以上の群の雌で網状赤血球数の高値，30 mg/kg/日以上の群の雄で MCV の高値，150 mg/kg/日群で MCHC の低値及び少数の有核赤血球が認められた。血液凝固系の変化として，5 mg/kg/日以上の雄及び 30 mg/kg/日群の雌でフィブリノゲンの高値がみられたが，用量依存性及び経時的傾向が認められず，LNP023 投与との関連性は不明であった。血液生化学的検査では，150 mg/kg/日群の雄及び 5 mg/kg/日以上の群の雌で総ビリルビンの高値，150 mg/kg/日群の雌で尿素及びクレアチニンの高値，30 mg/kg/日以上の群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌でリンの高値，150 mg/kg/日群でカルシウムの高値が認められた。いずれの変化においても休薬による回復又は回復傾向が認められた。

ホルモン測定では，150 mg/kg/日群で Week 2 にアンドロステンジオン，テストステロン，及びジヒドロテストステロンの高値，Week 2 及び 4 に T3 の高値が認められた。アルドステロンに関しては，すべて定量下限未満であり LNP023 投与の影響は評価できなかった。コルチコステロン，11-デオキシコルチコステロン及びプロゲステロンに LNP023 投与の影響は認められなかった。心機能バイオマーカー測定では，30 mg/kg/日以上の群で NT-proBNP の高値傾向が認められた。

器官重量の変化として，150 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の群の雌で甲状腺及び心臓重量の高値，150 mg/kg/日群の雄で肝臓重量の高値及び前立腺重量の低値が認められたが，心臓，肝臓，及び前立腺で関連する病理組織学的変化は認められなかった。剖検では，150 mg/kg/日群の雌 1 例の心臓で淡色巣が認められた。病理組織学的検査では，150 mg/kg/日群の心臓で主に左

心室壁及び乳頭筋の線維化，心筋の変性／壊死，30 mg/kg/日群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌で心基部大動脈（大動脈流出路）の鉱質沈着（コッサ染色により確認），30 mg/kg/日以上の群の骨髄で造血亢進，30 mg/kg/日以上の群の雄及び 150 mg/kg/日群の雌の甲状腺で濾胞細胞肥大，150 mg/kg/日群の副腎で皮質球状帯空胞化，30 mg/kg/日以上の群の肝臓でクッパー細胞に色素沈着がみられた。クッパー細胞の色素沈着は，シュモール染色（リポフスチン）及びパール染色（ヘモジデリン）が陽性となり，ホール染色（ビリルビン）では陰性であった。心筋細胞の病理組織形態計測では，心筋細胞の直径又は密度に対照群との差はみられず，心筋細胞肥大がないことが示唆された。雄性生殖器の変化として，30 mg/kg/日以上の群で精巣の精子形成低下，150 mg/kg/日群の精巣上体管腔で細胞残屑が認められた。27 週間回復性試験終了時には，器官重量の変化として，150 mg/kg/日群の雌雄で甲状腺／上皮小体重量の高値，雌で心臓重量の高値，及び雄で前立腺重量の低値がみられたが，いずれも関連する病理組織学的変化は認められなかった。病理組織学的検査では，150 mg/kg/日群の雌雄で心基部大動脈の鉱質沈着及び心臓線維化，雄で肝臓のクッパー細胞色素沈着が認められた。

TK 試験では，すべての LNP023 投与群で LNP023 の曝露が確認された（Table 6-5）。

以上のとおり，LNP023 を 150 mg/kg/日までの用量で，幼若ビーグル犬に生後 28 日から 52 週間反復経口投与した結果，150 mg/kg/日群で心拍数増加が認められた。5 mg/kg/日以上の群で臨床検査値の変動，30 mg/kg/日以上の群で精子形成への影響，30 mg/kg/日以上の群で器官重量，剖検，及び病理組織学的検査における変化（30 mg/kg/日以上の群で大動脈基部，肝臓，骨髄，甲状腺，心臓，及び精巣，150 mg/kg/日群で精巣上体，前立腺，及び副腎）が認められた。本試験の無毒性量は，30 mg/kg/日以上の群の雄で大動脈に鉱質沈着がみられたことから雄では 5 mg/kg/日，150 mg/kg/日群の雌で大動脈に鉱質沈着，心臓に心筋細胞変性を伴う線維化がみられたことから雌では 30 mg/kg/日と考えられた。しかしながら，本試験の曝露量に性差は認められず，心血管系の変化が性特異的変化ではない可能性を考慮し，無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/日が妥当と判断した。

Table 6-5　幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験の平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
5	生後 28 日	雄	39900	4040
		雌	36300	3950
		雌雄平均	38100	4000
	Week 13 (生後 117 日)	雄	35100	4370
		雌	35400	4650
		雌雄平均	35300	4510
	Week 52 (生後 390 日)	雄	50100	5950
		雌	46100	5780
		雌雄平均	48100	5870
30	生後 28 日	雄	226000	23500

用量 (mg/kg/日)	検査日	性	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
		雌	207000	23200
		雌雄平均	217000	23300
	Week 13	雄	163000	22700
	(生後 117 日)	雌	136000	20300
		雌雄平均	150000	21500
	Week 52	雄	182000	26200
	(生後 390 日)	雌	167000	26300
		雌雄平均	175000	26300
150	生後 28 日	雄	848000	77900
		雌	797000	73900
		雌雄平均	827000	76100
	Week 13	雄	811000	92100
	(生後 117 日)	雌	664000	73100
		雌雄平均	738000	82600
	Week 52	雄	841000	83100
	(生後 390 日)	雌	928000	92200
		雌雄平均	885000	87700

Source: Table 2.6.7.15B-1870009

7 局所刺激性試験

LNP023 の予定臨床投与経路は経口投与であり，各非臨床毒性試験において評価していることから，独立した局所刺激性試験は実施しなかった。非臨床毒性試験では，LNP023 投与に関連した胃腸管毒性は認められなかった。

8 その他の毒性試験

8.1 光毒性

LNP023 の光毒性評価として，*in vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験を実施した。

8.1.1 3T3 細胞を用いた光毒性試験

本試験[Table 2.6.7.17A-1315506]は，BALB/c マウス 3T3 線維芽細胞株を用いたニュートラルレッド（NR）取り込み法（3T3 NRU）により LNP023 の光毒性を検討することを目的として GLP 非適用で実施した。

LNP023 は太陽光の波長内（290～700 nm）で紫外線 B（UVB）及び紫外線 A（UVA）に対する光吸収を示す（290 nm におけるモル吸光係数（MEC）：7600 L/mol/cm）ことから，*in vitro* 光毒性評価を実施した。マウス 3T3 線維芽細胞を Hanks' Balanced Salt Solution（HBSS）で希釈した 1000 µM までの 8 濃度の LNP023 又は chlorpromazine-HCl（CPZ，陽性対照）で約 1 時間処理した

後，UVA 照射群には UVA を約 50 分間照射（5.0 ± 0.3 J/cm^2 UVA）し，非照射群は暗所に静置した。陰性対照群は 1% DMSO 含有 HBSS で処理後，同様に処置した。UVA 照射後，各プレートの HBSS を 10%ウシ新生児血清含有 Dulbecco's Modified Eagle Medium（DMEM）に置換し，20～22 時間培養した。細胞を NR 処理した後 NR を抽出し，分光光度計にて 540 nm で NR 抽出液の吸光度を測定した。

試験の結果，LNP023 の光毒性係数（PIF）は 7.0 であり，弱い光毒性を有することが示唆された。陽性対照（CPZ）では試験許容基準を満たす結果が得られ，本試験の妥当性が確認された。

8.1.2 マウスを用いた紫外線照射局所リンパ節アッセイ

本試験[Table 2.6.7.17A-1470564]は，マウスを用いた紫外線局所リンパ節アッセイ（UV-LLNA）によって LNP023 の光毒性を評価することを目的として，GLP 適用で実施した。1 群雌 6 例，計 7 群の BALB/cByJ 系マウスに 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 水溶液に懸濁した LNP023 を 0（媒体），100，300，及び 1000 mg/kg/日の用量で 3 日間反復経口投与した。1 群雌 6 例，計 2 群を陽性対照群として設定し，1% carboxymethylcellulose（CMC）水溶液に懸濁した sparfloxacin を 100 mg/kg/日の用量で経口投与した。LNP023 及び陽性対照を投与した UV 照射群に，投与 60～90 分後に疑似太陽光を用いて 10 J/cm^2 の UVA を照射した。さらに，TK 試験用動物として 1 群 9 例，計 3 群を設定し，LNP023 を 100，300，及び 1000 mg/kg の用量で 3 日間反復経口投与した。本試験では，投与期間中の一般状態，耳介及び尾の局所反応を観察し，Day 4 の剖検前に主試験動物から採血した。採血後，両耳介及び両耳介リンパ節，及び腹部皮膚を採取し重量を測定した。リンパ節から細胞浮遊液を調製し，自動セルカウンターを用いて総細胞数を計数した。

本試験条件下において，LNP023 の 1000 mg/kg/日までの用量で光毒性反応を示唆する変化は認められなかった。Day 1 及び 2 のみで，LNP023 投与群では UVA 照射動物の一部で一過性の紅斑が観察された。Day 3 及び 4 ではいずれの LNP023 投与群においても紅斑は認められなかった。さらに，100 及び 300 mg/kg/日群の UVA 照射動物で耳介重量の変動がみられたが，1000 mg/kg/日群の耳介重量に変化はなく，用量又は時間関連性が認められないことから，毒性学的意義は不明であった。

LNP023 の Cmax はすべての用量で投与 30～60 分後であり，投与 60～90 分後の UVA 照射の妥当性が確認された。100 mg/kg/日群の非照射動物を除いて，すべての LNP023 投与群で皮膚組織中に LNP023 が確認された。本試験の血漿中及び皮膚組織中の平均 TK パラメータをそれぞれ Table 8-1 及び Table 8-2 に示す。

以上のとおり，マウスを用いた UV-LLNA アッセイにおいて LNP023 を 1000 mg/kg/日までの用量で 3 日間反復経口投与した結果，明らかな光毒性を示唆する反応は認められなかった。

Table 8-1 UV-LLNA アッセイの血漿中平均 TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	検査日	動物数	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
100	3	3	32000	10400	0.500
300	3	3	127000	40500	1.00
1000	3	3	599000	155000	1.00

Source: Table 2.6.7.17A-1470564

Table 8-2 UV-LLNA アッセイの皮膚組織中及び血漿中 LNP023 濃度の比較

用量 (mg/kg/日)	検査日	群	動物数	組織中濃度 (ng/g)		血漿中濃度 (ng/mL)	濃度比 (組織 / 血漿)
				平均	S.D.		
100	4	5 (非照射)	6	0.00	0.00	0.00	NA
		6 (照射)	6	326	159	0.00	NA
300	4	7 (非照射)	6	52.7	107	19.5 [a]	NA
		8 (照射)	5	222	95.5	0.00	NA
1000	4	9 (非照射)	6	343	130	473	0.725
		10 (照射)	6	1520	759	288	5.28

Source: Table 2.6.7.17A-1470564

NA = 該当なし，S.D. = 標準偏差

a = 血漿中濃度は 6 例中 1 例のみに検出され，測定下限（100 ng/mL）をわずかに上回る濃度（117 ng/mL）であったため濃度比は算出しなかった。

8.2 免疫毒性試験

LNP023 の作用機序（FB 阻害）に関連したリスクとして，免疫調節及び易感染性が考えられる。実施した非臨床試験において LNP023 に関連した感染症は認められていないが，反復投与毒性試験における炎症性変化，特に高用量群のイヌの肝臓における炎症は潜在的な感染症により発現した可能性がある。

副次的薬理試験では，2 種類のげっ歯類モデルを用いて LNP023 の B 細胞応答に対する影響を評価した[2.6.2-3.2 項]。

マウス DNP-KLH モデルを用いた検討では，LNP023 を 30 及び 100 mg/kg b.i.d.の用量で経口投与した結果，一次応答及び二次応答のいずれにおいても DNP 特異的 IgM 抗体価又は IgG 抗体価への影響はみられなかった。ウェスタンブロットによる血漿中 C3 及び FB フラグメントの測定では，100 mg/kg b.i.d.投与群において強力な AP の阻害が確認された。脾臓細胞を用いたフローサイトメトリー解析において，T 細胞及び B 細胞集団，胚中心 B 細胞，濾胞性 T 細胞，CD138 陽性形質芽細胞，濾胞性 B 細胞及び辺縁帯 B 細胞の割合に変化はみられなかったことから，胚中心反応に影響はないことが示唆された。以上の結果から，LNP023 は DNP-KLH に対する B 細胞応答を抑制しないと考えられた。

ラットを用いたヒツジ赤血球（SRBC）に対する一次免疫応答評価はヒト T 細胞依存性抗体応答を予測する評価系とされ，アジュバントを必要としないことから DNP-KLH 投与モデルよりも B 細胞応答に対する影響を高感度に検出することができると考えられる。そこで，ラットに SRBC を投与したときの一次 T 細胞依存性 B 細胞応答に対する LNP023 の影響を評価した。LNP023 を 6，20，60，及び 120 mg/kg b.i.d の用量で経口投与した結果，90%以上の AP 阻害作用が 24 時間以上持続すると考えられる用量（20 mg/kg b.i.d.以上）においても，SRBC 特異的 IgM 抗体価への影響は認められなかった。

また，一般毒性試験の中で免疫細胞及びリンパ系器官の臨床検査及び病理組織学的検査により免疫毒性を評価した。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群で，腸間膜リンパ節，下顎リンパ節，及び脾臓のリンパ系細胞枯渇の発現頻度の増加がみられた（3.2.3 項）が，39 週間反復投与毒性試験（3.2.4 項）では認められなかった。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では，T 及び B リンパ球フェノタイピング，並びに脾臓及び腸間膜リンパ節の免疫組織化学検査（CD4，CD8，CD20，及び Ki67）では，対照群を含むすべての投与群で差は認められなかった。

さらに，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では TDAR を実施した（3.2.4 項）。液性免疫応答（IgM 及び IgG 抗体価）への影響として，LNP023 投与群の雌雄でキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）惹起後の一次応答に軽度の低下，LNP023 投与群の雌で KLH 惹起後の二次応答に軽微な低下が認められた。しかし，すべての用量において KLH に対する IgM 及び IgG 抗体の応答は保たれていると考えられた。

以上の副次的薬理試験成績及び免疫毒性評価を総合すると，LNP023 は獲得免疫に対して臨床的に意義のある作用を示さないと考えられた。

8.3 毒性発現機序検討試験

In vivo 試験で特定された主な標的器官毒性の発現機序を検討するために，*in vitro* 探索的試験を実施した。

8.3.1 ラット及びイヌの精細管を用いた *ex vivo* 精巣毒性試験

ラット及びイヌで認められた精巣毒性における LNP023 の直接作用を検討するために，ラット [Table 2.6.7.17B-DIS-R1720270] 及びイヌ [Table 2.6.7.17B-DIS-R1720277] の [redacted] を用いた *ex vivo* 試験を GLP 非適用で実施した。

[redacted] は初代培養精細管モデルであり，体細胞（主にセルトリ細胞）及び精子形成過程の各ステージにおける生殖細胞（精祖細胞，一次精母細胞，中期～後期パキテン期精母細胞，二次精母細胞，及び円形精子細胞）を含み，*in vitro* で円形精子細胞まで成熟する。約 3 週間培養し，LNP023 を 2，20，及び 200 µM の濃度で週 3 回添加した。

ラット及びイヌのモデルにおける LNP023 の作用は概ね同様であった [Table 2.6.7.17B-DIS-R1720270a]。これらの試験では，体細胞（主にセルトリ細胞）の増加及びセルトリ細胞特異的遺

伝子の調節がみられ，さらにギャップ及びタイトジャンクション機能，血液-精巣関門の機能，円形精子細胞数，及びアンドロゲンにより調節される円形精子細胞特異的遺伝子［TP1（TNP1），TP2（TNP2），PRM3］発現への影響がみられた。精子形成過程のうち LNP023 の影響がみられた過程は，セルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達に依存することが知られており（Smith and Walker 2014），アンドロゲンシグナル伝達の関与が推察された。大きく影響を受けた生殖細胞は二次精母細胞数及び円形精子細胞であったことから，LNP023 の作用はアンドロゲンシグナル伝達の抑制に関連した成熟遅延であることが示唆された。

以上のとおり，ラット及びイヌの初代培養精細管モデルを用いた試験結果から LNP023 の精巣への直接作用が確認され，セルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達が関与している可能性が示唆された。

8.3.2 アンドロゲン受容体及び甲状腺ホルモン受容体のレポーター活性に関する *in vitro* 試験

ラット及びイヌで認められた精巣及び甲状腺の病理組織学的変化に関連して，アンドロゲン及び甲状腺ホルモン受容体活性に対する LNP023 の直接作用を GLP 非適用試験により検討した。

アンドロゲン受容体（AR）及び甲状腺ホルモン受容体（TRα 及び TRβ）ルシフェラーゼレポーターアッセイを，3 濃度の異なるアゴニストを用いて LNP023 の 200 µM までの濃度で実施した[Table 2.6.7.17B-DIS-R1820225]。AR レポーターアッセイでは，アゴニストの 6α-Fl-Testosterone に対するアンドロゲン受容体活性に LNP023 処理に関連した変化はみられなかった。甲状腺ホルモン受容体レポーターアッセイでは，LNP023 の 80 µM（約 33760 ng/mL 相当，200 mg b.i.d.を投与したヒトにおける非結合型 Cmax である 763 ng/mL の約 44.2 倍）以上の濃度で，アゴニストの T3 に対する TRα 及び TRβ 受容体レポーター活性の濃度依存的低下が認められた。これらの低下は対照の−10%～−47%であり，生理学的意義のある低濃度の T3 と高濃度の LNP023 との組み合わせで最も顕著にみられた。

放射性リガンド結合アッセイ[Table 2.6.7.17B-RD-2019-00025]では，LNP023 の 100 µM までの濃度で，ラットの甲状腺ホルモン受容体（TRα 及び TRβ）への結合は認められなかった。

以上，本試験では甲状腺ホルモン受容体活性とラット及びイヌで認められた甲状腺の病理組織学的変化との関連性を明らかにできなかった。

8.3.3 精子形成におけるヒストンリジン脱メチル化酵素阻害作用に関する *in vitro* 試験

本試験[Table 2.6.7.17B-RD-2020-00447]，[Table 2.6.7.17B-RD-2020-00448]は，ヒストンリジン脱メチル化酵素 3A（JMJD1A，別名 JHDM2A 又は KDM3A）及び 3B（JMJD1B，別名 KDM3B）に対する LNP023 の阻害作用を検討する目的で，GLP 非適用で実施した。ヒストン脱メチル化酵素の KDM3 ファミリーは，抑制的な H3K9（ヒストン 3 の第 9 番目リジン）メチル化を脱メチル化することによりクロマチンの恒常性を調節し，精子形成（Okada et al. 2007）及び AR シグナル伝

達（Yamane et al. 2006）を調節することが報告されている。イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験（3.2.3 項，3.2.4 項）の精巣組織試料を用いたエピゲノム活性領域の探索的遺伝子発現解析により，SRY 及び SOX5 等の精巣決定因子のモチーフエンリッチメントが確認されたことから，KDM3A 活性上流を LNP023 が調節している可能性が考えられる。さらに，[redacted]（8.3.1 項）では，精子形成過程において KDM3A により調節される遺伝子 Tnp1（Okada et al. 2007）の LNP023 による調節が確認された。したがって，イヌで認められた精巣毒性の潜在的オフターゲット毒性として JMJD1A/KDM3A 及び JMJD1B/KDM3B を検討した。

これらの *in vitro* 試験では，LNP023 の 200 µM までの濃度で処理した結果，JMJD1A/KDM3A に対してのみ IC50 が 130 µM（54860 ng/mL，ヒト非結合型 Cmax である 763 ng/mL の 71.9 倍，雄イヌの最小毒性量 30 mg/kg/日における非結合型 Cmax である 13000 ng/mL の 4.2 倍）と算出された。LNP023 の JMJD1A/KDM3A 活性阻害における IC50 値が高値であることから，生体で関連する作用が発現する可能性は低いと考えられた。

8.3.4 甲状腺ペルオキシダーゼ活性に関する *in vitro* 試験

本試験[Table 2.6.7.17B-DIS-R1470567b]は，イヌでみられた甲状腺濾胞細胞肥大及び T4 低下に関連して，甲状腺ホルモン合成に関与する甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）活性に対する LNP023 の阻害作用を検討する目的で，GLP 非適用で実施した。

種々の濃度の LNP023 を用いて酵素反応混合液を作成し，TPO 阻害活性を評価した。TPO 阻害剤である 6-Propyl-2-thiouracil（6-PTU）を陽性対照として用いた。

試験の結果，LNP023 の 100 µM［42200 ng/mL に相当，5 mg/kg/日群のイヌにおける非結合型 Cmax の約 20 倍，予定臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト非結合型 Cmax の 55 倍］までの濃度でイヌの甲状腺ミクロソームにおける TPO 活性阻害は認められなかった。したがって，イヌで認められた甲状腺濾胞細胞肥大の発現は，LNP023 の TPO 阻害によるものではないと考えられた。

8.3.5 イヌ及びヒト骨髄由来の幹細胞及び前駆細胞における血液毒性に関する *in vitro* 試験

本試験は，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（3.2.4 項）の 1 例でみられた骨髄毒性に関連して，骨髄由来の幹細胞及び前駆細胞に対する LNP023 の細胞毒性の可能性について検討する目的で，GLP 非適用で実施した。

初めに[redacted]（浮遊細胞系培養）を使用して，LNP023 の造血に対する作用を検討した[Table 2.6.7.17B-1920024]。イヌの骨髄由来の単核細胞（MNC）を，顆粒球・赤血球・マクロファージ・巨核球系に分化する幹細胞（SC-GEMM），又は各系統に特異的な前駆細胞［赤芽球バースト形成細胞（P-BFU，赤血球前駆細胞）及び顆粒球・マクロファージ前駆細胞（P-GM）］に必要な成長因子の存在下又は非存在下で培養した。血液毒性は，SC-GEMM

幹細胞，又は P-BFU 及び P-GM 前駆細胞の増殖障害により判断した。本試験では，陰性対照としてオメプラゾール，陽性対照としてシクロヘキシミドを使用した。

LNP023 を 0.002～200 µM の 6 濃度で適用した結果，SC-GEMM 及び P-GM 増殖に対しては IC50 値を算出できなかったが，P-BFU 増殖に対しては用量反応曲線から IC50：3586 µM（約 1513 µg/mL に相当）を算出した。この数値は *in vivo* 毒性試験の成績と比較すると，非常に高濃度（ヒト総 Cmax の 367 倍超，150 mg/kg/日におけるイヌ総 Cmax の 20 倍超）であった。

次に，イヌ P-BFU 試料を用いて遺伝子発現プロファイリングを実施し，骨髄変化に関連する分子変化を検討した[Table 2.6.7.17B-DIS-R1920024a]。試験の結果，LNP023 の 0.2～200 µM 濃度では，イヌ P-BFU の転写プロファイルに明らかな変化はみられず，造血，細胞分化及び赤血球分化の調節，鉄代謝，ヘモグロビン合成，低酸素に対する酸素恒常性応答，並びに KDM1A 軸又は SOX6 軸の遺伝子シグネチャーに LNP023 に関連した影響は認められなかった。

さらに，成長因子／サイトカイン存在下で培養したイヌ（N＝3）及びヒト（N＝3）の骨髄由来 MNC の SC-GEMM 幹細胞，又は P-BFU 及び P-GM 前駆細胞の増殖に対する LNP023 の作用について同様の条件で検討した[Table 2.6.7.17B-2020007]。200 µM までの濃度で，イヌ由来細胞のいずれに対しても LNP023 の作用はみられず，ヒト SC-GEMM 及び P-BFU に対しても LNP023 の作用は認められなかった。ヒト P-GM に対しては高濃度の LNP023 で軽度の増殖抑制がみられ，2 名のドナー由来細胞に対する IC50 は 217 又は 226 µM（約 91574 又は 95373 ng/mL，予定臨床用量：200 mg b.i.d.における総ヒト Cmax の 22 倍超，ヒト非結合型 Cmax の 100 倍超）であった。さらに，ヒト及びイヌの P-BFU 試料を用いて遺伝子発現解析を実施し，骨髄の毒性変化に関連する分子変化を検討した[Table 2.6.7.17B-DIS-R2020007a]。その結果，LNP023 の 200 µM までの濃度でイヌ及びヒト P-BFU の転写プロファイルに明らかな作用はみられず，造血，細胞分化及び赤血球分化の調節，鉄代謝，ヘモグロビン合成，低酸素症に対する酸素恒常性応答の調節，並びに KDM1A 軸又は SOX6 軸の遺伝子シグネチャーに LNP023 に関連した影響は認められなかった。

以上のことから，イヌで骨髄毒性がみられた用量又は予定臨床用量（200 mg b.i.d.）に相当する濃度において，LNP023 に造血幹細胞及び前駆細胞に対する細胞毒性作用はないものと結論付けられた。

8.3.6 FB ノックアウトマウスにおける表現型検討

本試験[Table 2.6.7.17B-DIS-R1820037]は，FB ノックアウトマウスを用いて FB 欠損に起因した変化について検討することを目的として，GLP 非適用で実施した。雌雄の FB ノックアウトマウス（B6;129S4-Cfb<tm1Hrc>）から採取した甲状腺／上皮小体，精巣上体，前立腺，精嚢，精巣，卵巣，卵管，子宮頸部，子宮，膣，肺，肝臓／胆嚢，腎臓，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，及び直腸を検査し，野生型マウスと比較した。器官重量測定，剖検，及び病理組織学的検

査の結果，Mouse Genome Informatics (2023)に記述された表現型と一致しており，FB ノックアウトマウスと野生型マウスに差は認められなかった。

したがって，ラット及びイヌを用いた毒性試験で認められた LNP023 による毒性変化は，オンターゲット毒性ではなくオフターゲット毒性である可能性が考えられた。

8.4 依存性

中枢神経系への影響を示唆するオフターゲット作用がみられず，放射性標識体を用いた分布試験で脳への曝露量が少なく一過性であることから，依存性試験は実施しなかった。

8.5 代謝物の毒性試験

独立した代謝物の毒性試験は実施しなかった。

8.6 不純物の毒性試験

ICH Q3A 及びQ3B に基づくと，LNP023 の原薬及び製剤中の不純物のうち不純物AA,* 不純物Z,* 及び不純物T*の規格値は安全性確認が必要な閾値を上回る（Table 8-3）ことから，これらの不純物の安全性を評価した。

不純物AA*

不純物AA*は代謝物[redacted] と同一であり，ラット及びイヌにおいてヒトの[redacted] 倍（雌ラット）から[redacted] 倍（雄イヌ）までの曝露が確認されている[2.6.4-Table 11-2]。ICH Q3A による安全性確認の必要な閾値が0.15%であること，動物でヒトの2 倍以上の曝露が確認されたことから，[redacted]%までの安全性が確認されていると判断した。

イヌを用いた毒性試験の最小毒性量（30 mg/kg）投与時の不純物AA*の曝露量と，ヒトにおける代謝物由来及び不純物由来を合算した不純物AA*の曝露量の比較により，不純物AA*の安全性を評価した。代謝物の曝露量の比較において，イヌ150 mg/kg 投与時の不純物AA*の曝露量をヒト臨床用量における曝露量と比較すると，雄で[redacted] 倍，雌で[redacted] 倍であった[2.6.4-Table 11-2]。イヌ30 mg/kg/日投与時の代謝物の曝露量は測定していないため，150 mg/kg/日での安全域を5 で除すことにより30 mg/kg/日での安全域を推定した結果，雄では[redacted] 倍，雌では[redacted] 倍であった。ヒト臨床用量投与時の不純物AA*の曝露量データには代謝物由来のものと不純物由来のものが含まれると考えられることから，不純物由来と代謝物由来の不純物AA*に曝露された場合のヒトの安全性は担保されていると判断した。

臨床試験に使用した製剤における不純物不純物AA*の含有量はいずれも[redacted]%[redacted] であったことから，ヒトにおける代謝物プロファイルに基づいて[redacted]%までの不純物AA*の安全性を確認した。健康被験者に^{14}C-LNP023 を100 mg の用量で単回経口投与した結果，計7 つの薬物関連成分が尿中で同定された。最も多かったのはLNP023 であり，投与量の17.9%を占めた。最も多く認められた代謝物は[redacted]（不純物AA*）であり，投与量の3.82%を占めた（CLNP023A2101 試験）。したがって，ヒトに臨床用量（200 mg b.i.d.）で投与したときの代謝物由来不純物AA*は15.28 mg と推

定される。一方，不純物AA*が最大で[redacted]%含まれると仮定した時の最大不純物用量は[redacted] mg と推定される。不純物由来不純物AA*の用量は代謝物由来不純物AA*の1/10 を下回る値であったことから，毒性学的懸念を示すものではないと考えられる。

以上のことから，不純物AA*の規格を[redacted]%[redacted]と設定することは支持される。

不純物Z*及び 不純物T*

不純物Z*及び 不純物T*の安全性を，毒性試験に使用したバッチに含まれる量に基づいて評価した（Table 8-4）。最も感受性の高い動物種であるイヌでは，13 及び39 週間反復投与毒性試験の30 mg/kg/日以上の群で精巣毒性が認められ，無毒性量は 5 mg/kg/日と判断された。精巣毒性は軽度かつ回復性のある変化であったことから，最小毒性量である 30 mg/kg/日を用いて安全性を評価した。

不純物Z*はイヌを用いた39 週間反復投与毒性試験に使用したバッチに[redacted]%含まれることから，最小毒性量における不純物用量は0.03 mg/kg/日と算出された。一方，不純物Z*が最大で[redacted]%含まれると仮定したときのヒト不純物用量は[redacted] mg/kg/日と推定される。毒性試験における用量はヒト用量と同程度であることから，不純物Z*の[redacted]%までの安全性は確認されたと判断した。なお，不純物Z*は代謝物[redacted] と同一であり，ラット及びイヌにおいてヒトの[redacted] 倍（雌ラット及び雌イヌ），[redacted] 倍（雄イヌ），及び[redacted] 倍（雄ラット）の曝露が確認されている[2.6.4-Table 11-2]。

不純物T*はイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の使用バッチ中に[redacted]%，イヌを用いた13 週間反復投与毒性試験の使用バッチ中に[redacted]%含まれている。イヌを用いた4 週間反復投与毒性試験の無毒性量は精巣を含む複数の器官に対する毒性に基づいて50 mg/kg/日と判断されており，このときの不純物T*の用量は0.08 mg/kg/日と算出された。イヌを用いた13 週間反復投与毒性試験の最小毒性量における不純物T*の用量は，0.024 mg/kg/日と算出された。一方，不純物T*が最大で[redacted]%含まれると仮定したときのヒトにおける最大不純物用量は[redacted] mg/kg/日と推定される。毒性試験における用量は，ヒト用量と同程度又はそれを上回ることから，不純物T*の[redacted]%までの安全性は確認されたと判断した。

遺伝毒性

不純物T*の遺伝毒性については，遺伝毒性試験に用いたバッチ中の含有量から評価されたと考えられた。不純物AA*及び不純物Z*については代謝物と同一であることから，遺伝毒性試験において評価されたと判断した。

以上のことから，不純物AA*の[redacted]%，不純物Z*の[redacted]%，及び不純物T*の[redacted]%までの安全性は確認されたと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Table 8-3 原薬及び製剤中の不純物の規格値

不純物	規格値		安全性が確認された値
	原薬	製剤	
不純物AA*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
不純物Z*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
不純物T*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%

Table 8-4 不純物の毒性試験における用量及び推定ヒト最大用量

不純物	毒性試験	毒性試験に用いた原薬バッチ中の含有率	無毒性量／最小毒性量	無毒性量／最小毒性量における不純物の用量	ヒト最大用量[a]
不純物Z*	イヌ, 39 週間	[redacted]%	30 mg/kg	0.03 mg/kg/日	[redacted] mg/kg/日
不純物T*	イヌ, 4 週間, 遺伝毒性試験[b]	[redacted]%	50 mg/kg	0.08 mg/kg/日	[redacted] mg/kg/日
	イヌ, 13 週間	[redacted]%	30 mg/kg	0.024 mg/kg/日	

a = ヒト体重を 60 kg，不純物Z*及び不純物T*がそれぞれ[redacted]%及び[redacted]%含まれると仮定して算出した。

b = 細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒトリンパ球を用いた小核試験，及びラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（小核試験を含む）

ICH M7 ガイドラインに従い，LNP023 の不純物を（定量的）構造活性相関［(Q)SAR］法により評価した。相補的な二つの(Q)SAR 法として，専門的経験に基づくルールベース（Derek Nexus, Lhasa Ltd.）及び統計ベース（Case Ultra，MCASE Inc.及び Sarah Nexus，Lhasa Ltd.）の方法を使用した。

(Q)SAR 法による結果及び結論を，[Table 2.6.7.17C-2300074]に示す。(Q)SAR 予測により変異原性の警告構造を有する不純物のうち，製造工程で十分に除去されていない可能性のある不純物については，細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）の実施（[Table 2.6.7.17C-1912571], [Table 2.6.7.17C-2012513], [Table 2.6.7.17C-2012516], [Table 2.6.7.17C-1212590], [Table 2.6.7.17C-2012501] , [Table 2.6.7.17C-1612513] , [Table 2.6.7.17C-1612506] , [Table 2.6.7.17C-1012603] , [Table 2.6.7.17C-2012503], [Table 2.6.7.17C-1912577], [Table 2.6.7.17C-1912578], [Table 2.6.7.17C-1912579], [Table 2.6.7.17C-1912580], [Table 2.6.7.17C-1912589]）又はクラス 3 の変異原性不純物として扱うことにより対応した。Ames 試験の結果により *in silico* 予測結果を却下又は確定したため，Ames 試験結果のある不純物の(Q)SAR 予測結果は示していない。

十分な毒物試験成績のある不純物については，化合物特異的な許容限度値［許容 1 日曝露量（PDE）又は許容摂取量（AI）］を算出した。発がん性陽性データを有する変異原性不純物（ICH M7 クラス 1）については，AI を算出した[Table 2.6.7.17C-2300074-Table 2-2]。LNP023 の製造工程中の潜在的な不純物及び分解生成物である 不純物A*は，Ames 試験及びヒトリンパ球を

用いた小核試験で変異原性が認められたため，ICH M7 ガイドラインに従い，さらに*in vivo* 試験を実施した。

2 試験のAmes 試験（[Table 2.6.7.17C-1912581]，[Table 2.6.7.17C-2012508]）において，代謝活性化系非存在下及び存在下で不純物A*のネズミチフス菌TA98 株における変異原性が認められた。培養ヒト末梢血リンパ球を用いた*in vitro* 小核試験においても，代謝活性化系非存在下で24 時間処理＋24 時間回復により，不純物A*による小核発現頻度増加の誘発が認められた[Table 2.6.7.17D-2070174]。

さらに，*in vitro* 変異原性物質の*in vivo* への関連性を検討するための試験に関するICH M7 ガイドラインの推奨に従い，不純物A*のラットを用いた4 週間反復経口投与による末梢血赤血球における*in vivo* 遺伝子突然変異試験（*Pig-a* アッセイ）及び小核試験を実施し，遺伝毒性について評価した[Table 2.6.7.17E-2070173]。1 群雄6 例，計4 群のWistar Hannover 系ラットに，0.5% w/v methylcellulose + 0.1% Tween 80 水溶液に懸濁した不純物A*を0（媒体），31.25，62.50，及び125.0 mg/kg/日（試験条件下における最大耐量）の用量で，1 日1 回，4 週間反復経口投与した。試験の結果，成熟赤血球及び未熟網状赤血球のいずれにおいても，不純物A*による*Pig-a* 遺伝子突然変異及び小核発現頻度増加の誘発は認められなかった。したがって，不純物A*は*in vivo* で遺伝毒性を示す可能性はないものと考えられた。

以上のことから，不純物A*は非変異原性不純物であり，毒性試験成績に基づいた許容限度値である[redacted] ppm[redacted] で管理することが支持された。

8.7 労働衛生に関連した試験

労働衛生に関するハザード評価として，LNP023 の *in vitro* 皮膚刺激性試験及び *in vivo* 皮膚感作性試験を，GLP 適用で実施した。

三次元組織ヒト表皮モデル（EpiSkin™）を用いて，LNP023 の皮膚刺激性を *in vitro* で検討した[Table 2.6.7.17F-20253153]。10 mg の LNP023 を 15 分間局所適用し，培養 42 ± 1 時間後の細胞生存率の測定により皮膚刺激性を評価した。LNP023 適用後の細胞生存率は 50%を上回り，陰性対照と同等であった。以上のとおり，LNP023 は *in vitro* 皮膚刺激性試験で刺激性を示さなかった。

マウスを用いた局所リンパ節アッセイ（LLNA TIER I）により LNP023 の皮膚感作性について評価した[Table 2.6.7.17F-20253155]。1 群雌 6 例の Balb/c マウスの両耳介背部に，対照物質又は 0.2，2，及び 20%の LNP023 を 1 日 1 回，3 日間反復塗布し，最終投与 24 時間後に耳介リンパ節を採取した。耳介の観察，並びに耳介リンパ節のサイズ，体重，耳介重量，耳介リンパ節重量，及び細胞数の評価を実施した。試験の結果，LNP023 投与群では体重増加量の高値が認められたが，毒性学的意義は不明であった。LNP023 投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。耳介重量，リンパ節重量，及び細胞数に，LNP023 投与に関連した変化は認められなかった。以上のとおり，マウスを用いた LLNA TIER I において，LNP023 の感作性及び皮膚刺激性を示唆する変化は認められなかった。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

9 考察及び結論

FB はヒト血漿中に比較的多く存在する血漿蛋白である（200～300 mg/L，Silva et al. 2012，Zhang et al. 2014）。LNP023 の血漿蛋白結合は，検討したすべての動物種で濃度依存性を示した。これは特にヒト血漿中に多量に存在する FB との飽和結合によるものと考えられる[2.6.4-4.1 項]。このことを考慮して，ヒトの予定臨床用量（200 mg b.i.d.）における曝露量，並びにラット及びイヌの無毒性量／最小毒性量における曝露量の比較において，総 LNP023 濃度に加えて非結合型 LNP023 濃度を使用した。非結合型曝露量を用いて算出した安全域は，*in vivo* 又は *in vitro* 試験で認められたオフターゲット毒性に対して意義があると考える。

作用機序（FB 阻害）に関連した LNP023 のリスクとして免疫調節及び易感染性が考えられる。FB 変異を有する患者は，一般に健康であるが，莢膜性細菌感染に対する抵抗性は低下している（Slade et al. 2013）。FB 欠損マウスは健康で生殖能があり，大きな異常は報告されていない（Matsumoto et al. 1997，8.3.6 項）。いずれの非臨床試験においても LNP023 による感染症はみられていないが，イヌを用いた 13 及び 39 週間反復投与毒性試験の 150 mg/kg/日群の一部のイヌの肝臓で，炎症性変化として混合性炎症細胞浸潤及び肉芽腫，並びに細菌に対する防御に関連した遺伝子のアップレギュレーションが認められ，感染症の二次的変化である可能性が考えられた。さらに，14 日間反復投与による心血管系安全性薬理試験において，150 mg/kg/日群のテレメトリー装置埋植手術を受けた若齢イヌでフィブリノゲン増加，血小板減少，体温上昇，及び手術部位での炎症が認められており，LNP023 投与後の感染リスク増加により，感染症が惹起された可能性が考えられる[2.6.2-4.1.2.2.5 項]。一般毒性試験の一部として実施した免疫系の安全性評価では，LNP023 の免疫系に対する臨床的意義のある作用は認められなかった。腸間膜リンパ節，下顎リンパ節，及び脾臓のリンパ系細胞枯渇の発現頻度の増加は，イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群でみられたが，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では認められなかった。39 週間反復投与毒性試験で実施した TDAR では，いずれの LNP023 投与群においても KLH に対する液性免疫における影響（IgM 又は IgG 抗体価低下）は軽微であり，IgM 及び IgG 抗体の応答は保たれていると考えられた。

ラット（26 週間まで）及びイヌ（39 週間まで）を用いた反復投与毒性試験における主な毒性変化として，甲状腺濾胞細胞肥大（ラット及びイヌ），精巣の変化（イヌで高い感受性），及び血液／骨髄毒性（39 週間反復投与毒性試験のイヌ雄 1 例）が認められた。さらに，イヌを用いた短期反復投与毒性試験（2 及び 4 週間）の高用量（300 mg/kg/日以上）群では，心血管系の変化として心筋の変性及び線維化が認められた。FB ノックアウトマウス（Matsumoto et al. 1997，8.3.6 項），又は AP に遺伝子変異を有する患者（Skattum et al. 2011）では異常が報告されていないことから，これらの変化は LNP023 のオフターゲット作用により誘発された可能性が考えられる。しかしながら，毒性変化の原因と考えられるオフターゲット結合及び毒性発現機序を完全に解明することはできなかった。

イヌを用いた 4，13，及び 39 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上の群において，精巣の精細管変性及び精巣上体の細胞残屑が一貫して認められた。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では 500 mg/kg/日群の 1 例でみられたが，26 週間反復投与毒性試験では高用量の 750 mg/kg/日まで認められなかった。この変化の重症度は軽微から軽度であり，投与期間の長期化による重症度の悪化はみられず，精子検査（ラット及びイヌ）又は雄授胎能（ラット）に毒性学的意義のある変化は認められなかった。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では，27 週間の休薬により完全な回復が認められたが，より短期間の 4 又は 8 週間の休薬では，病理組織学的変化の重症度に回復傾向がみられたのみであった。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験における 8 週間回復性試験終了時には，精巣の精細管変性は認められなかった。両動物種における生殖器重量の変化及びアンドロゲンの軽微な増加傾向から代償性ホルモン応答が示唆され，これにより精巣における変化の悪化が抑制された可能性が考えられる。ラット及びイヌの初代培養精細管モデルを用いた *ex vivo* 試験では，精子形成過程における LNP023 の直接作用としてセルトリ細胞を介したアンドロゲンシグナル伝達に対する影響が示唆された。精子形成における下垂体-精巣軸の内分泌を介した影響は，げっ歯類に比較してイヌで感受性が高く，イヌでは最終段階の精子形成への影響がより顕著であり，より早期に発現することが報告されている（Ramaswamy and Weinbauer 2014）。AR レポーターアッセイ又は *in vitro* 探索的試験において意義のあるオフターゲット作用が認められなかったため，精巣の変化の主な原因は完全には解明できなかった。精子形成に関与する遺伝子のホルモン依存性転写活性化に関与する酵素である JMJD1A/KDM3A（Okada et al. 2007，Yamane et al. 2006）阻害の可能性を完全に除外することはできないが，IC50 値が高いことからヒトへの外挿性は低いと考えられた。FB ノックアウトマウスモデル（Matsumoto et al. 1997，8.3.6 項），又は AP の遺伝子変異を有する患者（Skattum et al. 2011）において，生殖能力の明らかな異常は報告されていない。臨床試験では生殖ホルモンの検査を実施しており，臨床的意義のある経時的な変化は認められなかった。これらは可逆的で軽度の変化であり，授胎能への影響は予想されないことから，最も感受性の高い動物種（イヌ）における最小毒性量を安全域の算出に使用した。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の雄の無毒性量である 5 mg/kg/日及び最小毒性量である 30 mg/kg/日における総 LNP023 曝露量（AUC0-24h）を臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量と比較すると，安全域はそれぞれ 0.8 及び 3.6 と算出された（Table 9-1）。オフターゲット毒性の可能性を考慮して非結合型 LNP023 曝露量で比較した場合の安全域は，無毒性量で約 1.8 倍，最小毒性量で 11.3 倍と算出された（Table 9-2）。以上のデータを総合すると，非臨床試験で認められた精巣毒性の臨床用量におけるヒトへの外挿性は低いものと考えられた。

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では，投与期間終了時の 150 mg/kg/日群の雄 1 例に中等度の低再生性貧血がみられ，休薬期間中に重度の非再生性貧血へと進行し，早期試験終了に至った。主な病理組織学的変化として骨髄で高度の線維化がみられ，骨髄塗抹標本検査では赤血球形成異常が認められた。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，150 mg/kg/日群の雄 1 例に軽

度の貧血がみられ，骨髄塗抹標本検査では赤血球形成低下がみられたが，骨髄の病理組織学的変化は認められなかった。LNP023 の作用機序（FB 阻害）から骨髄に対する作用は予測されない。さらに，イヌ又はヒトの骨髄由来の幹細胞及び前駆細胞を用いた *in vitro* 探索的試験では LNP023 による血液毒性は認められず，イヌにおける骨髄毒性の発現機序は明らかにできなかった。イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験における骨髄毒性は高曝露量で認められており，総 AUC0-24h で比較すると臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量の約 14.3 倍（非結合型 AUC0-24h での比較では約 49.3 倍）であり，患者における発現リスクは低いと考えられた。骨髄／血液学的変化に対する無毒性量（30 mg/kg/日）における総 AUC0-24h での比較では，安全域は約 3.3 倍（非結合型 AUC0-24h では約 10.4 倍）が算出された（Table 9-1）。他の腎疾患患者を対象とした臨床試験では赤血球数又はヘモグロビンに対する影響はみられず，PNH 患者では溶血により減少していた赤血球数が概ね正常値まで増加した。以上のことから，イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の雄 1 例で認められた重篤な骨髄毒性は，予定臨床用量（200 mg b.i.d.）においてヒトで発現する可能性は低いと考えられた。

LNP023 のラット及びイヌを用いた毒性試験では，一貫して甲状腺濾胞細胞肥大が発現し，甲状腺重量の増加及び軽度で一過性の甲状腺ホルモンの変化も認められた。これらの変化は，短期反復投与毒性試験では毒性変化とみなされた。しかしながら，長期反復投与毒性試験で重症度の悪化はみられず，休薬による回復性が確認され，甲状腺機能低下又は甲状腺機能亢進を示唆する一般状態の変化も認められなかった。したがって，長期反復投与毒性試験では高用量（ラットでは 750 mg/kg/日，イヌでは 150 mg/kg/日）においても甲状腺の変化を毒性とは判断しなかった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験における甲状腺ホルモン測定において，時に T4 低下を伴う一過性の T3 上昇が認められ，末梢における軽微な甲状腺ホルモン不応の可能性が考えられた。*In vitro* 毒性発現機序検討試験では，LNP023 の 80 µM（臨床用量における非結合型 Cmax の約 44 倍）以上の濃度で，アゴニストの T3 に対する TRα 及び TRβ 受容体レポーター活性の濃度依存的低下が認められ，高曝露では甲状腺受容体シグナル伝達に干渉する可能性が示唆された。甲状腺ホルモン受容体（TRα 及び TRβ）に対する直接結合及びその他の関連するオフターゲット作用は認められなかった。臨床試験では甲状腺ホルモン測定を実施しており，臨床的意義のある経時的な変化は認められていない。したがって，ヒト甲状腺に対するリスクは低いと考えられる。

イヌを用いた 2 及び 4 週間反復投与毒性試験の高用量群（それぞれ 1000 及び 300 mg/kg/日），並びに幼若イヌを用いた 8 及び 52 週間反復投与毒性試験の高用量群（それぞれ 300 及び 150 mg/kg/日）において，心臓乳頭筋で心筋細胞の変性／壊死及び炎症性細胞浸潤を特徴とする心筋細胞変性が認められた。イヌの左心室乳頭筋は虚血に対して高感受性であることから（Harleman et al. 1986），これらは高用量群の投与終了時にみられた持続的な心拍数増加に起因した虚血に関連した変化である可能性が考えられた。イヌと同様の曝露量を示すラット及びサルでは心拍数の変化はみられず[2.6.2-4.1.2 項]，第 I 相臨床試験の心電図検査でも LNP023 に関連した影響は認められなかった[2.7.6-3.1.1 項]。イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の高用量

（300 mg/kg/日）群の総曝露量（AUC0-24h）は臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量の約 39 倍であることから，患者におけるリスクは低いと考える。

ラット及びイヌで総ビリルビンの高値が認められた。この変化は，ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では 100 mg/kg/日以上の群，26 週間反復投与毒性試験では 750 mg/kg/日群でみられたが，いずれも関連する病理組織学的変化は認められなかった。イヌでは，2 及び 4 週間反復投与毒性試験の 15 mg/kg/日以上の群でみられ，関連する病理組織学的変化として 300 mg/kg/日群の肝臓で胆管過形成及びクッパー細胞の色素沈着が認められた。また，ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では，それぞれ 300 mg/kg/日以上及び 50 mg/kg/日以上の群で蛋白尿がみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。

150 mg/kg/日群の成熟イヌ 1 例の骨髄毒性，300 mg/kg/日群の成熟イヌ及び 150 mg/kg/日群の幼若イヌの心臓線維化を除くすべての毒性変化について，休薬による回復又は回復傾向が認められた。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，LNP023 の変異原性及び染色体異常誘発性は認められなかった。

マウス及びラットを用いたがん原性試験で，LNP023 にがん原性は認められなかった。rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験では，生存率への影響は認められず，がん原性を示唆する変化は認められなかった。高用量の 1000 mg/kg/日における曝露量を臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量と比較すると，総 Cmax で 18.4 倍，総 AUC0-24h で 4.4 倍であった。ラットを用いた 104 週間がん原性試験においても，LNP023 に起因した死亡率増加はみられず，がん原性を示唆する変化は認められなかった。LNP023 投与に関連した非腫瘍性病変として，甲状腺濾胞細胞肥大の用量依存的な増加，びまん性 C 細胞過形成，及び肝細胞空胞化の発現頻度及び重症度の軽度の増加が認められた。高用量の 750 mg/kg/日における曝露量を臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量と比較すると，総 Cmax で 19.0 倍，総 AUC0-24h で 12.1 倍であった（Table 9-1）。非結合型曝露量の比較では，Cmax で約 59.2 倍，AUC0-24h で約 43.9 倍であった（Table 9-2）。

雄ラットを用いた授胎能試験では，高用量の 750 mg/kg/日（臨床用量におけるヒト曝露量と比較して，総 AUC0-24h で約 5.8 倍，非結合型 AUC0-24h で約 19.5 倍）群においても精巣及び精巣上体に病理組織学的変化はみられず，精子検査で異常は認められなかった。雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では，高用量である 1000 mg/kg/日群で着床前及び着床後胚死亡率の増加が認められた。受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられ，臨床用量における曝露量と比較すると総 AUC0-24h を用いた安全域は 2.4 倍（非結合型 AUC0-24h では約 6.9 倍）であった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の同用量，及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の同等以上の用量で胚・胎児毒性がみられなかったことから，これらの変化は母動物の着床に対する影響である可能性が考えられた。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験，並びにウサギを用いた

胚・胎児発生に関する試験では，いずれの用量においても LNP023 に関連した胎児の毒性変化は認められなかった。ウサギにおける母動物毒性としては，体重増加量及び摂餌量の低値が 450 mg/kg/日群のみで認められ，母動物毒性に対する無毒性量は 250 mg/kg/日と考えられた（予定臨床用量におけるヒト総 AUC0-24h と比較すると 3 倍）。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，いずれも最高用量が胎児毒性に対する無毒性量と考えられ，AUC0-24h による曝露量の比較ではラットで 5.4 倍（非結合型 AUC0-24h では 18.1 倍），ウサギで 7.8 倍であった。さらに，出生前及び出生後の発生に関する試験では，高用量である 1000 mg/kg/日群においても母動物及び出生児の発生への影響は認められなかった。臨床用量と比較すると，総 AUC0-24h における曝露量比は 5.4 倍（非結合型 AUC0-24h では 18.1 倍）であった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，LNP023 の催奇形性は認められなかった。

LNP023 の小児患者における臨床使用を支持するために，最も感受性の高い動物種であるイヌを選択し，幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験を実施した。主な毒性標的器官として，成熟イヌを用いた毒性試験と同様の曝露量で精巣及び甲状腺が特定された。しかし，30 mg/kg/日以上の群で，投与期間終了時に成熟イヌでは認められなかった心臓重量の高値及び大動脈の鉱質沈着が認められた。心臓重量の変化は，27 週間の休薬により雄では回復がみられたが，150 mg/kg/日群の雌では回復が認められなかった。27 週間回復性試験終了時にも 150 mg/kg/日群の雌雄で大動脈基部の鉱質沈着が認められた。幼若動物における無毒性量は 5 mg/kg/日と考えられ，予定臨床用量におけるヒト曝露量と比較すると総 AUC0-24h では約 0.9 倍（Table 9-1），非結合型 AUC0-24h では約 2.4 倍（Table 9-2）であった。

心血管系に対する LNP023 の作用には，成熟イヌと幼若イヌで差異が認められた。成熟イヌでは，15 mg/kg/日以上の群で心拍数の増加が認められたが，反復投与により減弱したことから適応性反応が示唆された。高用量を投与された成熟イヌ（2 及び 4 週間反復投与毒性試験の 300 mg/kg/日以上の群）では，病理組織学的変化として心筋細胞の変性／壊死及び回復性試験における心筋の線維化が認められ，高用量群における持続的頻脈の二次的変化と考えられた。幼若イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験では，30 mg/kg/日以上の群で心臓重量の高値及び大動脈基部の鉱質沈着がみられ，150 mg/kg/日群で持続的な心拍数増加及び心筋線維化／変性が認められた。幼若イヌで認められた変化の発現機序検討を目的として，幼若及び若齢成熟イヌを用いた 14 日間反復投与による心血管系安全性薬理試験を実施した[2.6.2-4.1.2.2.5 項]。試験の結果，成熟イヌと比較して幼若イヌでは LNP023 による心血管系への作用に対する感受性が高いことが確認された。また，イヌでは大動脈基部の鉱質沈着が正常動物でも認められるとの報告があり，対照群でも認められていることから，大動脈鉱質沈着はイヌに特異的な変化である可能性が考えられた。

ヒトを含むすべての動物種において，心血管系の構造的及び機能的な発達は出生後に起こることが知られている（Hew and Keller 2003）。未成熟な心血管系の特徴として，収縮性心筋ユニットと非収縮性心筋ユニットの比率（幼若イヌで低い），心筋細胞の大きさ（幼若イヌで小さい），

出生後の筋フィラメントの未熟なサルコメア構築等が知られており，これらの特徴は薬物に対する心血管系の応答に影響を及ぼす可能性がある。さらに，心筋及び血管系の交感神経支配は，出生から生後 2～4 ヵ月までのイヌでは不完全である（Driscoll et al. 1981，Vandenberg et al. 1990，Hew and Keller 2003）。このような特徴により，成熟動物と比較して幼若動物では，心血管系に作用する薬剤に対する心臓の適応性反応が低い可能性が考えられる（Romero and Friedman 1979，Seidel and Allen 1979，Driscoll et al. 1980，Park et al. 1980，Driscoll et al. 1981，Gibson et al. 1981，Bhatt-Mehta and Nahata 1989）。

In vitro 及び *in vivo* 光毒性試験では，LNP023 はヒトにおける光毒性の弱い潜在的リスクを有することが示唆された。

全身曝露量比の比較

反復投与毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験の無毒性量／最小毒性量における曝露量と，予定臨床用量（200 mg b.i.d.）におけるヒト曝露量[2.7.2-2.2.2 項]とを比較した。LNP023 の総曝露量及び推定された非結合型曝露量を用いて安全域を算出した（[2.6.4-4.1 項]，Table 9-1 及び Table 9-2）。

Table 9-1　毒性試験の無毒性量／最小毒性量における総曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較

動物種／試験の種類 (試験番号)	用量 [a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中総 LNP023 濃度			
				AUC0-24h [b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax [c, d] (ng/mL)	安全域
ヒト	200 mg b.i.d.	雌雄	NA	51200	NA	4120	NA
ラット, 26 週間 (1570193)	750	雄	無毒性量	295000	5.8	63900	15.5
		雌	無毒性量	369000	7.2	65200	15.8
		雌雄	無毒性量	332000	6.5	64500	15.7
イヌ, 39 週間 (1570192)	5	雄	無毒性量	39300	0.8	4580	1.1
	30	雌	無毒性量	155000	3.0	21000	5.1
	30	雄	最小毒性量 (精巣毒性)	183000	3.6	25000	6.1
	30	雌雄	最小毒性量／無毒性量	169000	3.3	23000	5.6
	150	雄	最小毒性量 (骨髄毒性)	840000	16.4	88200	21.4
		雌		628000	12.3	65900	16.0
		雌雄		734000	14.3	77000	18.7
マウス, rasH2 Tg, 26 週間がん原性 (1770876)	1000	雌雄	無毒性量 (がん原性)	227000	4.4	75900	18.4

動物種／試験の種類 (試験番号)	用量 [a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中総 LNP023 濃度			
				AUC0-24h [b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax [c, d] (ng/mL)	安全域
ラット, 104 週間がん原性 (1770877)	750	雌雄	無毒性量 (がん原性)	620000	12.1	78100	19.0
ラット, 雄授胎能 (1870193) [e]	750	雄	無毒性量	295000	5.8	63900	15.5
ラット, 雌受胎能 (1770670) [f]	300	雌	無毒性量	123000	2.4	22700	5.5
ラット, EFD (1670321)	1000	雌	無毒性量	278000	5.4	36000	8.7
ウサギ, EFD (1670323)	250	雌	無毒性量 (母動物毒性)	153000	3.0	15000	3.6
	450	雌	無毒性量 (胎児毒性)	400000	7.8	30600	7.4
ラット, PPND (1770878) [f]	1000	雌	無毒性量	278000	5.4	36000	8.7
幼若イヌ, 52 週間 (1870009)	5	雌雄	無毒性量	48100	0.9	5870	1.4

Source: Table 2.6.7.7C-1570193，Table 2.6.7.7F-1570192，Table 2.6.7.10D-1770876，Table 2.6.7.10A-1770877，Table 2.6.7.12A-1870193，Table 2.6.7.12B-1770670，Table 2.6.7.13A-1670321，Table 2.6.7.13C-1670323，Table 2.6.7.14-1770878，Table 2.6.7.15B-1870009

EFD = 胚・胎児発生，NA = 該当なし，PPND = 出生前及び出生後の発生

a = ヒト用量は 200 mg b.i.d.（400 mg/日）を示す。

b = 毒性試験では 1 日 1 回投与，ヒトでは 1 日 2 回投与における AUC0-24h。ヒトでは定常状態における AUC0-12h 値を 2 倍して使用した。

c = 曝露量（AUC，Cmax）は有効数字 3 桁に四捨五入した。総血漿中濃度は各試験の結果を使用した。

d = ヒト血漿中濃度は FIH 試験（CLNP023X2101 試験）の結果を使用した。

e = 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 1570193）から外挿した。

f = EFD 試験（試験番号 1670321）から外挿した。

Table 9-2 毒性試験の無毒性量／最小毒性量における非結合型曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との比較

動物種／試験の種類 (試験番号)	用量 [a] (mg/kg)	性	無毒性量／最小毒性量	血漿中非結合型 LNP023 濃度 AUC0-24h [b, c, d] (ng.h/mL)	安全域	Cmax [c, d] (ng/mL)	安全域
ヒト	200 b.i.d.	雌雄	NA	7810	NA	763	NA
ラット, 26 週間 (1570193)	750	雄	無毒性量	152000	19.5	36700	48.1
		雌	無毒性量	195000	25.0	37500	49.1
		雌雄	無毒性量	174000	22.3	37100	48.6
イヌ, 39 週間 (1570192)	5	雄	無毒性量	14200	1.8	2050	2.7
	30	雌	無毒性量	74300	9.5	10900	14.3
	30	雄	最小毒性量 (精巣毒性)	88500	11.3	13000	17.0
	30	雌雄	最小毒性量／無毒性量	81400	10.4	11900	15.6
	150	雄	最小毒性量 (骨髄毒性)	442000	56.6	47100	61.7
		雌		328000	42.0	35100	46.0
		雌雄		385000	49.3	41100	53.9
ラット, 104 週間がん原性 (1770877)	750	雌雄	無毒性量 (がん原性)	343000	43.9	45200	59.2
ラット, 雄授胎能 (1870193) [e]	750	雄	無毒性量	152000	19.5	36700	48.1
ラット, 雌受胎能 (1770670) [f]	300	雌	無毒性量	53800	6.9	12200	16.0
ラット, EFD (1670321)	1000	雌	無毒性量	141000	18.1	20100	26.3
ラット, PPND (1770878) [f]	1000	雌	無毒性量	141000	18.1	20100	26.3
幼若イヌ, 52 週間 (1870009)	5	雌雄	無毒性量	18500	2.4	2730	3.6

Source: Table 2.6.7.7C-1570193，Table 2.6.7.7F-1570192，Table 2.6.7.10A-1770877，Table 2.6.7.12A-1870193，Table 2.6.7.12B-1770670，Table 2.6.7.13A-1670321，Table 2.6.7.14-1770878，Table 2.6.7.15B-1870009

EFD = 胚・胎児発生，NA = 該当なし，PPND = 出生前及び出生後の発生

a = ヒト用量は 200 mg b.i.d.（400 mg/日）を示す。

b = 毒性試験では 1 日 1 回投与，ヒトでは 1 日 2 回投与における AUC0-24h。ヒトでは定常状態における AUC0-12h 値を 2 倍して使用した。

c = 曝露量（AUC，Cmax）は有効数字 3 桁に四捨五入した。非結合型濃度はモデリングの結果（DMPK R22004499）から推定した。

d = ヒト血漿中濃度は FIH 試験（CLNP023X2101 試験）の結果を使用した。

e = 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 1570193）から外挿した。

f = EFD 試験（試験番号 1670321）から外挿した。

以上のとおり，長期反復投与による主な毒性標的器官として，甲状腺，精巣，及び骨髄が特定された。毒性変化は休薬による回復性及び回復傾向が認められ，いずれも臨床でのモニターが可能と考えられる。LNP023 に遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。LNP023 に雄授胎能への影響はみられず，催奇形性も認められなかったが，ラットでは着床までの初期胚発生に対する影響が認められた。

以上，一連の非臨床毒性試験成績から，PNH 患者に対する LNP023 投与のベネフィット・リスクバランスは良好であり，添付文書案に規定した用法・用量での使用は支持されると判断した。

10 参考文献

Bhatt-Mehta V and Nahata MC (1989) Dopamine and dobutamine in pediatric therapy. Pharmacotherapy; 9(5):303-14.

Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, et al. (2018) Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse endocrine system. J Toxicol Pathol; 31(3 Suppl):1S-95S.

Damsch S, Eichenbaum G, Tonelli A, et al. (2011) Gavage-related reflux in rats: Identification, pathogenesis, and toxicological implications (Review). Toxicol Pathol; 39(2):348-60.

Driscoll DJ, Fukushige J, Hartley CJ, et al. (1981) The comparative hemodynamic effects of isoproterenol in chronically instrumented puppies and adult dogs. Dev Pharmacol Ther; 2(2):91-103.

Driscoll DJ, Gillette PC, Fukushige J, et al. (1980) Comparison of the cardiovascular action of isoproterenol, dopamine, and dobutamine in the neonatal and mature dog. Ped Cardiol; 1(4):307-14.

Ennulat D, Walker D, Clemo F, et al. (2010) Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induct on clinical pathology parameters in animals and man. Toxicol Pathol; 38:810-28.

Gibson R, Driscoll D, Gillette P, et al. (1981) The comparative electrophysiologic and hemodynamic effects of verapamil in puppies and adult dogs. Dev Pharmacol Ther; 2(2):104-16.

Harleman JH, Joseph EC, Eden RJ, et al. (1986) Cardiotoxicity of a new inotrope/vasodilator drug (SK&F 94120) in the dog. Arch Toxicol; 59(1):51-5.

Hew KW and Keller KA (2003) Postnatal anatomical and functional development of the heart: a species comparison. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol; 68(4):309-20.

Hutchins RG, Breitschwerdt EB, Cullen JM, et al. (2012) Limited yield of diagnoses of intrahepatic infectious causes of canine granulomatous hepatitis from archival liver tissue. J Vet Diagn Invest; 24(5):888-94.

Matsumoto M, Fukuda W, Circolo A, et al. (1997) Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. Proc Natl Acad Sci USA; 94(16):8720-5.

McClain RM (1989) The significance of hepatic microsomal enzyme induction and altered thyroid function in rats: implications for thyroid gland neoplasia. Toxicol Pathol; 17(2):294-306.

McClain RM, Levin AA, Posch R, et al. (1989) The effect of phenobarbital on the metabolism and excretion of thyroxine in rats. Toxicol Appl Pharmacol; 99:216-28.

Mouse Genome Informatics (2023) Cfb<tm1Hrc> Targeted Allele Detail MGI:1861129. Mouse Genome Database. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine (Internet) Available from: <http://www.informatics.jax.org/allele/MGI:1861129> (Accessed 23 February 2022)

Okada Y, Scott G, Ray MK, et al. (2007) Histone demethylase JHDM2A is critical for Tnp1 and Prm1 transcription and spermatogenesis. Nature; 450:119-23.

Park MK, Sheridan PH, Morgan WW, et al. (1980) Comparative inotropic response of newborn and adult rabbit papillary muscles to isoproterenol and calcium. Dev Pharmacol Ther; 1(1):70-82.

Ramaswamy S and Weinbauer GF (2014) Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone. Spermatogenesis; 4(2):e996025-1-15.

Romero TE and Friedman WF (1979) Limited left ventricular response to volume overload in the neonatal period: a comparative study with the adult animal. Pediat Res; 13(8):910-5.

Seidel CL and Allen JC (1979) Pharmacologic characteristics and actomyosin content of aorta from neonatal rats. Am J Physiol; 237(1):C81-6.

Silva AS, Teixeira AG, Bavia L, et al. (2012) Plasma levels of complement proteins from the alternative pathway in patients with age-related macular degeneration are independent of Complement Factor H Tyr^{402} His polymorphism. Mol Vis; 18:2288-99.

Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, et al. (2011) Complement deficiency states and associated infections. Mol Immunol; 48(14):1643-55.

Slade C, Bosco J, Unglik G, et al. (2013) Deficiency in complement factor B. N Engl J Med; 369(17):1667-9.

Smith LB and Walker WH (2014) The regulation of spermatogenesis by androgens. Semin Cell Dev Biol; 30:2-13.

Vandenberg BF, Kieso RA, Fox-Eastham K, et al. (1990) Effect of age on diastolic left ventricular filling at rest and during inotropic stimulation and acute systemic hypertension: experimental studies in conscious beagles. Am Heart J; 120(1):73-81.

Yamane K, Toumazou C, Tsukada Y, et al. (2006) JHDM2A, a JmjC-containing H3K9 demethylase, facilitates transcription activation by androgen receptor. Cell; 125(3):483-95.

Zhang Y, Nester CM, Martin B, et al. (2014) Defining the complement biomarker profile of C3 glomerulopathy. Clin J Am Soc Nephrol; 9:1876-82.

目　次

目　次 2
略号一覧 4
2.6.7.1 毒性試験一覧 5
2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験一覧表 18
2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表 20
2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物 25
2.6.7.5 単回投与毒性試験 28
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 29
2.6.7.7 反復投与毒性試験 34
2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 34
2.6.7.7B ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験 37
2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験 41
2.6.7.7D イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験 46
2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験 50
2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験 57
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 63
2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験（Miniscreen Ames test） 63
2.6.7.8B 細菌を用いた復帰突然変異試験 64
2.6.7.8C TK6 細胞を用いた小核試験 66
2.6.7.8D ヒトリンパ球を用いた小核試験 68
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 71
2.6.7.9A ラットを用いた *in vivo* 小核試験 71
2.6.7.10 がん原性試験 72
2.6.7.10A 長期がん原性試験 72
2.6.7.10B がん原性試験：最大耐量試験 90
2.6.7.10C がん原性試験：用量設定試験 91
2.6.7.10D 短・中期がん原性試験 92
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 109
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 110
2.6.7.12A ラットを用いた雄授胎能に関する試験 110
2.6.7.12B ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験 112
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 114
2.6.7.13A ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 114
2.6.7.13B ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験 117
2.6.7.13C ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 119
2.6.7.14 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 122

2.6.7.15A 幼若イヌを用いた 8 週間反復投与用量設定試験.....127
2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験.....128
2.6.7.16 局所刺激性試験.....139
2.6.7.17 その他の毒性試験.....140
2.6.7.17A その他の毒性試験：光毒性試験.....140
2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験.....141
2.6.7.17C その他の毒性試験：不純物の毒性試験.....146
2.6.7.17D その他の毒性試験：不純物 A* の *in vitro* 遺伝毒性試験.....149
2.6.7.17E その他の毒性試験：不純物 A* の *in vivo* 遺伝毒性試験.....152
2.6.7.17F その他の毒性試験：労働衛生に関連した試験.....155

＊新薬承認情報提供時に置き換え

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
AP	alternate complement pathway	補体第二経路
AUC	area under the serum concentration-time curve	血清中薬物濃度-時間曲線下面積
Cmax	maximum drug serum concentration	最高血清中薬物濃度
DRF	dose range finding	用量設定
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
FEED	fertility and early embryonic development	受胎能及び初期胚発生
GD××	gestation day ××	妊娠××日
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
LD××	lactation day ××	授乳××日
M / E	myeloid to erythroid	顆粒球／赤芽球
MNBN	micronucleated binucleate	小核を有する二核細胞
MN-NCE	micronucleated normochromatic erythrocyte	小核を有する正染性赤血球
MTD	maximum tolerable dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
P-BFU	progenitor cell burst forming unit	赤血球前駆細胞バースト形成細胞
PND××	post-natal day ××	生後××日
PP	post partum	生後
PPND	pre- and postnatal development	出生前及び出生後の発生
RET	reticulocytes	網状赤血球
T3	triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T4	thyroxine	サイロキシン
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体応答
TEM	transmission electron microscopy	走査型電子顕微鏡
TSH	thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UVA / Vis	ultra-violet A and visible light	紫外線 A 及び可視光

2.6.7.1 毒性試験一覧

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Single-dose toxicity:									
	Monkey, Cynomolgus	Oral (gavage)	Single rising dose	10, 50, 100, 300, 600	No	Novartis, USA	[1370389]	Yes	4.2.3.1-1
Repeated-dose toxicity:									
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	2-week	0, 100, 300, 1000	No	Novartis, USA	[1370303]	Yes	4.2.3.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	4-week + 4-week recovery	0, 100, 300, 1000	Yes	Novartis, USA	[1470568]	Yes	4.2.3.2-2.1
	(Gene expression; liver)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1470568]	NA	4.2.3.2-2.2
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	13-week + 8-week recovery	0, 50, 150 [b], 500 [c]	Yes	[redacted] UK	[1570195]	Yes	4.2.3.2-3
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	26-week + 27-week recovery	0, 50, 150, 750	Yes	[redacted] UK	[1570193]	Yes	4.2.3.2-4
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	2-week	0, 100, 300, 1000	No	[redacted] UK	[1470220]	Yes	4.2.3.2-5.1
	(Gene expression; heart)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1470220]	NA	4.2.3.2-5.2

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Repeated-dose toxicity (cont.):									
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	4-week + 4-week recovery	0, 15, 50, 300	Yes	Novartis, USA	[1470567]	Yes	4.2.3.2-6.1
	(Gene expression; thyroid and liver)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1470567]	NA	4.2.3.2-6.2
	(Gene expression; heart)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1470567c]	NA	4.2.3.2-6.3
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	13-week + 8-week recovery	0, 5 [b], 30 [c], 150	Yes	[redacted] UK	[1570194]	Yes	4.2.3.2-7.1
	(Transcription factor; testis)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1570194b]	NA	4.2.3.2-7.2
	(Bone marrow smear evaluation)	NA	NA	NA	Yes	[redacted] UK	[1920095]	NA	4.2.3.2-7.3
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	39-week + 27-week recovery	0, 5 [b], 30 [c], 150	Yes	[redacted] UK	[1570192]	Yes	4.2.3.2-8.1
	(Transcription factor; testis)	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1570192e]	NA	4.2.3.2-8.2

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Genotoxicity:									
Miniscreen Ames test	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	5, 15, 50, 150, 500 µg/well	No	Novartis, Switzerland	[1313007]	NA	4.2.3.3.1-1
Bacterial reverse mutation assay	Salmonella typhimurium	*In vitro*	NA	5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	Yes	[redacted] UK	[1470563]	NA	4.2.3.3.1-2
Miconucleus test	TK6 cells	*In vitro*	NA	0, 125, 250, 500 µg/mL	No	Novartis, Switzerland	[1314004]	NA	4.2.3.3.1-3
Human lymphocyte micronucleus assay	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	NA	0, 300, 400, 459 µg/mL	Yes	[redacted] UK	[1470562]	NA	4.2.3.3.1-4
Micronucleus test	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	4-week + 4-week recovery	0, 100, 300, 1000	Yes	Novartis, Switzerland	[1470568]	Yes	4.2.3.2-2.1
Carcinogenicity:									
Long term study	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	104-week	0, 150, 300, 750	Yes	[redacted] UK	[1770877]	Yes	4.2.3.4.1-1
MTD	Mouse, Wild type RasH2	Oral (gavage)	7-day	0, 150, 500, 1000	No	[redacted] UK	[2070102]	No	4.2.3.4.3-1
DRF	Mouse, Wild type RasH2	Oral (gavage)	28-day	0, 150, 500, 1000	No	[redacted] UK	[1770875]	Yes	4.2.3.4.3-2
Short term study	Mouse, RasH2 tg/wt (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)	Oral (gavage)	26-week	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] UK	[1770876]	Yes	4.2.3.4.2-1

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Reproductive and development toxicity:									
Male fertility study	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	Up to 116 days (13 weeks prior to pairing, during pairing and the day prior to necropsy)	0, 50, 150, 750	Yes	[redacted] UK	[1870193]	No	4.2.3.5.1-1
Fertility and early embryonic development (FEED)	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	Up to 35 days (2 weeks prior to pairing, during pairing and up to GD 6)	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] UK	[1770670]	No	4.2.3.5.1-2
Embryo fetal development (EFD)	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	GD 6 to GD 17	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] UK	[1670321]	Yes	4.2.3.5.2-1
Combined preliminary DRF EFD study	Rabbit, New Zealand White	Oral (gavage)	GD 7 to GD 20	0, 50, 300, 600	Yes	[redacted] UK	[1670322]	Yes	4.2.3.5.2-2
EFD study	Rabbit, New Zealand White	Oral (gavage)	GD 7 to GD 20	0, 100, 250 [d], 450 [e]	Yes	[redacted] UK	[1670323]	Yes	4.2.3.5.2-3
Pre-and Postnatal development (PPND)	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	GD 6 to LD 21	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] UK	[1770878]	No	4.2.3.5.3-1
Juvenile toxicity	Dog, Beagle	Oral (gavage)	8-week DRF	0, 5, 30, 150, 300, 600	No	[redacted] Canada	[1770671]	Yes	4.2.3.5.4-1
Juvenile toxicity	Dog, Beagle	Oral (gavage)	52-week + 27-week recovery	0, 5 [b], 30 [c], 150	Yes	[redacted] Canada	[1870009]	Yes	4.2.3.5.4-2

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other toxicity - Phototoxicity:									
In vitro 3T3 NRU phototoxicity test	Mouse Balb/c fibroblast cell line 3T3 clone A31	*In vitro*	NA	Up to 1000 µM	No	Novartis, Switzerland	[1315506]	NA	4.2.3.7.7-1
UV-LLNA	Mouse, BALB/c	Oral (gavage)	3 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	Yes	[redacted] France	[1470564]	Yes	4.2.3.7.7-2
Other toxicity - Mechanistic studies:									
Testicular toxicity evaluation of LNP023 on the *ex vivo* rat model, [redacted]	Rat, Sprague Dawley seminiferous tubules primary culture	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	No	[redacted] France	[DIS R1720270]	NA	4.2.3.7.3-1
Testicular toxicity evaluation of LNP023 on the *ex vivo* dog model, [redacted]	Dog, Beagle seminiferous tubules primary culture	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	No	[redacted] France	[DIS R1720277]	NA	4.2.3.7.3-2
Testicular toxicity evaluation on the *ex vivo* rat in comparison to dog model	Rat, Sprague Dawley and Dog, Beagle seminiferous tubules primary cultures	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	No	[redacted] France	[DIS R1720270a]	NA	4.2.3.7.3-3

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other toxicity - Mechanistic studies (cont.):									
In vitro assessment of androgen and thyroid hormone receptor activities	Human HEK293 recombinant reporter cells expressing androgen and thyroid hormone receptors	*In vitro*	NA	10, 20, 40, 80, 160, 200 µM	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1820225]	NA	4.2.3.7.3-4
Rat thyroid receptor binding assay	Wistar rat liver	*In vitro*	NA	0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 µM	No	[redacted] Taiwan	[RD-2019-00025]	NA	4.2.3.7.3-5
In vitro assessment on histone lysine demethylase enzymes JMJD1A and JMJD1B involved in spermatogenesis	Human recombinant (Sf9 cells)	*In vitro*	NA	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 µM	No	[redacted] France	[RD-2020-00447]	NA	4.2.3.7.3-6

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
In vitro assessment on histone lysine demethylase enzymes JMJD1A and JMJD1B involved in spermatogenesis	Human recombinant (Sf9 cells)	*In vitro*	NA	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 200 µM	No	[redacted] France	[RD-2020-00448]	NA	4.2.3.7.3-7
Other toxicity - Mechanistic studies (cont.):									
Mechanistic investigations on thyroid peroxidase activity *in vitro*	Dog thyroid microsomes	*In vitro*	NA	5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µM	No	Novartis, Switzerland	[DISR1470567b]	NA	4.2.3.7.3-8
In vitro hematotoxicity study	Stem cells and progenitor cells derived from canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	No	[redacted] USA	[1920024]	NA	4.2.3.7.3-9

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Gene expression analysis of progenitor erythroid cells (P-BFU) from *in vitro* hematotoxicity study 1920024	Stem cells and progenitor cells derived from canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1920024a]	NA	4.2.3.7.3-10
In vitro hematotoxicity study	Stem cells and progenitor cells derived from human and canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	No	[redacted] USA	[2020007]	NA	4.2.3.7.3-11

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other toxicity - Mechanistic studies (cont.):									
Gene expression analysis of progenitor erythroid cells (P-BFU) from *in vitro* hematotoxicity study 2020007	Stem cells and progenitor cells derived from human and canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	No	Novartis, Switzerland	[DIS R2020007a]	NA	4.2.3.7.3-12
Phenotyping of complement factor B knockout mouse	Mouse, complement factor B knockout (B6;129S4-Cfb<tm1Hrc>)	*Ex vivo*	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[DIS R1820037]	NA	4.2.3.7.3-13
Other toxicity - Impurity studies:									
ICH M7 Mutagenicity assessment of impurities	NA	NA	NA	NA	No	Novartis, Switzerland	[2300074]	NA	4.2.3.7.6-1
不純物C* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912571]	NA	4.2.3.7.6-2
不純物D * Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[2012513]	NA	4.2.3.7.6-3

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other toxicity - Impurity studies (cont.):									
不純物E* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[2012516]	NA	4.2.3.7.6-4
不純物F* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	15.81, 50, 158.1, 500, 1581, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1212590]	NA	4.2.3.7.6-5
不純物G * Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[2012501]	NA	4.2.3.7.6-6
不純物H* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1612513]	NA	4.2.3.7.6-7
不純物I* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1612506]	NA	4.2.3.7.6-8
不純物J* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate	No	Novartis, Switzerland	[1012603]	NA	4.2.3.7.6-9

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other toxicity - Impurity studies (cont.):									
不純物K* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[2012503]	NA	4.2.3.7.6-10
不純物L* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912577]	NA	4.2.3.7.6-11
不純物M* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912578]	NA	4.2.3.7.6-12
不純物N* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912579]	NA	4.2.3.7.6-13
不純物O* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912580]	NA	4.2.3.7.6-14
不純物P* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912589]	NA	4.2.3.7.6-15

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
不純物A* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[1912581]	NA	4.2.3.7.6-16
Other toxicity - Impurity studies (cont.):									
不純物A* Bacterial reverse mutation assay	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	[2012508]	NA	4.2.3.7.6-17
不純物A* Micronucleus assay	Human lymphocytes	*In vitro*	NA	20, 50, 80, 100, 140, 150, 180 µg/mL (exp.1); 20, 60, 140 µg/mL (exp.2)	Yes	[redacted] UK	[2070174]	NA	4.2.3.7.6-18
不純物A* *Pig-a* gene mutation assay with micronucleus test	Rat	Oral (gavage)	4 weeks	31.25, 62.5, 125	Yes	[redacted] UK	[2070173]	Yes	4.2.3.7.6-19

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験一覧（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg [a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	TK collected	Location in CTD
Other studies - Occupational health studies:									
In vitro skin irritation test with LNP023-E14 (AAB) using a human skin model	Human epidermis model (EPISKIN)	*In vitro*	NA	At least 10 mg	Yes	[redacted] Netherlands	[20253153]	NA	4.2.3.7.7-3
Assessment of contact sensitizing potential with the murine local lymph node assay	Mouse, Balb/c	Topical	3 days	0.2, 2, and 20%	Yes	[redacted] Netherlands	[20253155]	NA	4.2.3.7.7-4

DRF = dose range finding; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = lactation day; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; TK = toxicokinetics; UV-LLNA = ultraviolet-local lymph node assay

a = unless otherwise specified. For repeated-dose toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

b = NOAEL for males

c = NOAEL for females

d = NOAEL for maternal toxicity

e = NOAEL for fetal toxicity

2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験一覧表

Test article: LNP023

Study type	Species	Strain	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Single-dose toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral (gavage)	Single rising dose	10, 50, 100, 300, 600	No	1370389	4.2.3.1-1
Repeated-dose toxicity	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	2 weeks	0, 100, 300, 1000	No	1370303	4.2.3.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	4 weeks	0, 100, 300, 1000	Yes	1470568	4.2.3.2-2.1
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	13 weeks	0, 50, 150, 500	Yes	1570195	4.2.3.2-3
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	26 weeks	0, 50, 150, 750	Yes	1570193	4.2.3.2-4
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	2-weeks (with a rising dose phase)	Rising dose phase: 50, 100, 300, 600, 1000 Repeated dose phase: 0, 100, 300, 1000	No	1470220	4.2.3.2-5.1
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	4 weeks	0, 15, 50, 300	Yes	1470567	4.2.3.2-6.1
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	13 weeks	0, 5, 30, 150	Yes	1570194	4.2.3.2-7.1
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	39 weeks	0, 5, 30, 150	Yes	1570192	4.2.3.2-8.1

2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験一覧表（続き）

Test article: LNP023

Study type	Species	Strain	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Carcinogenicity	Mouse, RasH2 tg/wt (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)	Oral (gavage)	26 weeks	0, 100, 300, 1000	Yes	1770876	4.2.3.4.2-1
	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	104 weeks	0, 150, 300, 750	Yes	1770877	4.2.3.4.1-1
Carcinogenicity DRF	Mouse, Wild type RasH2	Oral (gavage)	28 days	0, 150, 500, 1000	Yes	1770875	4.2.3.4.3-2
Reproductive and development toxicity:							
Embryo fetal development	Rat, Wistar Hannover	Oral (gavage)	GD 6 to GD 17	0, 100, 300, 1000	Yes	1670321	4.2.3.5.2-1
Combined preliminary DRF / Embryo fetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral (gavage)	GD 7 to GD 20	0, 50, 300, 600	Yes	1670322	4.2.3.5.2-2
Embryo fetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral (gavage)	GD 7 to GD 20	0, 100, 250, 450	Yes	1670323	4.2.3.5.2-3
Juvenile DRF	Dog, Beagle	Oral (gavage)	8 weeks	0, 5, 30, 150, 300, 600	No	1770671	4.2.3.5.4-1
Juvenile	Dog, Beagle	Oral (gavage)	52 weeks	0, 5, 30, 150	Yes	1870009	4.2.3.5.4-2
Other studies: Phototoxicity	Mouse, BALB/c	Oral (gavage)	3 days	0, 100, 300, 1000	Yes	1470564	4.2.3.7.7-2
Other Studies: Impurity NHW362 *Pig-a* gene mutation assay with micronucleus test	Rat	Oral (gavage)	4 weeks	31.25, 62.5, 125	Yes	2070173	4.2.3.7.6-19

DRF = dose range finding; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表

LNP023 [AUC0-24h (ng.h/mL)]

Test article: LNP023

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Dogs		Rabbits	Monkeys		Humans	Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	male	female	female	male	female			
5					35500	32700					1570194	4.2.3.2-7.1
5					39300	37900					1570192	4.2.3.2-8.1
5					25500	30500					1770671	4.2.3.5.4-1
5					50100	46100					1870009	4.2.3.5.4-2
10								25700			1370389	4.2.3.1-1
15					91800 [a]	88000 [a]					1470567	4.2.3.2-6.1
30					148000	149000					1570194	4.2.3.2-7.1
30					183000	155000					1570192	4.2.3.2-8.1
30					113000	108000					1770671	4.2.3.5.4-1
30					182000	167000					1870009	4.2.3.5.4-2
50								127000			1370389	4.2.3.1-1
50			26000	22300							1570195	4.2.3.2-3
50			45700	30900							1570193	4.2.3.2-4
50					253000 [a]	224000 [a]					1470567	4.2.3.2-6.1
50							37800				1670322	4.2.3.5.2-2

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

LNP023 [AUC0-24h (ng.h/mL)]

Test article: LNP023

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Dogs		Rabbits	Monkeys		Humans	Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	male	female	female	male	female			
100								326000			1370389	4.2.3.1-1
100			59000								1370303	4.2.3.2-1
100			61000	55600							1470568	4.2.3.2-2.1
100					561000						1470220	4.2.3.2-5.1
100	25500	27100									1770876	4.2.3.4.2-1
100				41500							1670321	4.2.3.5.2-1
100							51800				1670323	4.2.3.5.2-3
100		32000									1470564	4.2.3.7.7-2
150			69500	49700							1570195	4.2.3.2-3
150			101000	99300							1570193	4.2.3.2-4
150					733000	611000					1570194	4.2.3.2-7.1
150					840000	628000					1570192	4.2.3.2-8.1
150					568000	716000					1770671	4.2.3.5.4-1
150			88800	58100							1770877	4.2.3.4.1-1
150	66700	60000									1770875	4.2.3.4.3-2
150					841000	928000					1870009	4.2.3.5.4-2
250							153000				1670323	4.2.3.5.2-3

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

LNP023 [AUC0-24h (ng.h/mL)]

Test article: LNP023

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Dogs		Rabbits	Monkeys		Humans	Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	male	female	female	male	female			
300								1270000			1370389	4.2.3.1-1
300			181000								1370303	4.2.3.2-1
300			170000	186000							1470568	4.2.3.2-2.1
300					2280000						1470220	4.2.3.2-5.1
300	63100	56000									1770876	4.2.3.4.2-1
300			170000	136000							1770877	4.2.3.4.1-1
300					2220000 [a]	1810000 [a]					1470567	4.2.3.2-6.1
300				123000							1670321	4.2.3.5.2-1
300							188000				1670322	4.2.3.5.2-2
300					1170000	1280000					1770671	4.2.3.5.4-1
300		127000									1470564	4.2.3.7.7-2
450							400000				1670323	4.2.3.5.2-3
500			249000	181000							1570195	4.2.3.2-3
500	152000	158000									1770875	4.2.3.4.3-2
600								1680000			1370389	4.2.3.1-1
600							732000				1670322	4.2.3.5.2-2
600					2580000						1770671	4.2.3.5.4-1
750			295000	369000							1570193	4.2.3.2-4
750			733000	498000							1770877	4.2.3.4.1-1

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

LNP023 [AUC0-24h (ng.h/mL)]

Test article: LNP023

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Dogs		Rabbits	Monkeys		Humans	Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	male	female	female	male	female			
1000			653000								1370303	4.2.3.2-1
1000			952000	802000							1470568	4.2.3.2-2.1
1000					5600000						1470220	4.2.3.2-5.1
1000	196000	258000									1770876	4.2.3.4.2-1
1000	304000	269000									1770875	4.2.3.4.3-2
1000				278000							1670321	4.2.3.5.2-1
1000		599000									1470564	4.2.3.7.7-2

a = AUC0-23h (ng.h/mL) was calculated.

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験成績一覧表（続き）

不純物A* Impurity [AUC0-24h (ng.h/mL)]

Test article: LNP023

Daily dose (mg/kg)	Mice		Rats		Dogs		Rabbits	Monkeys		Humans	Study number	Location in CTD
	male	female	male	female	male	female	female	male	female			
31.25			485								2070173	4.2.3.7.6-19
62.5			3920								2070173	4.2.3.7.6-19
125			17900								2070173	4.2.3.7.6-19

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物

Test article: LNP023

Batch no.	Purity (%)	Specified impurities (%)										Study type	Study number	Location in CTD
		不純物Q*	不純物R *	不純物S*	不純物T *	不純物U *	不純物V *	不純物W*	不純物X*	不純物Y*	不純物Z*			
5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Genotoxicity	1313007	4.2.3.3.1-1
												Phototoxicity	1315506	4.2.3.7.7-1
NX-5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Genotoxicity	1314004	4.2.3.3.1-3
NVP-LNP023-AA-15 (LNP023-LUYAS-108)	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Other-mechanistic	DIS R1820225	4.2.3.7.3-4
												Other-mechanistic	1920024	4.2.3.7.3-9
NVP-LNP023-AA-18	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Other-mechanistic	2020007	4.2.3.7.3-11
CHR453221	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Other-mechanistic	DIS R1720270	4.2.3.7.3-1
												Other-mechanistic	DIS R1720277	4.2.3.7.3-2
11	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Single, monkey	1370389	4.2.3.1-1
												2-week pilot, rat	1370303	4.2.3.2-1
NVP-LNP023-AA-13/NA-04-WV9	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Rising dose / 2-week, dog	1470220	4.2.3.2-5.1

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

Test article: LNP023

Batch no.	Purity (%)	Specified impurities (%)										Study type	Study number	Location in CTD
		不純物Q*	不純物R*	不純物S*	不純物T*	不純物U*	不純物V*	不純物W*	不純物X*	不純物Y*	不純物Z*			
1010006947	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	NR	NR	NR	Genotoxicity	1470562	4.2.3.3.1-4
												Genotoxicity	1470563	4.2.3.3.1-2
												4-week rat	1470568	4.2.3.2-2.1
												4-week dog	1470567	4.2.3.2-6.1
												Phototoxicity	1470564	4.2.3.7.7-2
1010011351	[redacted]	NR	NR	NR	[redacted]	NR	NR	NR	[redacted]	[redacted]	NR	13-week, dog,	1570194	4.2.3.2-7.1
												13-week, rat	1570195	4.2.3.2-3
												EFD, rat	1670321	4.2.3.5.2-1
												EFD DRF, rabbit	1670322	4.2.3.5.2-2
1010016677	[redacted]	NR	NR	NR	[redacted]	NR	NR	NR	NR	[redacted]	[redacted]	26-week rat	1570193	4.2.3.2-4
												39-week dog,	1570192	4.2.3.2-8.1
												8-week DRF, juvenile dog	1770671	4.2.3.5.4-1
												EFD rabbit	1670323	4.2.3.5.2-3
												FEED rat	1770670	4.2.3.5.1-2
												FEED rat	1870193	4.2.3.5.1-1

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 毒性試験に用いた原薬／不純物（続き）

Test article: LNP023

Batch no.	Purity (%)	Specified impurities (%)										Study type	Study number	Location in CTD
		不純物Q*	不純物R*	不純物S*	不純物T*	不純物U*	不純物V*	不純物W*	不純物X*	不純物Y*	不純物Z*			
1010019494	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	[redacted]	NR	52-week juvenile dog	1870009	4.2.3.5.4-2
												Carcinogenicity mouse	1770876	4.2.3.4.2-1
1010023182	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	[redacted]	WT Tg RasH2 mouse, DRF	1770875	4.2.3.4.3-2
												WT Tg RasH2 mouse, MTD	2070102	4.2.3.4.3-1
												Carcinogenicity rat	1770877	4.2.3.4.1-1
												PPND, rat	1770878	4.2.3.5.3-1
1010023078	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	[redacted]	Carcinogenicity rat	1770877	4.2.3.4.1-1

DRF = dose range finding; EFD = embryo and fetal development; FEED = fertility and early embryonic development; MTD = maximum tolerated dose; NR = not reported; PPND = pre- and postnatal development; WT = wild type

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test article: LNP023

Species / strain	Method of administration (vehicle / formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Observed maximum non-lethal dose (mg/kg)	Observed minimum lethal dose (mg/kg)	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Monkey / Cynomolgus (Asian)	Oral (gavage) (0.5% w/v Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% v/v Tween 80 / suspension)	10, 50, 100, 300 and 600	M: 3	NA	NA	≥ 300 mg/kg: dose dependent increase in QTc from 9 to 17 hours (+20 ms or 8%) or 9 to 20 hours (+44 ms or 18%) postdose ≥ 10 mg/kg; non-dose dependent minimal to mild increases in neutrophils and minimal to mild decreases in lymphocytes and eosinophils. 600 mg/kg: minimal to mild increase in total bilirubin, minimal increase in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase	No	[1370389]	4.2.3.1-1

GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test article: LNP023

<table>
<tr><th>Species / strain</th><th>Method of administration (vehicle / formulation)</th><th>Duration of dosing</th><th>Doses (mg/kg)</th><th>Gender and no. per group</th><th>NOAEL [a] (mg/kg)</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Rat / Wistar Hannover</td><td>0.5% w/v Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% v/v Tween 80 / suspension</td><td>2 weeks</td><td>0, 100, 300, 1000</td><td>M: 5</td><td>1000</td><td>≥ 100 mg/kg/day: non-dose-dependent minimal increases in neutrophil counts (+44-66%) when compared with concurrent controls;
1000 mg/kg/day: significant increase in thyroid weights (absolute +47.8%, percent of body +49.0%, and percent of brain +48.1%) compared to controls, but without macroscopic or microscopic changes in the thyroid.
<u>Toxicokinetics</u>:
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Study Day</th><th>AUC0-24h (ng.h/mL)</th><th>Cmax (ng/mL)</th></tr>
<tr><td>100</td><td>1</td><td>52700</td><td>11000</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>59000</td><td>12300</td></tr>
<tr><td>300</td><td>1</td><td>235000</td><td>37500</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>181000</td><td>29900</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>1</td><td>591000</td><td>46500</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>653000</td><td>83800</td></tr>
</table></td><td>[1370303]</td><td>4.2.3.2-1</td></tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain	Method of administration (vehicle / formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL [a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Dog / Beagle	Oral (gavage) (0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension)	Rising dose phase: Once at each dose level	Rising dose phase: 50 (Day 1); 100 (Day 4); 300 (Day 8); 600 (Day 11); 1000 (Day 15)	Rising dose phase: M: 3	300 [b]	**Rising dose phase:** 50 mg/kg: Slight increases in group mean heart rate were evident. 100 mg/kg: As per initial dose. 300 mg/kg: As per previous dose levels however the increase in heart rate was more consistent at this dose level. A slight increased QTcV was evident in one animal. Vomiting was recorded in two animals 600 mg/kg: As per previous dose levels. Vomiting recorded in all animals and incidences of salivation in one animal recorded. 1000 mg/kg: As per previous doses however no effect in QTcV. Salivation recorded in all animals. Changes in clinical pathology included increases in fibrinogen concentrations and monocyte count suggesting inflammation. Increases in aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and total bilirubin, consistent with hepatic alteration, limited to one animal. Increases in creatine kinase activity suggesting potential striated (cardiac or skeletal) muscle alterations. **Toxicokinetics:**	[1470220] [DIS R1470220] (Gene expression; heart)	4.2.3.2-5.1 4.2.3.2-5.2

Dose (mg/kg/day)	AUC0-24h (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)
50	228513	28000
100	586110	73900
300	2123267	154000
600	2651050	205000
1000	3937300	267000

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain	Method of administration (vehicle / formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL [a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Dog / Beagle	Oral (gavage) (0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension)	Repeated dose phase: 2 weeks	Repeated dose phase: 0 100 300 1000	Repeated dose phase: M: 3 M: 3 M: 3 M: 2 [c]	Repeated dose phase: 300 [b]	**Repeated dose phase:** Control: None. 100 mg/kg/day: Spleen weights, spleen to body weight ratios and spleen to brain weight ratios were low. 300 mg/kg/day: As per low dose. Incidences of salivation, vomiting, tremors and head twitching recorded in two animals. Decreases in body weight gain and food consumption. Increases in group mean heart rate. Changes in clinical parameters include decreases in absolute reticulocytes with concurrent decreases in mean corpuscular volume. Minimal follicular hypertrophy was present in the thyroid. 1000 mg/kg/day: One dog died on Day 14. Previous to this, clinical signs included thin, subdued, sluggish, head shaking, trouble standing, partially closed eyelids and a convulsion lasting approximately 3 seconds. Vomiting, salivation, body weight losses and decreases in food consumption were recorded for both animals. Decedent had an increased heart rate, decreases in PR, slight increase in QRS, increased QT-interval and QTc interval compared to Day 1. Increases in clinical parameters include fibrinogen concentrations, alanine transferase, aspartate transferase, total bilirubin, alkaline phosphatase, creatine kinase, creatinine, urea, magnesium, phosphorus and bicarbonate concentration. Decreases in clinical parameters include eosinophils and / or lymphocytes, sodium, chloride, potassium, albumin, total protein and calcium. Unadjusted thyroid / parathyroid weights, thyroid / parathyroid to body weight rations and thyroid / parathyroid to brain weight rations were low.	1470220 (cont.)	4.2.3.2-5.1

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain	Method of administration (vehicle / formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL [a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Dog / Beagle	Oral (gavage) (0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension)	Repeat dose phase: 14 days	0 100 300 1000	M: 3 M: 3 M: 3 M: 2 [c]	300 [b]	1000 mg/kg/day (cont.): Macroscopic findings for the decedent include generalized reddening / discoloration throughout the gastrointestinal tract, gall bladder distention, dark pancreas and a red and thickened mucosal surface of the bladder. Microscopic findings include inflammation and / or erosion / ulcer present in the esophagus, stomach, duodenum, jejunum and ileum. Inflammation characterized by infiltration of the villi and / or submucosa with inflammation cells. Erosion / ulcer characterized by superficial focal necrosis to loss of the surface epithelium and exposure of submucosal tissues with associated inflammatory infiltrate. Slight cardiomyocyte degeneration present in the heart, characterized by myocyte degeneration / necrosis and inflammatory cell infiltrate predominately in the sub-endocardial zone and papillary muscle. Tubular degeneration / regeneration and casts observed in the kidney, associated with inflammatory cell infiltrates and tubular vacuolation. Slight follicular cell hypertrophy present in the thyroid, characterized by diffuse increase of the follicular epithelium and reduced colloid. Slight hepatocyte vacuolation present in the liver by presence of clear vacuoles in hepatocytes. Lymphoid atrophy in the thymus, decreased cellularity in the mandibular lymph node and degranulation in the pancreas.	1470220 (cont.)	4.2.3.2-5.1

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test article: LNP023

<table>
<tr><th>Species / strain</th><th>Method of administration (vehicle / formulation)</th><th>Duration of dosing</th><th>Doses (mg/kg)</th><th>Gender and no. per group</th><th>NOAEL [a] (mg/kg)</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Dog / Beagle</td><td>Oral (gavage)
(0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension)</td><td>Repeat dose phase: 14 days</td><td>0
100
300
1000</td><td>M: 3
M: 3
M: 3
M: 2 [c]</td><td>300 [b]</td><td>Toxicokinetics:
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Study Day</th><th>AUC0-24h (ng.h/mL)</th><th>Cmax (ng/mL)</th></tr>
<tr><td>100</td><td>1</td><td>558000</td><td>68700</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>561000</td><td>84700</td></tr>
<tr><td>300</td><td>1</td><td>2020000</td><td>146000</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>2280000</td><td>200000</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>1</td><td>2370000</td><td>189000</td></tr>
<tr><td></td><td>14</td><td>5600000</td><td>349000</td></tr>
</table>
Gene expression analysis of heart:
LNP023 dose-dependently upregulated heart fibrosis / repair, cardiomyocyte ischemia / hypoxia, angiogenesis, blood pressure regulation and relaxin pathway gene signatures at ≥ 100 mg/kg/day. Cardiomyocyte contraction gene signature was downregulated in dogs at ≥ 100 mg/kg/day. Heart pacing, heart hypertrophy / remodeling, “RAS/PI3K/AKT pathway”, GPCR: cAMP/cGMP/MAPK/AMPK pathway”, and cardiomyocyte adrenergic, calcium signaling and fatty acid oxidation gene signatures were mostly upregulated in dogs treated with 300 mg/kg/day while they were mostly downregulated in dogs treated with 100 mg/kg, pointing to lack of adaptation at 300 mg/kg/day. Cardiomyocyte contraction and thyroid hormone signalling pathway gene signatures were downregulated in adult dogs at ≥ 100 mg/kg/day.</td><td>1470220 (cont.)</td><td>4.2.3.2-5.1</td></tr>
</table>

M = male; NA = not applicable

a = No Observed Adverse-Effect Level; b = A dose level of up to 300 mg/kg/day is suggested as a high dose for subsequent GLP toxicity studies; c = One dog was removed from study due to elevated baseline creatinine and BUN concentrations.

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period and micronucleus assessment

Study no.: [1470568]

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)

Duration of dosing: At least 4 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-2.1

Initial age: Approximately 10 weeks (at start of dosing)

Duration of postdose: At least 4 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted] (day 1 of week 1)

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% v/v Tween 80 / suspension

Special features: Hormone biomarkers, Transmission electron microscopy (TEM) of glomeruli or proximal convoluted tubules, Gene expression analysis from liver samples (non-GLP, stand-alone report [DIS R1470568], location in CTD: 4.2.3.2-2.2)

No observed adverse effect level: 300 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**100 (Group 2)**		**300 (Group 3)**		**1000 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M:10	F:10	M:10	F:10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6
Toxicokinetics:									
Day 28	Cmax (ng/mL)	BLOQ	BLOQ	13200	19000	31300	36000	67100	90100
	AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	NA	61000	55600	170000	186000	952000	802000
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	0	0	0	0	1 [a]	0
Clinical observations:		-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight:		-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hormone BM: elevated TSH		-	-	-	-	-	-	-	1/16
Hematology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period and micronucleus assessment Study no. 1470568

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**100 (Group 2)**		**300 (Group 3)**		**1000 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M:10	F:10	M:10	F:10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6
Clinical chemistry:									
Alkaline phosphatase (U/L)		115.8	50.0	113.6	60.4 $^{+}$	102.6	64.0	137.1 *	76.1 $^{++}$
Total bilirubin (µmol/L)		1.33	1.61	2.17 $^{+++}$	1.98 $^{+}$	2.42 $^{+++}$	2.34 $^{+++}$	4.14 $^{+++}$	3.51 $^{+++}$
Direct bilirubin (µmol/L)		0.26	0.19	0.89 $^{+++}$	0.49 $^{+++}$	1.25 $^{+++}$	0.84 $^{+++}$	2.68 $^{+++}$	2.08 $^{+++}$
Indirect bilirubin (µmol/L)		1.07	1.41	1.28	1.49	1.17	1.50	1.46 $^{+}$	1.44
Total protein (g/L)		66.01	68.25	65.06	66.06	63.35 **	67.13	60.93 **	61.19 **
Albumin (g/L)		44.11	50.31	43.82	46.26 **	41.74 **	46.73 **	41.59 **	42.94 **
Urea (mmol/L)		6.18	5.91	5.87	5.83	7.12*	6.94 **	7.85 **	7.36 **
Chloride (mmol/L)		98.1	100.5	98.0	99.5 $^{+}$	98.7	98.7 $^{++}$	101.6 **	100.3
Bicarbonate (mmol/L)		22.108	19.136	21.044	19.618	22.107	20.279	18.747 **	20.073
Calcium (mmol/L)		2.67	2.58	2.64	2.54	2.63	2.56	2.48 **	2.38 **
Triglycerides (mmol/L)		0.97	0.49	1.91 $^{+}$	0.47	1.90 $^{++}$	0.68	1.75 $^{+++}$	0.37
Urinalysis:									
Protein ≥ 100 mg/dL		0/16	0/16	0/10	0/10	1/10	0/10	15/15	12/16
Organ weights (%) [b]:									
Thyroid		0.0273 g	0.0144 g	−27 **	+14	±0	+15	−27 **	+31 **
Gross pathology:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period and micronucleus assessment Study no. 1470568

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**100 (Group 2)**		**300 (Group 3)**		**1000 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M:10	F:10	M:10	F:10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 6
Histopathology:									
Thyroid									
Hypertrophy, follicular cell		0	0	0	0	0	0	0	2
Harderian gland									
Degeneration / regeneration, acinar		2	0	1	1	1	1	4	2
TEM:	no. examined	0	2	0	0	0	0	0	4
		NA	-	NA	NA	NA	NA	NA	-
Postdose evaluation:									
Histopathology:									
Harderian gland									
Degeneration / regeneration, acinar		0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
Gene expression analysis of the liver (non-GLP):		The gene expression profiling revealed an induction of genes involved in all three phases of xenobiotic metabolism, including the induction of *Ugt2b1*, however it was not induced in the two females with follicular cell hypertrophy. Therefore, liver metabolism and thyroid hormone transport defects are not the primary cause of thyroid follicular hypertrophy.							

BLOQ = below lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); BM = biomarker; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = not applicable; TEM = transmission electron microscopy; TSH = thyroid stimulating hormone; *Ugt2b1* = UDP glucuronosyltransferase 2 family polypeptide B1; - = no noteworthy findings; *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Dunnett test); +: $p < 0.05$, ++: $p < 0.01$, +++: $p < 0.001$ (Cochran-Cox test)

a = The cause of death in this animal was considered due to the accidental mis-dosing of test article.

b = Control values are absolute group means. Treated group values are the percent change from absolute group means in the direction indicated. Statistical significance is based on the actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7B ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by an 8 week recovery period
Study no.: [1570195]
Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)
Duration of dosing: 13 Weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-3
Initial age: 8 to 10 weeks
Duration of postdose: 8 Weeks
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: Seminology, Thyroid hormone analysis.
No observed adverse effect level: Males: 150 mg/kg/day, Females: 500 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**500 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	3.49	4.86	12.8	12.0	27.5	41.6
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	20.6	24.4	68.7	57.0	222	298
Day 87	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	5.11	4.75	15.7	12.1	32.4	29.8
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	26.0	22.3	69.5	49.7	249	181
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	1 [a]	0	0	0	1 [a]	0	0
Body weight gain (%) [b]:		169.2 g	67.1 g	−4	−1	+13	+5	+1	+18 *
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations:		Minimal salivation was observed prior to dosing in animals administered 500 mg/kg/day and for one male administered 500 mg/kg/day at 2 hours after dosing (Animal 41 on Day 14 of the dosing phase only).							
Seminology:		Variation in mean total sperm count, mean sperm motility, mean sperm velocities, or mean abnormal sperm were observed when compared to historical control data. The low incidence and non-specific nature could suggest chance variation, but an LNP023 related effect could not be excluded.							

2.6.7.7B ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by an 8 week recovery period Study no. 1570195

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**500 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Ophthalmology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry (Day 86/87) [c]:									
Albumin (g/L) [d]		46	56	47	56	46	53 *	46	52 *
Total protein (g/L)		69	76	69	76	68	73	68	73 *
Triglycerides (mmol/L)		0.88	0.46	0.93	0.51	0.97	0.38	0.65	0.36
Calcium (mmol/L)		2.57	2.69	2.58	2.70	2.53	2.62	2.55	2.63
Cholesterol (mmol/L)		1.7	1.2	1.6	1.2	1.4	1.3	1.5	1.6 *
Thyroid hormones (Day 92):									
T3 (nmol/L) [e]		< 0.62	0.90	0.74	0.91	< 0.76	0.99	0.89	0.99
T4 (nmol/L)		82	64	103 **	64	109 ***	75	103 **	81
Organ weights (%) [b]:									
Thyroid / parathyroid									
Absolute organ weight		0.019 g	0.017 g	−7	+1	+6	−9	+13	−3
Organ to body weight ratio		0.0045%	0.0071%	−4	−5	+2	−11	+13	−7
Organ to brain weight ratio		0.9141%	0.9072%	−3	−2	+8	−9	+14	−5
Prostate									
Absolute organ weight		0.831 g	NA	+4	NA	+15	NA	+20	NA
Organ to body weight ratio		0.1927%	NA	+11	NA	+14	NA	+24	NA
Organ to brain weight ratio		40.0107%	NA	+10	NA	+18	NA	+21	NA

2.6.7.7B ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by an 8 week recovery period Study no. 1570195

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**500 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Histopathology:									
Thyroid	Number examined	10	9	10	10	10	9	10	10
Follicular cell hypertrophy									
Minimal		2	1	1	0	3	1	5	3
Slight		0	0	1	1	0	0	3	2
Testis	Number examined	10	NA	10	NA	10	NA	10	NA
Degeneration, tubule									
Minimal		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Postdose evaluation:									
Body weight gain (%) [b]:									
Day 29 to 56		18.3 g	5.7 g	NA	NA	NA	NA	−32	−175 [##]
Thyroid hormones (Day 57):									
TSH (µlU/mL) [f]		0.14	0.30	NA	NA	NA	NA	0.32	0.50

2.6.7.7B ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by an 8 week recovery period Study no. 1570195

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**500 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Postdose evaluation (cont.):									
Organ weights (%) [b]:									
Thyroid / parathyroid									
Absolute organ weight		0.023 g	0.018 g	NA	NA	NA	NA	−13	−3
Organ to body weight ratio		0.0049%	0.0070%	NA	NA	NA	NA	−13	−8
Organ to brain weight ratio [f]		1.1213%	0.9529%	NA	NA	NA	NA	−15	−6
Prostate									
Absolute organ weight		0.960 g	NA	NA	NA	NA	NA	+33 [#]	NA
Organ to body weight ratio		0.1993%	NA	NA	NA	NA	NA	+36 [#]	NA
Organ to brain weight ratio		46.3450%	NA	NA	NA	NA	NA	+30	NA

BLOQ = below lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; TSH = thyroid stimulating hormone; - = no noteworthy findings; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (ANOVA and Dunnett's test); #: $p \leq 0.05$, ##: $p \leq 0.01$ (Two sample t-test)

a = One control female and one female administered 150 mg/kg/day, were necropsied prior to the scheduled euthanasia, due to procedure-related gavage trauma.

b = For controls, group means are shown. For treated groups, the percent differences from the control group are shown. Statistical significance is based on the actual data (not on the percent differences).

c = Samples collected on Day 86 from males and Day 87 from females

d = Rank-transformed female data

e = Male data not analyzed (values below the limit of quantitation)

f = Rank-transformed male data

2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: 26 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 27 week recovery period

Study no.: [1570193]

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)

Duration of dosing: 26 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-4

Initial age: 9 to 10 weeks

Duration of postdose: 27 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: Seminology, Hormone analysis (non-GLP)

No observed adverse effect level: 750 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**750 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
	Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.18	4.55	13.6	22.7	47.9	55.0
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	24.4	24.4	99.9	69.0	461	534
Week 22	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	7.21	5.87	35.5	26.5	63.9	65.2
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	45.7	30.9	101	99.3	295	369
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund [a]:		1	0	0	1	2	0	2	2
Body weight (Day 182, %) [b]:		514.4 g	259.4 g	−1.0	+2.3	−5.6	+3.4	−1.0	+7.2
Body weight gain (%) [b]:									
Day 1 to 182		219.7 g	76.9 g	−4	+6	−13	+8	−7	+20 **

2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 26 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 27 week recovery period Study no. 1570193

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**750 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
	Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Food consumption (%) [b]									
Day 1 to 182 [d]		-	13.8 g/ animal/day	-	+3.6	-	+5.8	-	+8.7
Clinical observations:									
Salivation		0	0	0	0	0	0	16	17
Ophthalmology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry:									
Alkaline phosphatase (IU/L)									
Day 90 [d]		68	-	65	-	72	-	94	-
Day 91		64	-	62	-	68	-	75	-
Day 181 [d]		64	-	60	-	71	-	98 *	-
Day 182		65	-	68	-	71	-	84	-
Total bilirubin (µmol/L)									
Day 90		< 1.7 [e]	-	< 1.7	-	< 1.7	-	< 1.8	-
Day 91		< 1.7 [e]	-	< 1.7	-	< 1.7	-	< 1.8	-
Day 181		< 1.8 [f]	-	< 1.7	-	< 1.7	-	< 2.2	-
Day 182		< 1.7 [e]	-	< 1.7	-	< 1.7	-	< 2.3	-
Urinalysis:									
Urine creatinine (mmol/L)									
Day 181		10.0	5.1	7.3	5.9	6.2	5.0	8.0	5.0
Day 182		7.1	7.6	6.5	6.2	5.8	5.4	5.1	4.4

2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 26 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 27 week recovery period Study no. 1570193

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**750 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
	Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Urinalysis (cont.):									
Urine protein (g/L)									
Day 181		0.59	0.12	0.37	0.14	0.33	0.12	0.60	0.18
Day 182		0.35	< 0.25	0.32	0.20	0.26	0.17	0.36	0.17
Urine protein / creatinine (g/mmol)									
Day 181 [d]		0.058	-	0.048	-	0.050	-	0.074	-
Day 182		0.048	-	0.047	-	0.042	-	0.068 **	-
Thyroid hormones (Week 4):									
T3 (nmol/L)		0.93	0.90	0.98	0.98	0.94	1.04	1.13	1.19 *
T4 (nmol/L)		54.0	31.7	58.2	32.8	54.3	36.1	64.8 *	43.2 *
TSH (pg/mL)		-	962	-	598	-	935	-	1456 *
Gonad hormones:		-	-	-	-	-	-	-	-
Seminology:		-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Organ weights (%) [b]:									
Thyroid / parathyroid									
Absolute organ weight		0.022 g	0.016 g	+7	+15 *	+3	+7	+14	+22 **
Organ to body weight ratio		0.0045%	0.0065%	+5	+11	+7	+2	+13	+14
Organ to brain weight ratio		1.0208%	0.8301%	+10	+15 *	+5	+5	+16	+20 **
Testis									
Absolute organ weight		3.527 g	NA	+6	NA	+9	NA	+11	NA
Organ to brain weight ratio		0.7250%	NA	+4	NA	+13 **	NA	+10 *	NA
Organ to brain weight ratio [d]		162.4236%	NA	+9 *	NA	+11 **	NA	+13 **	NA

2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 26 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 27 week recovery period Study no. 1570193

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**750 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
	Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Gross pathology:									
Thyroid	No. examined	20	20	20	19	18	20	18	18
Large		0	0	0	0	0	0	2	0
Histopathology:									
Thyroid	No. examined	20	20	20	19	18	20	18	18
Follicular cell hypertrophy									
Minimal		10	6	12	4	7	6	4	4
Slight		5	1	2	0	3	2	7	7
Moderate		0	0	0	0	1	0	3	1
Prostate	No. examined	20	NA	20	NA	18	NA	18	NA
Ki67 positive epithelial cells									
Minimal		17	NA	17	NA	15	NA	2	NA
Slight		2	NA	3	NA	3	NA	16	NA

2.6.7.7C ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 26 week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 27 week recovery period Study no. 1570193

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**50 (Group 2)**		**150 (Group 3)**		**750 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
	Recovery	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10
Postdose evaluation:		-	-	-	-	-	-	-	-

BLOQ = below lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (ANOVA and Dunnett's)

a = Two males administered 150 mg/kg/day (Animals R0201 and R0206) were found dead on Day 40; the cause of death was not determined. One male administered 750 mg/kg/day (Animal R0309) was found dead on Day 74; the cause of death was not determined, but was possibly procedure-related. One male administered 750 mg/kg/day (Animal R0318) was sacrificed in moribund condition on Day 23; the cause of death was likely procedure-related (gavage error). One female administered 50 mg/kg/day (Animal R0518) was sacrificed in moribund condition on Day 154; the cause of death was most likely related to skin lesions. One female administered 750 mg/kg/day (Animal R0705) was sacrificed in moribund condition on Day 86; the cause of death was not determined. One female administered 750 mg/kg/day (Animal R0712) was sacrificed in moribund condition on Day 74; the cause of death was likely procedure-related (gavage error). One control male (Animal R0027) was sacrificed in moribund condition on Day 20 of the recovery phase; the cause of death was lymphoid lymphoma, considered unrelated to administration of LNP023.

b = For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown. Statistically significant based on actual data (not on the percent difference).

c = Toxicity animals only

d = Rank transformed data

e = All individual results below limit of quantification (< 1.7 µmol/L)

f = Nine individual results below limit of quantification (< 1.7 µmol/L); one value = 2.4 µmol/L

2.6.7.7D　イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in dogs with non-invasive telemetry and a 4-week recovery period **Study no.:** [1470567]

Species / strain: Dog / beagle **Duration of dosing:** At least 4 weeks **Location in CTD:** 4.2.3.2-6.1

Initial age: Approximately 9.5 to10 months (at start of dosing) **Duration of postdose:** At least 4 weeks **GLP compliance:** Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted] (day 1 of week 1) **Method of administration:** Oral (gavage), once daily **Vehicle / formulation:** 0.5% w/v Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% v/v Tween 80 / suspension

Special features: ECG telemetry males, ECG females, Hormone biomarkers, Cardiac biomarkers, Gene expression analysis from thyroid and liver samples (non-GLP, stand-alone report [DIS R1470567], location in CTD: 4.2.3.2-6.2), Gene expression analysis from heart samples (non-GLP, stand-alone report [DIS R1470567c], location in CTD: 4.2.3.2-6.3)

No observed adverse effect level: 50 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**15 (Group 2)**		**50 (Group 3)**		**300 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (ng/mL)	BLOQ	BLOQ	11900	13100	33600	36400	137000	132000
	AUC0-23h (ng.h/mL)	NA	NA	83200	75600	230000	230000	1790000	1470000
Day 25	Cmax (ng/mL)	BLOQ	BLOQ	14100	13400	41200	36200	215000	188000
	AUC0-23h (ng.h/mL)	NA	NA	91800	88000	253000	224000	2220000	1810000
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight:		-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations:		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy:		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:									
Increased heart rate		-	-	3/3 (day 2)	-	3/3 (day 2)	-	3/3	5/5
Decreased PR interval		-	-	-	-	3/3 (day 2)	-	3/3	5/5

2.6.7.7D イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in dogs with non-invasive telemetry and a 4-week recovery period Study no. 1470567

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**15 (Group 2)**		**50 (Group 3)**		**300 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Noteworthy findings:									
Hematology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry:									
Total bilirubin > 2.75 µmol/L		0/5	0/5	1/3	0/3	0/3	2/3	5/5	5/5
Urinalysis:		-	-	-	-	-	-	-	-
Urine chemistry:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hormone biomarkers:									
Reduced T4 levels		-	-	3/3	3/3	3/3	3/3	5/5	5/5
Increased TSH levels		-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac biomarkers:		-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%) [a]:									
Thyroid		0.724 g	0.788 g	−7	−41	−17	-40	−23	−37
Testis		12.05 g	NA	+3	NA	−7	NA	−28	NA
Epididymis		2.94 g	NA	−7	NA	−2	NA	−15	NA
Gross pathology:									
Thyroid									
Small		0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology:									
Thyroid									
Hypertrophy, follicular cells		0	0	2	2	3	3	3	3
Heart									
Degeneration / necrosis, cardiomyocyte		0	0	0	0	0	0	2	1

2.6.7.7D イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in dogs with non-invasive telemetry and a 4-week recovery period Study no. 1470567

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**15 (Group 2)**		**50 (Group 3)**		**300 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Histopathology (cont.):									
Liver									
Hyperplasia, bile duct		0	0	0	0	0	0	0	1
Pigment deposit, Kupffer cells		0	0	0	0	0	0	0	1
Testis									
Exfoliation, germ cells		0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Epididymis									
Oligospermia, luminal		0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Cell debris, luminal		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Postdose evaluation:									
Histopathology:									
Testis									
Depletion, germ cells		0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Epididymis									
Oligospermia, luminal		0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Cell debris, luminal		0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Heart									
Fibrosis, papillary muscle		0	0	NA	NA	NA	NA	0	1

2.6.7.7D イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in dogs with non-invasive telemetry and a 4-week recovery period Study no. 1470567

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**15 (Group 2)**		**50 (Group 3)**		**300 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Gene expression analysis of the thyroid gland and liver:		In the thyroid gland, LNP023 up-regulated dose-dependently a thyroid follicular cell gene signature, genes involved in the thyroid hormone biosynthesis, an iron-binding gene signature and down-regulated *cathepsin K*. At the high dose only, LNP023 up-regulated genes involved in the thyroid hormone metabolism and recycling, cathepsins involved in thyroglobulin solubilisation, an endo-lysosome-associated gene signature and a mitochondria-associated gene signature. In the liver, LNP023 at 300 mg/kg/day only up-regulated *CYP1A2* and modulated some metabolism associated genes. These molecular changes are likely related to the body weight and diet changes experienced by these animals. There was no modulation of thyroid hormone metabolizing genes or genes encoding thyroid hormone binding proteins, suggesting that liver metabolism and thyroid hormone transport defects are not the primary cause of thyroid follicular hypertrophy.						
Gene expression analysis of the heart:		LNP023 modulated gene signatures in heart at 300 mg/kg/day, while no transcriptional changes were seen at ≤ 50 mg/kg/day. Cardiomyocyte calcium signaling and fatty acid oxidation gene signatures were upregulated at 300 mg/kg/day. Heart fibrosis / repair, heart hypertrophy / remodeling, and Wnt pathway and relaxin pathway gene signatures were downregulated at 300 mg/kg/day. In addition, heart pacing, “RAS/PI3K/AKT pathway”, “GPCR: cAMP/cGMP/MAPK/AMPK pathway”, blood pressure regulation, angiogenesis, thyroid hormone signaling pathway and cardiomyocyte adrenergic signaling, contraction and ischemia / hypoxia gene signatures were modulated at 300 mg/kg/day. Full reversibility of these gene signatures was seen in the heart of the recovery group.						

BLOQ = below lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; - = no noteworthy findings

a = Control values are the absolute group mean weights. Treated group values are the percent change from the absolute control group means in the direction indicated.

2.6.7.7E　イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period
Study no.: [1570194]
Species / strain: Dog / beagle
Duration of dosing: 13 weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-7.1
Initial age: 55 to 59 weeks
Duration of post dose: 8 weeks
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: Seminology, Thyroid hormone analysis, Transcription factor analysis from testicular samples (non-GLP, stand-alone report [DIS R1570194b], location in CTD: 4.2.3.2-7.2), Bone marrow smear evaluation, Additional staining and subsequent pathological examination of liver section (GLP, stand-alone report [1920095], location in CTD 4.2.3.2-7.3).

No observed adverse effect level: Males: 5 mg/kg/day, Females: 30 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.05	3.58	18.1	21.0	62.9	74.3
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	28.2	23.2	113	105	576	607
Day 89	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.39	4.00	25.6	22.6	75.0	79.8
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	35.5	32.7	148	149	733	611
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations:		An isolated incidence of soft feces was observed in one female administered 150 mg/kg/day on Day 9, whilst isolated incidences of salivation were recorded during the dosing phase in males administered ≥ 30 mg/kg/day.							
Body weight gain (%) [a]:									
Day 57 to 91/92 [b]		0.02 kg	0.50 kg	−300	−78	+1000	−100	−700	−170
Day 1 to 91/92 [b]		0.61 kg	0.84 kg	−41	−39	+33	−39	−34	−58

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Food consumption (%) [a]:									
Day 57 to 91/92 [b]		223.7 g/ animal/day	182.3 g/ animal/day	−4	+12	−4	+6	−2	−11
Day 1 to 91/92 [b]		226.3 g/ animal/day	171.0 g/ animal/day	−5	+17	−6	+19	−3	+5
Electrocardiography:		On Day 2, at approximately 3 hours postdose, increases in heart rate of approximately 35% in males and 22% in females compared to control and pre-treatment, were relatively consistent in individual animals in the magnitude and direction of change following administration of 150 mg/kg/day. The range of values was outside that demonstrated by controls and during the pre-dose phase. Therefore, the increases in heart rate on Day 2 at approximately 3 hours postdose were considered test article related.							
Hematology:									
Neutrophils (10^9/L)									
Day 47		6.35	4.76	4.81	5.30	4.63	4.72	5.28	4.37
Day 89		6.24	4.83	5.11	5.74	4.58	6.35	4.81	6.92
White blood cells (10^9/L)									
Day 89		9.7	8.0	8.6	9.2	7.9	9.0	8.2	10.1
Packed cell volume (%)									
Day 89		51.0	48.1	48.2	50.0	50.4	49.5	49.7	49.3
Hemoglobin (g/dL)									
Day 89		16.7	16.1	15.9	16.8	16.6	16.5	16.4	16.0
Red blood cells (10^{12}/L)									
Day 89		7.18	6.87	6.67	7.29	7.10	6.92	7.01	6.92
Platelets (10^9/L)									
Day 47		305	282	257	273	275	291	307	359 *
Day 89		292	282	227	252	253	303	235	344

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Hematology (cont.):									
Blood cell morphology									
Day 89		One male administered 150 mg/kg/day had nucleated red cells in circulation.							
Monocytes (10^9/L)									
Day 89		0.48	0.38	0.50	0.42	0.39	0.37	0.57	0.78
Fibrinogen (g/L)									
Day 89		1.75	1.66	1.87	1.46	1.54	1.43	1.86	1.97
Clinical chemistry:									
Albumin (g/L)	Day 89	36	35	34	37	35	38	34	35
Globulin (g/L)	Day 89	20	20	19	19	20	19	23	23
Albumin / globulin ratio	Day 89	1.8	1.8	1.8	1.9	1.8	1.9	1.5	1.7
Total protein (g/L)	Day 89	56	55	53	56	55	57	57	58
Creatinine (µmol/L)	Day 47	56	62	59	55	104	48	61	51
	Day 89	55	53	56	54	83	52	61	49
Urea (mmol/L)	Day 47	5.8	5.5	5.7	5.2	8.6	4.6	5.3	5.3
	Day 89	5.2	5.5	5.4	5.4	8.7 *	4.6 *	5.1	4.8

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Organ weights (%) [a]:									
Thyroid / parathyroid									
Absolute organ weight		0.684 g	0.566 g	+3	+24	+26	+31	+37	+22
Organ to body weight ratio		0.0073%	0.0073%	+7	+27	+22	+25	+46	+26
Organ to brain weight ratio		0.9206%	0.8316%	+2	+9	+23	+21	+33	+17
Prostate									
Absolute organ weight		9.306 g	NA	−13	NA	−4	NA	+41	NA
Organ to body weight ratio		0.0992%	NA	−8	NA	−4	NA	+52	NA
Organ to brain weight ratio		12.2563%	NA	−13	NA	−5	NA	+40	NA
Testis									
Absolute organ weight		10.690 g	NA	−3	NA	−2	NA	+31	NA
Organ to body weight ratio		0.1145%	NA	−1	NA	−2	NA	+40	NA
Organ to brain weight ratio		14.4485%	NA	−5	NA	−3	NA	+26	NA
Epididymis									
Absolute organ weight		3.432 g	NA	−14	NA	−7	NA	+30	NA
Organ to body weight ratio		0.0366%	NA	−9	NA	−8	NA	+39	NA
Organ to brain weight ratio		4.6110%	NA	−15	NA	−8	NA	+25	NA

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Histopathology:									
Liver	No. examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Pigment, hepatocyte									
Minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
Slight		0	0	0	0	0	0	1	0
Pigment, Kupffer cell									
Minimal		1	1	1	0	1	1	0	0
Slight		0	0	0	0	0	0	1	1
Single cell necrosis									
Minimal		0	0	0	0	0	0	1	1
Slight		0	0	0	0	0	0	0	1
Mixed cell infiltrate									
Minimal		0	1	0	1	1	1	0	0
Slight		0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate		0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia, bile duct									
Minimal		0	0	0	0	0	0	2	1
LN, mesenteric	No. examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Lymphoid depletion									
Minimal		0	0	0	0	2	0	0	0
Slight		0	1	1	1	0	3	3	3

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Histopathology (cont.):									
LN, mandibular	No. examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Lymphoid depletion									
Minimal		0	0	0	0	0	0	2	0
Spleen	No. examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Lymphoid depletion									
Minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
Testis	No. examined	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Degeneration, tubule									
Minimal		1	NA	1	NA	2	NA	2	NA
Slight		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymis	No. examined	3	NA	3	NA	3	NA	3	NA
Cell debris									
Minimal		0	NA	1	NA	3	NA	3	NA
Thyroid	No. examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Hypertrophy, follicular cell									
Minimal		0	0	0	0	0	1	2	1
Slight		0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow smear evaluation [c]:		No test article-related changes in bone marrow parameters were noted in the female administered 150 mg/kg/day. Test article-related bone marrow findings for the male administered 150 mg/kg/day consisted of minimally increased myeloid to erythroid (M / E) ratio, which was associated with increased percentage of maturing myeloid cells and decreased percentage of maturing erythroid cells.							
Additional pathological examination with special staining (Steiner silver and gram stains) of bone marrow and liver sections [c]:		No Gram-positive or Gram-negative bacteria or positive silver-stained micro-organisms were present in sections of the liver, femur, and sternum examined from one toxicity male and one toxicity female at 150 mg/kg/day.							

2.6.7.7E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: 13 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by an 8 week recovery period Study no. 1570194

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Transcription factor analysis of the testis (non-GLP):		Motif enrichment of the following transcription factors (or transcription factor families) in the testis following 13 weeks administration of LNP023 was observed: SRY, SOX5, AR, MSC, NEUROD1, NR3C2, TGIF2, RHOX11 and STAT6. Analysis of the expression profile of selected genes targeted by those transcription factors have shown consistent trends of upstream regulators (e.g., KDM3A) and down-stream genes of SRY transcription factor, further supporting a potential role for testis-determining transcription factor modulation in molecular pathways associated with testis toxicity seen in dogs.							
Postdose evaluation:									
Clinical chemistry (Day 54):									
Total bilirubin (µmol/L) [d]		< 1.7	< 1.7	NA	NA	NA	NA	2.7	< 1.7
Indirect bilirubin (µmol/L)		#	#	NA	NA	NA	NA	1.5	#
Histopathology:									
Testis	No. examined	2	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Degeneration, tubule									
Minimal		1	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
LN, mesenteric	No. examined	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
Lymphoid depletion									
Minimal		0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Spleen	No. examined	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2
Lymphoid depletion									
Minimal		0	0	NA	NA	NA	NA	1	0

BLOQ = below lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LN = lymph node; M = male; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; # = no analysis performed; * $p \leq 0.05$ (ANOVA and Dunnett's test)

a = For controls, group means are shown. For treated groups, the percent differences from the control group are shown.

b = The final day of the Dosing phase was Day 91 in males and Day 92 in females.

c = Slides were prepared and Steiner silver and gram stains were performed on bone marrow and liver sections retained from two animals administered 150 mg/kg/day LNP023 (Animals 14 and 112) that were noted with potential signs of infection during pathology examinations.

d = Not analyzed (values above / below the limit of quantitation)

2.6.7.7F　イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period

Study no.: [1570192]

Species / strain: Dog / beagle

Duration of dosing: 39 Weeks

Location in CTD: 4.2.3.2-8.1

Initial age: 50 to 58 Weeks

Duration of postdose: 27 Weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: Male: [redacted]-20[redacted]
Female: [redacted]-20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: Seminology; Immunophenotyping (Total T lymphocytes, Helper T lymphocytes, Cytotoxic T lymphocytes and B lymphocytes); TDAR (KLH, IgG and IgM); Gene expression (liver and spleen, non-GLP); Hepcidin (non-GLP); Immunohistochemistry (non-GLP); Pharmacodynamics (non-GLP); Thyroid hormone (non-GLP) – (Triiodothyronine, reverse Triiodothyronine, Thyroxine, Thyroid-stimulating hormone, Follicle-stimulating hormone, Luteinizing hormone and steroid hormones (testosterone, androstenedione, dihydrotestosterone)); Transcription factor analysis from testicular samples (non-GLP, stand-alone report [DIS R1570192e], location in CTD: 4.2.3.2-8.2)

No observed adverse effect level: Males: 5 mg/kg/day, Females: 30 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	3.96	4.02	20.3	19.3	71.4	55.1
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	29.1	29.5	139	132	794	417
Day 273	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.58	4.71	25.0	21.0	88.2	65.9
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	39.3	37.9	183	155	840	628
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	1 [a]	0	0	0	0	0
Clinical observations:		-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight:		-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Seminology:		-	NA	-	NA	-	NA	-	NA

2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period Study no. 1570192

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Body temperature:		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:									
PR (%) [b]									
Day 2		89 ms	90 ms	±0.0	−1.1	−3.4	+5.6	−7.9	−3.3
Day 260		89 ms	93 ms	+5.6	−4.3	−3.4	+2.2	−5.6	−6.5
QT (%) [b]									
Day 2		196 ms	198 ms	+2.6	+2.0	+3.1	−2.5	−7.7 *	−9.1 *
Day 260		200 ms	198 ms	±0.0	−3.5	+1.0	−2.0	−8.0 *	−8.1
Heart Rate (%) [b]									
Day 2		113 bpm	107 bpm	−3.5	+3.7	−4.4	+3.7	+31.0 **	+37.4 **
Day 260		102 bpm	113 bpm	+12.7	+11.5	+10.8	+0.9	+30.4	+9.7
Hematology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry:		-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:		-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow smear:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hormone analysis (non-GLP) [c]:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hepcidin analysis (non-GLP):		-	-	-	-	-	-	-	-
Pharmacodynamic analysis (non-GLP):		At LNP023 trough levels (24 h post last treatment), alternate complement pathway (AP) activity was fully inhibited in animals that had received either 30 mg/kg/day or 150 mg/kg/day, suggesting full pathway inhibition throughout the study. In contrast, AP activity was only partially inhibited in animals treated with 5 mg/kg/day LNP023, suggesting that AP activity in these animals may not have been fully inhibited throughout the 24 h dosing period.							

2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period Study no. 1570192

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Immunophenotyping:		-	-	-	-	-	-	-	-
Immune function (TDAR) (%) [b]:									
IgM									
Day 190		750	-	+18.5	-	+23.1	-	+11.6	-
Day 195		-	30669	-	−40.7	-	−45.5	-	−41.6
Day 197		17596	-	−16.2	-	−17.0	-	−26.2	-
Day 216		-	6373	-	−21.5	-	−45.5	-	+15.2
Day 221		4848	-	−63.4	-	−61.9	-	−57.0	-
IgG									
Day 188		-	200	-	±0.0	-	+92.0	-	+135.5 *
Day 190		1038	-	+0.1	-	−25.3	-	−30.6	-
Day 209		-	156378	-	−5.1	-	−34.5	-	−12.9
Day 211		154705	-	−15.9	-	−57.7 *	-	−53.2 *	-
Day 216		-	181613	-	−14.0	-	−49.4 *	-	−59.5 **
Day 229		242548	-	+44.7	-	−27.7 *	-	−25.8	-
Organ weights (%) [b]:									
Prostate									
Absolute organ weight		9.718 g	NA	−7	NA	+47	NA	+21	NA
Organ to body weight ratio		0.0941%	NA	−8	NA	+39	NA	+21	NA
Organ to brain weight ratio		12.5251%	NA	−2	NA	+51	NA	+20	NA
Testis									
Absolute organ weight		14.038 g	NA	+12	NA	+13	NA	−21	NA
Organ to body weight ratio		0.1385%	NA	+9	NA	+5	NA	−23	NA
Organ to brain weight ratio		18.2679%	NA	+16	NA	+14	NA	−22	NA

2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period Study no. 1570192

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Organ weights (%) [b] (cont.):									
Thyroid / parathyroid									
Absolute organ weight		0.709 g	0.568 g	+9	−7	+16	−5	+35	+3
Organ to body weight ratio		0.0069%	0.0071%	+3	−8	+9	+7	+33	+9
Organ to brain weight ratio		0.9112%	0.8570%	+12	−13	+19	−7	+34	−2
Histopathology:									
Epididymis	No. examined	4	NA	4	NA	4	NA	4	NA
Debris, cellular, lumen									
Minimal		0	NA	0	NA	2	NA	1	NA
Slight		0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Liver	No. examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Pigment, Kupffer cell [d]									
Minimal		0	0	0	0	0	0	2	2
Testis	No. examined	4	NA	4	NA	4	NA	4	NA
Degeneration, tubule									
Minimal		1	NA	1	NA	1	NA	0	NA
Slight		0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Thyroid	No. examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Hypertrophy, follicular cell									
Minimal		0	1	1	1	2	0	3	3
Slight		0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period Study no. 1570192

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Gene expression analysis of the liver and spleen (non-GLP):		Upregulation of extramedullary hematopoiesis gene signatures (i.e. megakaryocyte and erythroblast) and downregulation of genes associated with erythrocyte maturation (i.e., hemoglobin and Wnt/catenin pathway) was seen in the euthanized animal D306. LNP023 induced transcriptional changes in the liver and spleen in the euthanized animal D0306 and, to a lesser extent, in the liver of a few main phase animals at 150 mg/kg/day observed with Kupffer cell pigment, and consisted of upregulation of unfolded protein / endoplasmic reticulum stress with proteolysis, acute phase response, antibacterial peptides and innate immune system gene signatures observed in these animals.							
Transcription factor analysis of the testis (non-GLP):		Motif enrichment of the following transcription factors (or transcription factor families) in the testis following 39 weeks administration of LNP023 were observed: SRY, SOX5, ALX3, BSX, HOXA9, NEUROG1, NFATC2, RARB, MEIS1, and TGIF2. Analysis of the expression profile of selected genes targeted by those transcription factors have shown consistent trends of upstream regulators (e.g., KDM3A) and down-stream genes of SRY, further supporting a potential role for testis-determining transcription factor modulation in molecular pathways associated with testis toxicity seen in dogs.							
Postdose evaluation:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	NA	NA	0	0	1 [e]	0

BLOQ = below the lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; KLH = keyhole limpet hemocyanin; M = male; M / E = myeloid to erythroid; NA = not applicable; TDAR = T-cell dependent antibody response; TSH = thyroid stimulating hormone; - = no noteworthy findings; *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (ANOVA and Dunnett's test)

a = Animal D0104 (Group 2 male) euthanized in a moribund condition on Day 236 of the dosing phase, due to severe clinical signs, indicative of a procedural related dosing incidence.

b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown. Statistical significance is based on the actual data (not on the percent differences).

c = A transient increase in T_3 plasma concentration was observed at ≥ 30 mg/kg/day LNP023 in treatment Week 13 and 26 (but not in Week 39) in males only. Additionally, at 150 mg/kg/day LNP023, there was an increase in TSH plasma concentration in 2 individual males in treatment Week 26 (D0301) or Week 39 (D0306) of unclear relevance.

d = Pigment corresponds to hemosiderin based on Perl's Prussian blue special staining.

2.6.7.7F イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（続き）

Report title: LNP023: 39 week oral (gavage) administration toxicity study in the dog followed by a 27 week recovery period Study no. 1570192

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2

(cont.)

e = Animal D0306 (Group 4 male) euthanized on Day 103 of the recovery phase, during the dosing phase this animal was recorded with severe and persistent clinical observations; body weight loss of up to 11% from Week 34 to the end of the dosing phase (although the animal initially maintained weight and food consumption from Day 29 of the recovery phase);clinical pathology changes (decreased leukocyte parameters from as early as Day 88 of the dosing phase; increased fibrinogen on Day 179 and 272 of the dosing phase; moderately decreased indicators of red cell mass and absolute reticulocyte counts and the presence of nucleated red blood cells on Day 272 of the dosing phase, and a change in hepcidin plasma concentration was a slight decrease and relatively low value observed in Week 39 at the end of the dosing phase (−33% *vs.* pretest, 2.4 ng/mL). At the time of necropsy (Day 103 of the recovery phase) markedly decreased red cell mass and absolute reticulcocytes count, a moderate decrease in MCHC and an increase in MCV; the bone marrow smear an M/E ratio and % proliferating and maturing erythroid cells with frequent abnormal mitotic figures and binucleation in the myeloid and erythroid lineages as well as asynchronous maturation in both lineages, with occasional phagocytosis of erythroid precursors. These changes in the myeloid cell line in the marrow occurred in the absence of changes in the WBC count or leukocyte populations (that is, neutrophil, monocyte, lymphocyte, eosinophil, and basophil counts). Increased hematopoiesis in the spleen and liver was considered secondary to the bone marrow changes; minimally decreased albumin concentration and minimally increased alanine aminotransferase activity with centrilobular hepatocyte degeneration and focal necrosis were considered potentially secondary to the decreased indicators of red cell mass; hepcidin results of −19% *vs.* pretest, 2.9 ng/mL; macroscopically the blood was recorded as thin and numerous tissues as pale; microscopically, marked fibrosis (associated with decreased hematopoiesis), slight increased trabecula bone and minimal pale brown pigment were recorded in the femoral and sternal bone marrow. Several findings considered potentially secondary to anemia were recorded in the liver (centrilobular hepatocyte degeneration, focal necrosis, extramedullary hematopoiesis - megakaryocytic) and spleen (hemopoiesis - early undifferentiated cells). Additional sections of liver and kidney stained with Perl's, Schmorls, Long ZN or Fouchet confirmed the pale brown pigment present in hepatocytes (moderate) and Kupffer cells (slight) in the liver was predominantly iron, with a lower level of lipofuscin, and that pigment in tubular cells in the kidney was lipofuscin. Minimal tubular degeneration and lumenal debris were present in the testis and epididymis, respectively. Lymphoid atrophy was evident in the thymus (marked) and spleen (slight), and was considered potentially related to stress. Staining of Gram positive and Gram negative bacteria, and silver staining for micro-organisms were performed in the additional sections of liver, femur and sternum to identify a potential underlying infectious disease, but they were all negative. Immunohistochemistry to detect bone marrow IgG deposition was also performed to assess a potential immune-mediated mechanism but was negative as well. The cause of demise of this animal was the severe non-regenerative anemia associated with bone marrow fibrosis, and was considered potentially related to LNP023.

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験（Miniscreen Ames test）

Test article: LNP023

Report title: Miniscreen Ames test
Study no.: [1313007]
Test for induction of: reverse gene mutations
Location in CTD: 4.2.3.3.1-1
Strains: *S.typhimurium* TA98, TA100
GLP compliance: No
Metabolizing system: Rat liver S9, Aroclor 1254-induced, 5 µL/well
Vehicles: For test article: DMSO For positive controls: DMSO
Treatment: Concentration tested: 5, 15, 50, 150, 500 µg/well
Cytotoxic effects: None up to the highest concentration tested.
Genotoxic effects: None

Results:

The mean mutant numbers of negative control plates lay within the range of acceptable negative control values our historical control range.
The positive controls induced a response equal to twice (or more) the negative control incidence, which is formally the criterion for a mutagenic activity of a compound.
Treatment with the test item did not notably increase the number of revertants above the corresponding negative control values under any of the test conditions used.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice

2.6.7.8B 細菌を用いた復帰突然変異試験

Test article: LNP023

Report title: Bacterial reverse mutation assay **Study no.:** [1470563]

Test for induction of: Reverse mutations (Ames) **No. of independent assays:** 1 **Location in CTD:** 4.2.3.3.1-2

Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102 **No. of replicates:** 5 (vehicle), 3 (test item and positive control) **GLP compliance:** Yes

Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9 **No. cells analyzed / culture:** 10^8/plate **Date of treatment:** [redacted]-20[redacted] and [redacted]-20[redacted]

Vehicles: For test item: DMSO For positive controls: DMSO for 2NF, AAC, AAN and B[a]P Purified water for NaN_3 and MMC **Treatment:** Plate incorporation

Cytotoxic effects: Toxicity in the form of a slight thinning of the background bacterial lawn was observed at 5000 µg/plate in strain TA102 in the absence and presence of S9 and strains TA1535 and TA97a in the presence of S9 only.

Genotoxic effects: None

Mutation experiment

Metabolic activation	Test item	Concentration (µg/plate)	Revertants/plate (mean) [a]				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
Without activation	DMSO	0	31	125	27	119	295
	LNP023	5	34	122	29	125	304
		16	36	120	24	128	301
		50	35	136	33	133	292
		160	32	130	30	137	288
		500	33	126	23	120	310
		1600	31	117	31	133	278
		5000	33	114	32	120	232 [s]
	Positive control	Compound	2NF	NaN_3	NaN_3	NaN_3	MMC
		Concentration (µg/plate)	5	2	2	2	0.2
		Revertants	755	734	676	825	1019

2.6.7.8B 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Report title: Bacterial reverse mutation assay Study no. 1470563

Metabolic activation	Test item	Concentration (µg/plate)	Revertants/plate (mean) [a]				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
With activation	DMSO	0	48	141	18	200	284
	LNP023	5	48	147	31	197	271
		16	47	139	21	197	310
		50	38	143	19	182	250
		160	38	143	25	190	254
		500	40	131	22	192	278
		1600	44	142	22	193	238
		5000	37	112	15 S	128 S	209 S
	Positive control	Compound	B[a]P	AAN	AAN	AAN	AAN
		Concentration (µg/plate)	10	5	5	5	20
		Revertants	350	1115	291	633	1288

AAC = 9-aminoacridine; AAN = 2-aminoanthracene; B[a]P = Benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NaN_3 = sodium azide; MMC = mitomycin C; 2NF = 2-nitrofluorene

a = means are generated from unrounded values exported directly from data capture software and so may vary from those presented to 1 dp in the study report.

S = slight thinning of background bacterial lawn

2.6.7.8C TK6 細胞を用いた小核試験

Test article: LNP023

Report title: Micronucleus test *in vitro* using TK6 cells **Study no.:** [1314004]

Test for induction of: Micronuclei **No. of replicate cultures:** 2 **Location in CTD:** 4.2.3.3.1-3

Test system: TK6 cells (human lymphoblastoid origin) **No. of cells analyzed / culture:** ca.2000 **GLP compliance:** No

Metabolizing system: Rat liver S9-homogenate (2%), Aroclor 1254-pretreated

Vehicles: For test article: DMSO, For positive controls: DMSO

Treatment time: 20 hr (−S9), 3 hr (±S9)

Sampling time: 24 hr after the start of 3-hour treatment, 48 hr after the start of 20-hour treatment

Cytotoxic effects: None

Genotoxic effects: LNP023 was neither clastogenic nor aneugenic under the test conditions used.

Results:

LNP023 neither induced increased numbers of cells containing micronuclei after 20-hour treatment without metabolic activation, nor after 3-hour treatment with or without S9. Note that up to the testing limit of 500 µg/mL, no highly cytotoxic concentration could be analyzed.

Experiment 1

Treatment (20 hr, −S9)		% Cell growth (RPD)	% cells with MN
RPMI / DMSO	0 µg/mL	100.0	0.30
LNP023	500.0 µg/mL	92.8	0.80
	299.7 µg/mL	100.0	0.60 [a]
	179.7 µg/mL	100.9	0.25
EMS	2.0 mM	84.4	9.40

2.6.7.8C TK6 細胞を用いた小核試験（続き）

Report title: Micronucleus test *in vitro* using TK6 cells Study no. 1314004

Experiment 2

Treatment (3 hr, +S9)		% Cell growth (RPD)	% cells with MN	Treatment (3 hr, −S9)		% Cell growth (RPD)	% cells with MN
S9 / DMSO	0 µg/mL	100.0	0.35	RPMI / DMSO	0 µg/mL	100.0	0.60
LNP023	500.0 µg/mL	79.7	0.40	LNP023	500.0 µg/mL	87.1	0.35
	250.0 µg/mL	89.6	0.35		250.0 µg/mL	92.4	0.35
	125.0 µg/mL	93.2	0.40		125.0 µg/mL	95.0	0.25
CPA	8.0 µM	47.2	3.20	EMS	7.0 mM	58.5	2.10

CPA = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; EMS = ethyl-methanesulphonate; GLP = Good Laboratory Practice; MN = micronucleated; RPD = Relative Population Doubling; % Cell growth = Relative cell count in comparison with the concurrent negative control for measuring cytotoxicity

a = only 1260 cells analyzed

2.6.7.8D　ヒトリンパ球を用いた小核試験

Test article: LNP023

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay
Study no.: [1470562]
Test for induction of: Micronuclei
No. of independent assays: 2
Location in CTD: 4.2.3.3.1-4
Strains: Primary human peripheral blood lymphocytes
No. of replicates: 4 (vehicle), 2 (test article, positive controls)
GLP compliance: Yes
Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9
No. cells analyzed / Culture: 2000 / 4000
Date of treatment:
Micronucleus Experiment 1: [redacted]-20[redacted]
Micronucleus Experiment 2: [redacted]-20[redacted]
Vehicles: For test item: Dimethyl sulfoxide (DMSO); For positive controls: DMSO (CPA), Purified water (MMC and VIN)
Treatment: 3 + 21 hour treatment in the absence and presence of metabolic activation (S9) and 24 + 24 hour treatment in the absence of S9
Cytotoxic effects: None
Genotoxic effects: None

2.6.7.8D ヒトリンパ球を用いた小核試験（続き）

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay Study no. 1470562

Experiment 1

Treatment	Test item	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%)	Mean MNBN cell frequency (%)	Statistical significance
3 + 21 hr without activation	DMSO	0	-	0.43	-
	LNP023	300.0	0	0.85	$p \leq 0.05$
		400.0	0	0.80	$p \leq 0.05$
		459.0	0	1.20	$p \leq 0.001$
	MMC	0.30	30	9.95	$p \leq 0.001$
3 + 21 hr with activation	DMSO	0	-	0.45	-
	LNP023	300.0	9	1.00	$p \leq 0.01$
		400.0	5	0.75	NS
		459.0	8	0.85	$p \leq 0.05$
	CPA	2.00	46	4.00	$p \leq 0.001$
24 + 24 hr without activation	DMSO	0	-	0.80	-
	LNP023	300.0	5	0.50	NS
		400.0	18	0.40	NS
		459.0	17	0.80	NS
	VIN	0.04	35	7.15	$p \leq 0.001$

2.6.7.8D ヒトリンパ球を用いた小核試験（続き）

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay Study no. 1470562

Experiment 2

Treatment	Test item	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%)	Mean MNBN cell frequency (%)	Statistical significance
3 + 21 hr	DMSO	0	-	0.25	-
without activation	LNP023	300.0	0	0.50	NS
		350.0	0	0.20	NS
		400.0	0	0.30	NS
		459.0	0	0.55	NS
	MMC	0.30	40	3.65	$p \leq 0.001$
3 + 21 hr	DMSO	0	-	0.45	-
with activation	LNP023	300.0	0	0.25	NS
		350.0	2	0.60	NS
		400.0	6	0.20	NS
		459.0	9	0.50	NS
	CPA	3.00	63	1.95	$p \leq 0.001$

CPA = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MMC = mitomycin C; MNBN = micronucleated binucleate; NS = not significant; VIN = vinblastine

Cytotoxicity is 100 – relative RI where relative RI is calculated using the formula below:

Relative RI = (number binucleate cells + 2 × number multinucleate cells) / total number of cells in treated cultures / (number binucleate cells + 2 × number multinucleate cells) / total number of cells in control cultures × 100

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A ラットを用いた *in vivo* 小核試験

Test article: LNP023

Report title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period and micronucleus assessment **Study no.:** [1470568]

Test for induction of: Micronuclei **Treatment schedule:** At least 4 weeks **Location in CTD:** 4.2.3.2-2.1

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han) **Sampling time:** day 3 and at necropsy (only samples taken at necropsy were analyzed for micronucleus) **GLP compliance:** Yes

Initial age: Approximately 10 weeks (at start of dosing) **Method of administration:** Oral (gavage), once daily **Date of first dosing:** [redacted]-20[redacted]

Cells evaluated: Peripheral blood reticulocytes **Vehicle / formulation:** 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% v/v Tween 80 / suspension

No. of cells analyzed per animal: Approx. 20000 reticulocytes

Special features: None

Toxicity / Cytotoxicity effects: None

Genotoxic effects: None

Evidence of exposure: Toxicokinetics

Daily dose (mg/kg)		**No. of animals**	**Frequency (%)** [a]			
			Male		Female	
			MN-RET (Mean ± SD)	RET (Mean ± SD)	MN-RET (Mean ± SD)	RET (Mean ± SD)
Negative controls	0	M: 6, F: 6	0.06 ± 0.02	2.9 ± 0.4	0.04 ± 0.02	4.3 ± 1.2
LNP023	100	M: 6, F: 6	0.04 ± 0.03	2.8 ± 0.6	0.04 ± 0.01	4.3 ± 0.8
	300	M: 6, F: 6	0.05 ± 0.02	2.8 ± 0.5	0.04 ± 0.01	4.2 ± 0.9
	1000	M: 6, F: 6	0.05 ± 0.03	2.7 ± 0.7	0.05 ± 0.03	4.0 ± 1.2

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MN-RET = micronucleated reticulocyte; RET = reticulocyte; SD = standard deviation

a = frequencies are calculated as follows:

Frequency MN-RET = (Number of MN-RETs × 100) / (number of RETs + number of MN-RETs)

Frequency RET = ((number of RETs + number of MN-RETs) × 100) / (number of RETs + number of MN-RETs + number of NCEs + number of MN-NCEs)

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A 長期がん原性試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat

Study no.: [1770877]

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)

Duration of dosing: 104 weeks

Location in CTD: 4.2.3.4.1-1

Initial age: 8 to 10 weeks

Method of administration: Oral (gavage), once daily

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Treatment of controls:
Control I: purified water
Control II: aqueous 0.5% w/w methylcellulose (Type 15 cPs) + 0.5% w/w Tween® 80 (Polysorbate 80)

Special features: Scheduled euthanasias were performed during Weeks 99 and 100 (Days 693 and 694) of the dosing phase for Group 5 carcinogenicity females (after survival in that group and sex reached 15 animals), and during Weeks 102 and 103 (Days 713 through 721) of the dosing phase for all carcinogenicity males (after survival reached 15 animals in Group 5 carcinogenicity males and 25 animals in Group 1 and 4 carcinogenicity males).

Basis for high-dose selection: The selection of the highest dose level of 750 mg/kg/day for the current study was proposed based on toxicity observations from the previously conducted 4-, 13- and 26-week toxicity studies in Crl:Wist Han rats (Novartis Study 1470568, Novartis Pharma AG (2016); Covance Study 8348868, Covance Laboratories Ltd. 2017; and Covance Study 8373361; Covance Laboratories Ltd. 2019). Animal loss due to gavage-related reflux was observed in the 26-week rat study, most prominently for animals administered 750 mg/kg/day.

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5) [a]**	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Toxicokinetics:											
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	11.7	12.1	24.9	19.8	52.9	40.5
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	NA	NA	61.8	57.6	162	118	497	501
Day 176	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	16.8	14.7	21.7	19.1	94.6	61.6
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	NA	NA	88.8	58.1	170	136	733	498

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Noteworthy findings:										
Number of animals:										
At start	50 [b]	50	50	50 [b]	50	50	50	50	50 [b]	50
Died / sacrificed moribund [c]	26	21	22	23	22	16	24	14	26	32
Accidental deaths	1	0	0	0	0	1	1	1	10	3
Terminal sacrifice	25	29	28	28	28	33	25	35	15	15
Survival (%)										
Early terminal (Week 99-100)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	30
Early terminal (Week 102-103)	50 [d]	NA	56	NA	56	NA	50	NA	30 [d]	NA
Terminal (Week 105-106)	NA	58	NA	56 [d]	NA	66	NA	70	NA	NA
Mass observations:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations [d]:										
Discharge										
excessive salivation, mild, clear	0	0	0	0	6	11	9	20	15	28
excessive salivation, mild, colorless	0	0	0	0	1	3	1	11	16	20
excessive salivation, mild, pink	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
excessive salivation, mild, red	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
excessive salivation, moderate, clear	0	0	0	0	0	3	0	4	2	3
excessive salivation, moderate, colorless	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
excessive salivation, moderate, orange	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
excessive salivation, moderate, red	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Clinical observations (cont.) [d]:										
Pelage										
abnormal color, dorsal cervical, brown	-	1	-	2	-	0	-	1	-	0
abnormal color, dorsal cervical, left, red	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
abnormal color, dorsal cervical, orange	-	24	-	24	-	17	-	19	-	8
abnormal color, dorsal cervical, pink	-	7	-	5	-	2	-	3	-	1
abnormal color, dorsal cervical, red	-	17	-	13	-	13	-	11	-	5
abnormal color, dorsal cervical, right, orange	-	1	-	0	-	2	-	0	-	0
abnormal color, dorsal cervical, right, red	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
abnormal color, ventral, orange	0	-	0	-	1	-	1	-	0	-
abnormal color, ventral, yellow	47	-	48	-	45	-	44	-	36	-
oily	4	-	4	-	9	-	9	-	9	-
rough	5	-	5	-	15	-	14	-	11	-
thinning, dorsal	-	33	-	30	-	29	-	25	-	19
thinning, dorsal cervical	-	7	-	8	-	3	-	4	-	2
thinning, dorsal cervical, left	-	2	-	3	-	1	-	0	-	1
thinning, dorsal cervical, right	-	3	-	0	-	1	-	1	-	1
thinning, dorsal thoracic	-	10	-	11	-	4	-	7	-	2
thinning, dorsal thoracic, left	-	1	-	0	-	2	-	0	-	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Clinical observations (cont.) [d]:										
Physical appearance										
obese	-	2	-	2	-	10	-	8	-	6
swollen area, abdomen, mild	-	6	-	4	-	2	-	3	-	9
swollen area, abdomen, right, mild	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
Respiration										
audible	1	5	2	6	2	7	7	9	16	13
fast	1	0	0	1	1	1	1	1	7	3
irregular	1	2	1	1	1	3	4	4	5	5
labored	2	0	3	4	5	2	7	3	8	7
shallow	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0
Skin										
scaly, tail	-	1	-	1	-	2	-	6	-	7
Postdose observations:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic examinations:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight gain (%) [e]:										
Days 1-687	NA	206.3 g	NA	215.6 g	NA	+15.2	NA	+28.1 *	NA	+43.6 *
Days 1-708	458.7 g	NA	458.4 g	NA	+6.6	NA	+2.1	NA	−6.9	NA
Days 1-728	NA	213.9 g	NA	219.0 g	NA	+16.6	NA	+25.3 *	NA	NA
Food consumption (%) [e]:										
Days 1-225	-	14.3 g/ animal/day	-	14.4 g/ animal/day	-	+2.8	-	+4.9	-	+9.7 *
Days 260-519	-	14.6 g/ animal/day	-	15.2 g/ animal/day	-	+5.9	-	+0.7	-	+11.2 *

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Days 519-687	-	15.1 g/ animal/day	-	15.9 g/ animal/day	-	±0.0	-	+0.6	-	+14.5 *
Macroscopic observations:										
Thyroid										
Dark	17	8	22	8	20	13	18	22	23	20
Liver										
Mottled	32	21	35	20	45	31	42	38	42	32
Microscopic observations:										
Neoplastic findings:										
Noteworthy findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Other findings:										
Adrenal No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Benign phaeochromocytoma	3	0	3	0	3	0	2	0	1	0
B-Cortical adenoma	2	2	2	0	0	2	1	0	0	1
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
I-Locally invasive tumour	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Malignant phaeochromocytoma	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Blood vessel No. examined	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Haemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone, other No. examined	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0
M-Osteosarcoma	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Brain	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Benign granular cell tumour		2	0	0	3	0	1	0	1	1	0
B-Benign pinealoma		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour		1	1	0	1	0	0	0	0	1	0
M-Malignant granular cell tumour		0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
M-Malignant oligodendroglioma		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Cecum	No. examined	49	50	49	50	49	50	49	50	47	48
B-Leiomyoma		0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Clitoral gland	No. examined	NA	49	NA	50	NA	49	NA	50	NA	50
M-Adenocarcinoma		NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Connective tissue	No. examined	5	6	2	3	3	6	4	3	4	6
B-Haemangioma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Mesothelioma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
M-Sarcoma nos		1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
N-Metastatic tumour		1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Ear	No. examined	0	0	0	1	2	0	1	0	4	1
B-Neurofibroma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Epididymis	No. examined	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	51	NA
F-Haemolymphoreticular tumour		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
I-Locally invasive tumour		0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA
M-Malignant mesothelioma		1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Eye	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	50	49
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Schwannoma, intraocular, malignant		0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Femur + marrow	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
I-Locally invasive tumour		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Foot	No. examined	12	1	6	2	8	2	7	1	2	0
B-Benign hair follicle tumour		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Sarcoma nos		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Harderian gland	No. examined	50	50	50	49	50	50	50	50	51	49
B-Adenoma		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Heart	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Hemolympho-reticular system	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
M-Leukemia, lymphoblastic		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
M-Malignant lymphoma-lymphoblastic		0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
M-Malignant lymphoma-lymphocytic		0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
M-Malignant lymphoma-plasmacytic		0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Jejunum	No. examined	50	50	49	50	49	50	48	50	44	46
M-Adenocarcinoma		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
M-Leiomyosarcoma		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
M-Osteosarcoma		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidney	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	2	0	1	1	0	0
M-Nephroblastoma		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Lacrimal gland	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	49
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	2	0	1	0	1	0
Larynx	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Liver	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Hepatocellular adenoma		2	1	1	0	0	2	2	1	2	3
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	2	0	1	1	1	0
I-Locally invasive tumour		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Cholangiocarcinoma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-Metastatic tumour		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Lung	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
N-Metastatic tumour		3	1	0	1	1	1	2	0	0	0
Lymph node (LN)	No. examined	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
LN, axillary	No. examined	47	50	48	50	49	50	49	49	50	46
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	1	1	1	0
I-Locally invasive tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
LN, bronchial	No. examined	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
LN, cervical	No. examined	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
F-Haemolymphoreticular tumour		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
LN, iliac	No. examined	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	1	1	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):										
LN, inguinal No. examined	45	42	43	41	47	44	48	45	45	45
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	2	0	1	1	1	0
I-Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Metastatic tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
LN, mandibular No. examined	50	50	50	50	50	50	49	50	51	48
F-Haemolymphoreticular tumour	0	2	0	0	3	0	1	1	1	0
I-Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Metastatic tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
LN, mediastinal No. examined	8	0	4	2	5	2	1	4	3	3
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
LN, mesenteric No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Haemangioma	3	0	0	1	3	3	0	0	2	0
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
M-Haemangiosarcoma	2	1	2	1	2	0	2	1	1	0
N-Metastatic tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
LN, popliteal No. examined	48	50	47	50	48	49	48	49	47	48
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	1	1	2	0
LN, renal No. examined	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
M-Haemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Mammary gland	No. examined	25	47	29	49	25	50	27	49	27	50
B-Adenoma		0	4	0	0	0	0	0	1	0	0
B-Fibroadenoma		0	14	1	10	0	9	0	7	0	2
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Adenocarcinoma		0	3	0	3	0	1	0	1	0	2
Mandibular salivary gland	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	49
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Adenocarcinoma		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Muscle, biceps femoris	No. examined	50	49	50	50	50	50	50	50	50	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Muscle, other		0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
M-Schwannoma		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Nasal cavity	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Stromal polyp		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	1	1	1	0
M-Adenocarcinoma		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Oral cavity	No. examined	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
B-Squamous cell papilloma		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Ovary	No. examined	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
B-Benign granulosa cell tumour		NA	1	NA	2	NA	0	NA	2	NA	1
B-Benign luteoma		NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
B-Benign sertoli cell tumour		NA	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
B-Tubulostromal adenoma		NA	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
M-Cystadenocarcinoma		NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0
M-Leiomyosarcoma, mesovarial		NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
M-Malignant granulosa cell tumour		NA	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
M-Tumor, sex cord stromal, malignant		NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0
Pancreas	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
B-Acinar cell adenoma		1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
B-Islet cell adenoma		2	0	2	0	5	1	1	0	4	0
I-Locally invasive tumour		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Islet cell carcinoma		2	1	1	0	3	0	2	0	1	0
N-Metastatic tumour		0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Parathyroid	No. examined	48	48	49	48	47	49	50	50	49	49
B-Adenoma		0	0	0	0	0	0	2	1	1	0
Parotid salivary gland	No. examined	50	50	50	49	50	50	50	50	51	49
B-Adenoma		0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
M-Malignant schwannoma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Penis	No. examined	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
B-Hemangioma		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Pituitary	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	49
B-Adenoma		19	32	21	23	15	29	17	26	11	20
M-Carcinoma		1	1	0	2	1	1	0	0	2	0
Preputial gland	No. examined	49	NA	49	NA	48	NA	50	NA	51	NA
I-Locally invasive tumour		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Prostate	No. examined	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	51	NA
B-Adenoma		0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
M-Carcinosarcoma		0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
N-Metastatic tumour		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Seminal vesicle	No. examined	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	51	NA
I-Locally invasive tumour		0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):										
Skin / subcutis No. examined	49	50	50	50	49	50	50	50	51	49
B-Benign hair follicle tumour	3	0	2	0	3	0	4	0	3	0
B-Dermal fibroma	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0
B-Fibroma	4	0	5	1	4	0	2	2	0	1
B-Haemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
B-Keratoacanthoma	1	0	2	0	0	1	2	0	0	0
B-Lipoma	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0
B-Sebaceous cell adenoma	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma	2	0	1	0	1	0	0	1	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
M-Fibrosarcoma	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
M-Haemangiosarcoma	1	0	1	0	1	0	2	0	0	0
M-Liposarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
M-Malignant basal cell tumour	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
M-Malignant schwannoma	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0
M-Osteosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
M-Sarcoma NOS	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Sebaceous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
M-Squamous cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
N-Metastatic tumour	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Soft palate	No. examined	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	2	0	1	1	1	0
Sternum + marrow	No. examined	50	50	49	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
N-Metastatic tumour		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Stomach	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M-Adenocarcinoma		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sublingual salivary gland	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	49
F-Haemolymphoreticular tumour		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tail	No. examined	9	3	6	2	7	3	9	0	2	2
B-Fibroma		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B-Keratoacanthoma		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
B-Squamous cell papilloma		0	0	1	0	1	0	1	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control I – Group 1)**		**0 (Control II – Group 2)**		**150 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**750 (Group 5)** [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):										
Testis No. examined	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	51	NA
B-Leydig cell adenoma	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	0	NA
F-Haemolymphoreticular tumour	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
I-Locally invasive tumour	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
M-Leydig cell carcinoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Thoracic cavity No. examined	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
I-Locally invasive tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Thymus No. examined	43	49	45	48	47	50	46	49	48	49
B-Benign thymoma	3	7	4	2	5	6	4	10	4	8
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0
M-Malignant thymoma	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Thyroid No. examined	50	49	50	50	50	50	50	50	51	50
B-C-cell adenoma	4	5	4	1	7	3	2	4	5	4
B-Follicular cell adenoma	4	2	3	0	5	3	3	2	3	1
M-C-cell carcinoma	2	2	3	3	1	0	2	0	1	0
M-Follicular cell carcinoma	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
Trachea No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Urinary bladder No. examined	50	49	49	50	50	48	50	50	50	48
B-Papilloma, transitional cell	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
F-Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)		0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated		M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Neoplastic findings - other findings (cont.):											
Uterus	No. examined	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
B-Benign granular cell tumour		NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
B-Fibroma, cervical		NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
B-Polyp, endometrial stromal		NA	10	NA	9	NA	4	NA	10	NA	3
M-Adenocarcinoma		NA	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0
M-Haemangiosarcoma		NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
M-Leiomyosarcoma		NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
M-Malignant schwannoma		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Vagina	No. examined	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50	NA	50
I-Locally invasive tumour		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Zymbal gland	No. examined	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
M-Carcinoma		0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
Non-neoplastic findings:											
Liver	No. examined	50	50	50	50	50	50	50	50	51	50
Vacuolation, hepatocyte											
Minimal		28	22	27	23	26	26	25	27	30	26
Slight		13	3	13	4	14	5	11	10	5	8
Moderate		3	1	0	0	4	3	4	3	5	1
Marked		0	0	0	0	0	0	2	0	1	0

2.6.7.10A がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: 104 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the rat Study no. 1770877

Daily dose (mg/kg)	0 (Control I – Group 1)		0 (Control II – Group 2)		150 (Group 3)		300 (Group 4)		750 (Group 5) [a]	
Number of animals evaluated	M: 52 [b]	F: 50	M: 50	F: 51 [b]	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 51 [b]	F: 50
Non-neoplastic findings (cont.):										
Thyroid No. examined	50	49	50	50	50	50	50	50	51	50
Hyperplasia, C-cell, diffuse										
Minimal	14	18	10	15	11	16	14	13	3	6
Slight	21	17	22	18	21	18	16	27	15	11
Moderate	4	2	3	5	8	8	8	5	10	10
Hypertrophy, follicular cell										
Minimal	8	3	11	3	10	5	13	5	7	12
Slight	3	4	3	0	4	2	9	3	7	2
Moderate	0	0	1	0	0	1	0	0	2	4
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

B- = benign; BLOQ = below lower limit of quantitation (< 0.100 µg/mL); F = female; F- = hemolymphoreticular; GLP = Good Laboratory Practice; I- = locally invasive; M = male; M- = malignant; N- = metastatic; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; *: $p \leq 0.05$ (ANOVA and Dunnett's test)

a = The dose volume for Group 5 was increased from 5 to 7.5 mL/kg at the start of Week 21; this resulted in a lower dose formulation concentration required for preparation of the high dose group formulation, the intention of which was to mitigate the higher than expected incidence/rate of mortality which had been observed in that group until that time.

b = Two control I males (one found dead on Day 11 and one sacrificed in moribund condition on Day 12), one control II female (euthanized in moribund condition on Day 16), and one male administered 750 mg/kg/day (euthanized in moribund condition on Day 9) were replaced during the first 4 weeks of the dosing phase.

c = A total of 243 carcinogenicity animals died or euthanized early at an unscheduled interval (132 males and 111 females). The cause of demise for 17 of the decedents was procedure-related; the cause of demise for the remaining 226 decedents was pituitary tumor, skin/subcutis tumor, mammary tumor, or not determined; no causes of demise were considered test article-related.

d = Replaced animals excluded from survival calculations and summary clinical observations.

e = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from vehicle control (Group 2) are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.10B　がん原性試験：最大耐量試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) administration maximum tolerated dose study in the wild type RasH2 mouse

Study no.: [2070102]

Species / strain: Mouse / wild type rasH2

Duration of dosing: 7 days

Location in CTD: 4.2.3.4.3-1

Initial age: 9 to 10 weeks

Duration of postdose: None

GLP compliance: No

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: None

No observed adverse effect level: 1000 mg/kg/day

Study results:

LNP023 was well tolerated at all doses tested (150, 500, 1000 mg/kg/day by oral gavage for 7 days; N = 3 males and 3 females/group). Only few findings included a minor transient body weight loss, and a commensurately reduced food consumption, for males administered 500 or 1000 mg/kg/day.

GLP = Good Laboratory Practice

2.6.7.10C　がん原性試験：用量設定試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: 28 day oral (gavage) administration toxicity study in the wild type RasH2 transgenic mouse

Study no.: [1770875]

Species / strain: Mouse / wild type rasH2

Duration of dosing: 28 days

Location in CTD: 4.2.3.4.3-2

Initial age: 8 to 10 weeks

Duration of postdose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: None

No observed adverse effect level: 1000 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**150 (Group 2)**		**500 (Group 3)**		**1000 (Group 4)**	
Number of animals		M: 16	F: 18	M: 25	F: 27	M: 25	F: 27	M: 25	F: 27
Toxicokinetics:									
Day 1	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	26.3	27.1	59.3	52.5	71.9	75.1
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	67.0	53.4	213	190	496	330
Day 26	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	25.1	23.3	44.4	51.6	57.3	63.6
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	66.7	60.0	152	158	304	269
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		0	0	0	0	0	0	0	1 [a]

BLOQ = below lower limit of quantitation (< 0.100 µg/mL); F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; - = no noteworthy findings

a = One high dose toxicity female was euthanized in a moribund condition, which was not considered to be test article related.

2.6.7.10D 短・中期がん原性試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse

Study no.: [1770876]

Species / strain: Mouse / CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (RasH2 tg/wt, model 1178-hemizygous)

Duration of dosing: at least 26 weeks

Location in CTD: 4.2.3.4.2-1

Initial age: 7 or 8 weeks

Method of administration: Oral (gavage), once daily

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Treatment of controls:
Positive control: N-methyl-N-nitrosourea (NMU)
Positive control vehicle: acidified physiological saline

Special features: None

Basis for high-dose selection: A high dose of 1000 mg/kg/day was expected to be the maximum feasible dose. Therefore, dose levels of 100, 300 and 1000 mg/kg/day were selected for the current study.

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Number of Toxicokinetic animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0
Toxicokinetics:													
Week 22 (Day 148)	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	9.80	10.8	26.1	30.6	71.5	80.4	NA	NA
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	NA	NA	25.5	27.1	63.1	56.0	196	258	NA	NA
Noteworthy findings:													
LNP023 Treated Groups													
Number of animals:													
At start		25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	NA	NA
Died / sacrificed moribund [a]		5	1	1	2	1	2	2	2	2	2	NA	NA
Terminal sacrifice		20	24	24	23	24	23	23	23	23	23	NA	NA
Survival (%)		80	96	96	92	96	92	92	92	92	92	NA	NA
Clinical observations:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Postdose observations:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Mass observations:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Ophthalmic examinations:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Body weight:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Gross pathology:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Histopathology - Non-neoplastic findings:													
Liver	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Vacuolation, hepatocyte													
Minimal		4	0	4	2	9	1	12	7	11	7	-	-
Slight		0	0	3	0	3	0	1	1	4	0	-	-
Histopathology - Other neoplastic lesions:													
Adrenal	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	4	1
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Aorta	No. examined	23	24	25	25	24	25	25	25	25	25	0	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Bone, femur + marrow	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	5	4
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Bone, sternum + marrow	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	0	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	-	-
Brain	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	1
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Cervix	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	0
F - Hematolymphoid		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	-
Duodenum	No. examined	25	25	25	25	25	24	25	25	25	25	2	2
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Eye	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	0	1
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
GALT / Peyer's patch	No. examined	25	25	25	25	25	24	25	25	25	24	1	1
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Harderian gland	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	0
B - Adenoma		0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	-	-
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Heart	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	1
F - Hematolymphoid		0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	-	-
Hemolympho-reticular system	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
M - Lymphoma, lymphoblastic		0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	-	-
Kidney	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	12	6
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Lacrimal gland	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	24	25	24	2	2
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Liver	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	14	13
F - Hematolymphoid		0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	-	-
Lung	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	7	7
B - Adenoma, bronchiolo-aveolar		1	0	0	1	2	2	2	0	1	1	-	-
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
M - Carcinoma, bronchiolo-aveolar		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	-	-
Lymph node (LN)	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	4
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
LN, inguinal	No. examined	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	6
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
LN, mandibular	No. examined	23	24	25	24	25	25	25	25	25	25	3	9
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
LN, mesenteric	No. examined	24	25	24	25	24	24	24	25	24	24	7	11
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
Mesentery	No. examined	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M - Hemangiosarcoma		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Muscle, biceps, femoris	No. examined	24	25	23	24	25	25	25	24	25	25	1	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Nasal turbinate	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	0	0
B - Papilloma, squamous cell		0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	-	-
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Nerve, sciatic	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	0	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
Ovary	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	1
F - Hematolymphoid		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	-
Oviduct	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	0
F - Hematolymphoid		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	-
Pancreas	No. examined	25	25	24	25	25	25	24	25	24	25	4	1
F- Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Penis	No. examined	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
B - Papilloma, squamous cell		0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	-	NA
Pituitary	No. examined	24	25	24	23	25	25	25	25	25	25	2	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Salivary gland, mandibular	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	2
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
M - Carcinoma, squamous cell		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	-	-
Skin / subcutis	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	6	9
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
M - Hemangiosarcoma		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	-
Spleen	No. examined	25	25	23	25	25	25	25	25	25	25	21	23
B - Hemangioma		0	0	0	1	1	2	0	0	1	0	-	-
F - Hematolymphoid		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	-	-
M - Hemangiosarcoma		1	2	0	0	1	0	1	1	2	0	-	-
Stomach	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	16	8
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-
M - Hemangiosarcoma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	-	-
Testis	No. examined	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	0	NA
M - Hemangiosarcoma		0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	-	NA
Thymus	No. examined	24	23	25	25	25	25	25	24	24	24	25	25
F - Hematolymphoid		0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	-	-
Thyroid	No. examined	24	25	25	25	24	25	25	25	25	25	0	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Trachea	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	0	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Urinary bladder	No. examined	25	25	25	24	25	24	25	25	24	25	1	0
F - Hematolymphoid		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	-
Uterus	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	1
F - Hematolymphoid		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	-
Vagina	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	4
F - Hematolymphoid		NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	-
MNU Treated Group													
Number of animals:													
At start		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	25	25
Died / sacrificed moribund [a]		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	21	24
Terminal sacrifice		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	1
Survival (%)		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16	4
Clinical observations:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Postdose observations:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Mass observations:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Ophthalmic examinations:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Body weight:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Food consumption:		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Gross pathology:													
Bone, femur + marrow	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	4
Cecum	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Dark		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Intussusception		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Connective tissue	No. examined	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Adhesion		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
Thick		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Heart	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Pale		-	-	-	-	-	-	-		-	-	1	1
Ileum	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Intussusception		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Kidney	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	3
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	4
Pale area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Gross pathology (cont.):													
Liver	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	10
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	7
Pale area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
Thick		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Lung	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	3
Pale area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Pale focus		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
LN	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3
LN, axillary	No. examined	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
LN, bronchial	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
LN, iliac	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	6
LN, inguinal	No. examined	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	8
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Gross pathology (cont.):													
LN, mandibular	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	9
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
LN, mediastinal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
LN, mesenteric	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	10
LN, popliteal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	6
LN, renal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
Oral cavity	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
Raised area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
Penis	No. examined	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Mass		-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1	NA

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Gross pathology (cont.):													
Skin / subcutis	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Mass 1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6
Mass 2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
Mass 3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Mass 4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Raised area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1
Spleen	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	22
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Pale		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5
Pale area												0	1
Raised area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Stomach	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Irregular surface		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Raised area		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	6
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Gross pathology (cont.):													
Thymus	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Large		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	13
Mass		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	7
Thick		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	7
Firm		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Vagina	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25
Mass		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1
Mass multiple		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1
Histopathology - Noteworthy neoplastic lesions:													
Ear	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B - Papilloma, Squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Foot	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
B - Papilloma Squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
Hemolympho-reticular system	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
M - Lymphoma, lymphoblastic		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	24
Liver	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	14	13
M - Hemangiosarcoma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Mammary gland	No. examined	9	25	17	25	14	25	14	23	11	25	1	1
M - Carcinoma, adenosquamous		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Oral cavity	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
B - Papilloma, squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Noteworthy neoplastic lesions (cont.):													
Penis	No. examined	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
B - Papilloma, Squamous cell		-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1	NA
Salivary gland, mandibular	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	2
M - Carcinoma, squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Skin / subcutis	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	6	9
B - Papilloma, squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	7
M - Carcinoma, squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Spleen	No. examined	25	25	23	25	25	25	25	25	25	25	21	23
M - Hemangiosarcoma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Stomach	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	16	8
B - Papilloma, squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	5
M - Carcinoma squamous cell		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0
Vagina	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	4
B - Papilloma, squamous cell		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	2
Histopathology - Other neoplastic lesions:													
Bone, femur + marrow	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	5	4
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
Brain	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Cecum	No. examined	25	25	24	24	25	25	25	25	25	24	5	1
B - Adenoma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
M - Adenocarcinoma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Connective tissue	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
GALT / Peyer's patch	No. examined	25	25	25	25	25	24	25	25	25	24	1	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Heart	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	1	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Ileum	No. examined	25	24	25	25	25	24	25	25	25	24	2	2
M - Adenocarcinoma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Jejunum	No. examined	25	25	24	25	25	25	25	25	25	24	2	0
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Kidney	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	12	6
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	3
Lacrimal gland	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	24	25	24	2	2
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
Liver	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	14	13
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	12

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Lung	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	7	7
B - Adenoma, bronchiolo-alveolar		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	6
N - Tumor, metastatic		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
LN	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	4
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
LN, axillary	No. examined	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
LN, bronchial	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
LN, iliac	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	6
LN, inguinal	No. examined	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	6
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6
LN, mandibular	No. examined	23	24	25	24	25	25	25	25	25	25	3	9
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	8
LN, mediastinal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
LN, mesenteric	No. examined	24	25	24	25	24	24	24	25	24	24	7	11
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	11
LN, popliteal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	6

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
LN, renal	No. examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
Ovary	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	1
F - Hematolymphoid		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1
Pancreas	No. examined	25	25	24	25	25	25	24	25	24	25	4	1
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
Spleen	No. examined	25	25	23	25	25	25	25	25	25	25	21	23
B - Hemangioma		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	19
Stomach	No. examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	16	8
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1
Thymus	No. examined	24	23	25	25	25	25	25	24	24	24	25	25
F - Hematolymphoid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	24
Uterus	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	1
F - Hematolymphoid		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1

2.6.7.10D がん原性試験（続き）

Report title: LNP023: A 26 week oral (gavage) administration carcinogenicity study in the transgenic rasH2 transgenic mouse Study no. 1770876

Daily dose (mg/kg)		**0 (Vehicle control - Group 1)**		**0 (Water control - Group 2)**		**100 (Group 3)**		**300 (Group 4)**		**1000 (Group 5)**		**75 (Positive control - Group 6)**	
Gender		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Histopathology - Other neoplastic lesions (cont.):													
Vagina	No. examined	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	25	NA	4
F - Hematolymphoid		NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA	1

B - = benign; BLOQ = below the lower limit of quantification (< 0.100 µg/mL); F - = hemolymphoreticular; GLP = Good Laboratory Practice; M - = malignant; MNU = N-methyl-N-nitrosourea; N - = metastatic; - = no noteworthy findings

a = One vehicle control male (M0003) was sacrificed in a moribund condition on Day 122 due to skin / appendage lesion; four control males (Animals M0005, M0009, M0010 and M0019) on Days 82, 83, 175, 81, one water control female (Animal M0720) on Day 170, and one female (Animal M1023) administered 1000 mg/kg/day on Day 138 were determined as accidental deaths due to study procedure (gavage injury); one water control male (M0120) on Day 99 and one female administered 100 mg/kg/day (Animal M0813) were found dead on Day 119, and one female administered 300 mg/kg/day (Animal M0904) on Day 148 were sacrificed in a moribund condition - cause of death was undetermined; one male and one female administered 100 mg/kg/day (Animals M0201 and M0807, respectively) were sacrificed in a moribund condition on Days 176 and 143 respectively, and one vehicle control female (Animal M0623) was found dead on Day 130 due to hemangiosarcoma; one male administered 300 mg/kg/day (Animal M0314) was euthanized on Day 106 due to a brain / spinal cord lesion; one male administered 300 mg/kg/day (Animal M0315) was sacrificed in a moribund condition on Day 170 due to an eye lesion; one male administered 1000 mg/kg/day (Animal M0405) was sacrificed in a moribund condition on Day 113 due to a bronchio-alveolar adenoma; one male administered 1000 mg/kg/day (Animal M0410) was sacrificed in a moribund condition on Day 44 due to squamous cell papilloma; one water control female (Animal M0721) was sacrificed in a moribund condition on Day 181 due to a lymphoblastic lymphoma / esophageal rupture; and one female administered 300 mg/kg/day (Animal M0921) on Day 118, one female administered 1000 mg/kg/day (Animal M1003) on Day 85 were found dead due to lymphoblastic lymphoma. Furthermore, one toxicokinetic male administered 1000 mg/kg/day (Animal M0433) was found dead on Day 133, and one toxicokinetic female administered 300 mg/kg/day (Animal M0931) was found dead on Day 121 - cause of death was undetermined. Mortality was high among positive control animals, with 21 of 25 males and 24 of 25 females found dead or euthanized prior to scheduled euthanasia. Decreased survival of positive control animals was generally related to malignant neoplasms, including malignant lymphoblastic lymphoma (multiple sites) and squamous cell papilloma (skin / subcutis including ear), and were considered the cause of death or demise of these animals.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

2.6.7.12 生殖発生毒性試験

2.6.7.12A ラットを用いた雄授胎能に関する試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) fertility study in the male rat

Study no.: [1870193]

Design similar to ICH 4.1.1?: Yes

Duration of dosing:

Location in CTD: 4.2.3.5.1-1

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)

Males: 13 weeks prior to pairing, during pairing and up to the day prior to necropsy (up to 116 days)

Females: Not dosed

GLP compliance: Yes

Initial age: 7 to 8 weeks

Day of mating: GD 0

Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Date of first dose: [redacted]-20[redacted]

Day of C-section: GD 13

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Special features: Seminology

No observed adverse effect level: F0 males: 750 mg/kg/day, F1 litters: 750 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	50	150	750
Males	No. evaluated:	25	25	25	25
	No. died or sacrificed moribund:	0	1 [a]	1 [b]	2 [c]
	Clinical observations:	-	-	-	-
	Postdose observations:	Test article-related postdose observations were limited to salivation and mouth rubbing for animals administered 150 or 750 mg/kg/day.			
	Necropsy observations:	-	-	-	-
	Pre-pairing body weight gain:	-	-	-	-
	Pairing body weight gain:	-	-	-	-
	Post-pairing body weight gain:	-	-	-	-
	Pre-pairing food consumption:	-	-	-	-
	Post-pairing food consumption:	-	-	-	-

2.6.7.12A ラットを用いた雄授胎能に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) fertility study in the male rat Study no. 1870193

Daily dose (mg/kg) [a]		0 (Control)	50	150	750
Males (cont.)	Mean no. days prior to mating:	2.6	2.8	2.7	2.5
	Seminology:	-	-	-	-
	Organ weights:	-	-	-	-
	Microscopic observations:	-	-	-	-
Females	No. of females with confirmation of mating:	25	24	25	25
	No. of pregnant females:	23	24	24	24
	No. aborted or with no viable fetuses:	0	0	0	0
	Mean no. corpora lutea:	14	13	14	13
	Mean no. implantation sites:	13	12	13	12
	Mean % pre-implantation loss:	8.8	6.4	10.6	8.9
	Mean no. early resorptions:	1	1	1	1
	Mean no. late resorptions:	0	0	0	0
	Mean % post-implantation loss:	9.8	11.3	6.2	8.4
	Mean no. live embryos:	12	11	12	11

M = male; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice

a = One animal found dead on Pre-pairing Day 24. Macroscopic observations found clear fluid in the thoracic cavity, indicating dosing trauma as cause of death.

b = One animal found dead on Pre-pairing Day 43. Macroscopic observations found clear fluid in the thoracic cavity and a rupture to the esophagus, indicating dosing trauma.

c = One animal found dead on Pre-pairing Day 44; no cause of demise reveled upon macroscopic investigations. One animal sacrificed moribund on Pre-pairing Day 17, due to clinical observations of gasping and noisy respiration. Macroscopic observations found dark or red areas in the lungs, assumed to be caused by dosing trauma.

2.6.7.12B　ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) fertility and early embryonic development study in the female rat
Study no.: [1770670]
Design similar to ICH 4.1.1?: Yes
Duration of dosing:
Location in CTD: 4.2.3.5.1-2
Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)
Males: Not dosed
Females: 2 weeks prior to pairing, during pairing and up to GD 6 (up to 35 days)
GLP compliance: Yes
Initial age: 8 to 10 weeks
Day of mating: GD 0
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Day of C-section: GD 13
Method of administration: Oral (gavage), once daily

Special features: None
No observed adverse effect level: F0 females: 300 mg/kg/day, F1 litters: 300 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100	300	1000
Females	No. evaluated:	24	24	24	24
	No. died or sacrificed moribund:	0	0	0	0
	Clinical observations:	-	-	-	-
	Necropsy observations:	-	-	-	-
	Pre-pairing body weight gain (%) [a]:				
	Day 1 to 15	16.3 g	+19.6	+35.0 *	+65.6 ***
	Gestation body weight gain (%) [a]:				
	Day 0 to 13	51.3 g	−4.3	−13.6 +++	−20.9 +++
	Pre-pairing food consumption:	-	-	-	-
	Gestation food consumption:	-	-	-	-
	Mean no. estrous cycles / 14 days:	2.3	2.0	2.3	2.0

2.6.7.12B ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) fertility and early embryonic development study in the female rat Study no. 1770670

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Low)	300 (Intermediate)	1000 (High)
Females (cont.)	Mean no. days prior to mating:	2	2	2	3
	No. of females with confirmation of mating:	24	24	24	24
	No. of pregnant females:	23	17	21	22
	No. aborted or with no viable fetuses:	0	0	0	2
	Mean no. corpora lutea:	13	14	13	13
	Mean no. implantation sites:	11	12	12	10
	Mean % pre-implantation loss:	14.4	12.6	10.6	27.9
	Mean no. early resorptions:	0	1	1	2 ++
	Mean no. late resorptions:	0	0	0	0
	Mean % post-implantation loss:	2.9	4.6	7.1 +	22.6 ++
	Mean no. live embryos:	11	11	11	8

F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; - = no noteworthy findings; +: $p < 0.05$, ++: $p < 0.01$, +++: $p < 0.001$ (Wilcoxon Rank Sum Test);
*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$ (Dunnett Exact Homogenous Test)

a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13 生殖発生毒性試験

2.6.7.13A ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rat
Study no.: [1670321]
Design similar to ICH 4.1.3?: Yes
Duration of dosing: GD 6 to 17
Location in CTD: 4.2.3.5.2-1
Species / strain: Rat / Crl:WI(Han)
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age at mating: 9 to 11 weeks
Day of C-section: GD 21
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily
Special features: Clinical Pathology (total bilirubin)
No observed adverse effect level: F0 females: 1000 mg/kg/day, F1 litters: 1000 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
Dams	**Toxicokinetics:**					
	GD 17	Cmax (µg/mL)	BLOQ	10.4	22.7	36.0
		AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	41.5	123.0	278.0
	No. pregnant:		22	22	22	23
	No. died or sacrificed moribund:		0	0	0	1 [a]
	No. aborted or with total resorption of litter:		0	0	0	0
	Clinical observations:		-	-	-	-
	Postdose observations:		Piloerection was recorded at 6 hours postdose on GD 8 for two animals administered 1000 mg/kg/day and on GD 17 for two animals administered 300 mg/kg/day and four animals administered 1000 mg/kg/day. The timing of the observation was the same on each occasion recorded and a relationship to test article administration cannot be ruled out; however, as the observations were infrequent and the outcome in terms of body weight and food consumption for the animals in these groups was unaffected by LNP023 administration, the finding was considered not adverse.			
	Necropsy observations:		-	-	-	-
	Body weight:		-	-	-	-

2.6.7.13A ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rat Study no. 1670321

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
Dams (cont.)	Food consumption (%) [b]:	GD 6 to 7	20.5 g/animal	+6.8	−1.0	−13.2 ***
		GD 17 to 18	25.3 g/animal	+2.0	+3.6	+3.2
		GD 20 to 21	23.1 g/animal	−1.3	−0.4	+8.7 *
	Clinical chemistry:					
	Total bilirubin		Total bilirubin was below the level of quantification for animals administered vehicle (controls), 300 or 1000 mg/kg/day LNP023 including decedent Animals 91 (1000 mg/kg/day) at necropsy on GD 21. Two animals administered 100 mg/kg/day had measurable quantities (Animal 26: 3.0 µmol/L and Animal 29: 2.3 µmol/L).			
	Mean no. corpora lutea:		12	12	12	12
	Mean no. implantation sites:		11	11	10	11
	Mean % pre-implantation loss:		6.7	7.2	9.6	9.9
Litters	No. litters evaluated:		22	22	22	22
	No. live fetuses:		236	233	218	227
	Mean no. total resorptions:		0	1	1	0
	No. of litters with dead fetuses:		0	0	0	0
	Mean % post-implantation loss:		5.4	5.5	5.0	4.4
	Mean fetal body weight (g):		5.38	5.40	5.51	5.39
	Fetal sex ratios (% males):		55	52	54	49
	Fetal malformations:					
	Gross external malformations		-	-	-	-
	Fresh visceral malformations		-	-	-	-
	Fixed visceral malformations		-	-	-	-
	Skeletal malformations		-	-	-	-
	Total affected fetuses (litters)		0 (0)	2 (2)	1 (1)	2 (1)

2.6.7.13A ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rat Study no. 1670321

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
Litters (cont.)	Fetal variations:				
	Gross external variations	-	-	-	-
	Fresh visceral variations	-	-	-	-
	Fixed visceral variations	-	-	-	-
	Skeletal variations	-	-	-	-
	Skull: Incomplete ossification of the interparietal				
	Affected fetuses (litters)	1 (1)	2 (2)	13 (5)	12 (7 $)
	Skull: Incomplete ossification of the parietal				
	Affected fetuses (litters)	1 (1)	5 (4)	11 (6 $)	12 (7 $)
	Total affected fetuses (litters)	112 (22)	132 (22)	116 (22)	123 (22)

BLOQ = below lower limit of quantitation (< 0.100 µg/mL); GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; *: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$ (Dunnett Exact Homogenous Test), $: $p < 0.05$ (Fisher 1 tail ascending test)

a = One animal sent to necropsy on Gestation Day 13 following observations of labored, noisy, and rapid breathing and piloerection (raised hair); considered not to be test-article related.

b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13B　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) combined preliminary / dose range finding embryo-fetal development in the rabbit
Study no.: [1670322]
Design similar to ICH 4.1.3?: Yes
Duration of dosing: GD 7 to 20
Location in CTD: 4.2.3.5.2-2
Species / strain: Rabbit / Hra:(NZW)SPF
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age at mating: ≥ 5 months
Day of C-section: GD 29
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily
Special features: Clinical pathology (total bilirubin)
No observed adverse effect level: F0 females: 300 mg/kg/day, F1 litters: 600 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	50 (Group 2)	300 (Group 3)	600 (Group 4)
Dams	**Toxicokinetics:**					
	Gestation Day 20	Cmax (ng/mL)	BLOQ	6.07	20.4	65.6
		AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	37.8	188.0	732.0
	No. pregnant:		6	6	6	6
	No. died or sacrificed moribund:		0	0	0	1 [a]
	No. aborted or with total resorption of litter:		0	0	0	0
	Clinical observations:		The number of animals with observations of fur staining was increased in the group administered 600 mg/kg/day and this was considered to be related to LNP023 administration.			
	Necropsy observations:		-	-	-	-
	Body weight gain (%) [b]:	GD 7 to 21	0.15 kg	+46.7	−33.3	−80.0
	Food consumption (%) [b]:	GD 7 to 8	162.0 g/animal	+1.3	−19.9	−44.4 **
		GD 20 to 21	113.8 g/animal	−1.0	+3.6	−63.0 *
		GD 28 to 29	101.5 g/animal	−17.0	+6.0	+24.7
	Clinical chemistry:					
	Total bilirubin (µmol/L)		< 1.7	< 1.7	< 1.7	< 1.7 [c]

2.6.7.13B ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) combined preliminary / dose range finding embryo-fetal development in the rabbit Study no. 1670322

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	50 (Group 2)	300 (Group 3)	600 (Group 4)
Dams (cont.)	Mean no. corpora lutea:	11	10	9	9
	Mean no. implantation sites:	10	9	9	8
	Mean % pre-implantation loss:	14.9	13.3	7.5	6.2
Litters	No. litters evaluated:	6	6	6	5
	No. live fetuses:	9	8	9	8
	Mean no. total resorptions:	1	1	0	0
	No. of litters with dead fetuses:	0	0	0	0
	Mean % post-implantation loss:	8.4	6.4	0.0	2.5
	Mean fetal body weight (g):	38.1	38.2	38.8	37.3
	Fetal sex ratios (% males):	52	59	41	46
	Fetal malformations [d]:				
	Total affected fetuses (litters)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
	Fetal variations [d]:				
	Total affected fetuses (litters)	24 (6)	21 (6)	20 (6)	22 (5)

BLOQ = below lower limit of quantitation (< 0.100 µg/mL); GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Dunnett Exact Homogenous Test)

a = One animal sent to necropsy on GD 18 due to body weight loss and near absent food consumption; considered to be test article related.

b = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

c = Total bilirubin was below the level of quantification for all animals at scheduled necropsy on GD 29 (nine days after the completion of dosing). A measurable quantity 5.7 µmol/L was recorded for Animal 124 administered 600 mg/kg/day that was euthanized prematurely on GD 18.

d = All malformations and variations were considered to be incidental and not related to treatment with LNP023.

2.6.7.13C　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rabbit
Study no.: [1670323]
Design similar to ICH 4.1.3?: Yes
Duration of dosing: GD 7 to 20
Location in CTD: 4.2.3.5.2-3
Species / strain: Rabbit / Hra:(NZW)SPF
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age at mating: ≥ 5 months
Day of C-section: GD 29
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily

Special features: None
No observed adverse effect level: F0 females: 250 mg/kg/day, F1 litters: 450 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	100 (Group 1)	250 (Group 2)	450 (Group 3)
Dams	**Toxicokinetics:**					
	Gestation Day 20	Cmax (µg/mL)	BLOQ	5.90	15.0	30.6
		AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	51.8	153	400
	No. pregnant:		19	20	19	20
	No. died or sacrificed moribund:		0	0	0	0
	No. aborted or with total resorption of litter:		0	1	0	0
	Clinical observations:		Thin appearance was noted for four dams administered 450 mg/kg/day. This finding was considered associated to reduced body weight gain and reduced mean food consumption noted in this group and therefore considered treatment-related.			
	Necropsy observations:		At necropsy, one dam administered 450 mg/kg/day was still noted to be thin; this animal was confirmed pregnant with live fetuses and no early or late resorptions.			
	Body weight gain (%) [a]:	GD 7 to 21	0.15 kg	+26.7	−6.7	−73.3 **
	Food consumption (%) [a]:	GD 8 to 9	143.1 g/animal	−2.5	−18.0 *	−40.0 ***
		GD 20 to 21	106.7 g/animal	−0.1	+2.3	−16.5
		GD 28 to 29	88.1 g/animal	+11.0	+6.9	+20.7

2.6.7.13C ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rabbit Study no. 1670323

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 1)	250 (Group 2)	450 (Group 3)
Dams (cont.)	Mean no. corpora lutea:	10	9	9	10
	Mean no. implantation sites:	9	8	8	8
	Mean % pre-implantation loss:	8.8	10.4	8.6	12.2
Litters	No. litters evaluated:	19	19	19	20
	No. live fetuses:	8	8	8	8
	Mean no. total resorptions:	0	0	0	0
	No. of litters with dead fetuses:	0	0	0	0
	No. dead fetuses:	0	0	0	0
	Mean % post-implantation loss:	2.8	2.5	3.4	3.7
	Mean fetal body weight (g):	40.9	41.1	40.9	38.8
	Fetal sex ratios (% males):	48	49	57	49
	Fetal malformations:				
	Gross external malformations [b]	-	-	-	-
	Fresh visceral malformations [b]	-	-	-	-
	Fixed visceral malformations [b]	-	-	-	-
	Skeletal malformations [b]	-	-	-	-
	Total affected fetuses (litters)	3 (2)	3 (2)	6 (4)	3 (3)

2.6.7.13C　　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rabbit　　Study no. 1670323

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 1)	250 (Group 2)	450 (Group 3)
Litters (cont.)	Fetal variations:				
	Gross external variations [b]	-	-	-	-
	Fresh visceral variations [b]	-	-	-	-
	Fixed visceral variations [b]	-	-	-	-
	Skeletal variations [b]	-	-	-	-
	Total affected fetuses (litters)	149 (19)	122 (19)	135 (19)	145 (20)

BLOQ = below the lower limit of quantitation (< 0.100 µg/mL); GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; - = no noteworthy findings; *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ (Dunnett Exact Homogeneous Test)

a = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

b = No test article-related malformations or variations were noted. Malformations observed were disparate; from different organ systems; and were, therefore, considered not LNP023 related.

2.6.7.14 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

Test article: LNP023

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of pre- and postnatal development in the rat **Study no.:** [1770878]

Design similar to ICH 4.1.2?: Yes

Species / strain: Rat / Crl:WI(Han) **Duration of dosing:** GD 6 through LD 21 **Location in CTD:** 4.2.3.5.3-1

Initial age at mating: 9 to 10 weeks **Day of mating:** GD 0 **GLP compliance:** Yes

Date of first dose: [redacted]-20[redacted] **Method of administration:** Oral (gavage), once daily **Vehicle / formulation:** 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: None **Litters culled / not culled:** Culled to 8 pups / litter on PND 4

No observed adverse effect level: F0 females: 1000 mg/kg/day, F1 males: 1000 mg/kg/day, F1 females: 1000 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
F0 Females	No. evaluated:		22	22	22	22
	No. pregnant:		19	22	21	20
	No. died or sacrificed moribund:		1 [a]	1 [b]	0	2 [c]
	No. with no viable fetuses on GD 26:		1	0	1	1
	Clinical observations:		-	-	-	-
	Postdose observations:		-	-	-	-
	Necropsy observations:		-	-	-	-
	Body weight change:	GD 6 to 20	-	-	-	-
		LD 1 to 21	-	-	-	-
	Food consumption:	GD 6 to 20	-	-	-	-
		LD 1 to 21	-	-	-	-
	Mean duration of gestation (days):		23.0	23.0	23.0	22.9

2.6.7.14 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（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of pre- and postnatal development in the rat Study no. 1770878

Daily dose (mg/kg)			0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
F1 Litters: Preweaning	No. litters evaluated:		17	21	20	17
	Mean no. of implantation sites:		10.53 [d]	11.05	10.86 [d]	10.30 [d]
	Mean no. pups born:		9.41	10.19	10.50	9.94
	No. of stillborn pups:		0	5	1	2
	Mean no. pups alive:	Day 1	9.35	9.76	10.40	9.82
		Day 4 (before cull)	9.35	9.71	10.40	9.82
		Day 4 (after cull)	7.53	7.67	7.95	7.76
		Day 21	7.53	7.67	7.95	7.71
	Pup body weights:					
	Males	Day 1	-	-	-	-
		Day 7	-	-	-	-
		Day 21	-	-	-	-
	Females	Day 1	-	-	-	-
		Day 7	-	-	-	-
		Day 21	-	-	-	-
	Mean % male pups day 1:		50	42	49	52
	Pup clinical observations:		-	-	-	-
	Pup necropsy observations:		-	-	-	-
	Pup physical and functional development data:					
	Eye opening (mean day to completion)		-	-	-	-
	Pinna unfolding (mean day to completion)		-	-	-	-
	Air righting pass percentage (mean pass percentage)		-	-	-	-
	Surface righting pass percentage (mean pass percentage)		-	-	-	-

2.6.7.14 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（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of pre- and postnatal development in the rat Study no. 1770878

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
F1 Males: Postweaning	No. evaluated:	20	20	20	20
	No. died or sacrificed moribund:	0	0	0	0
	Clinical observations:	-	-	-	-
	Necropsy observations:	-	-	-	-
	Body weight change:				
	Maturation Day 22 to 71	-	-	-	-
	Pairing 0 to 14	-	-	-	-
	Maturation Day 22 to post-paring 7	-	-	-	-
	Food consumption:				
	Maturation Day 22 to 71	-	-	-	-
	Post-paring 1 to 11	-	-	-	-
	Pupillary reflex:	-	-	-	-
	Mean age of balano preputial separation (days):	52	53	52	51
	Motor activity:	Dose-related reduction in activity for all test article treated groups, compared with controls, later in the testing period, which were considered to be test article-related. Values were however within the historical control ranges, indicating normal variability, and therefore, the intergroup differences were considered not to represent an adverse effect of the test article. A reduction in activity was noted in the later part of the testing period which was dose related in terms of onset and magnitude. For animals maternally exposed with 1000 mg/kg/day, reduced activity (basic and fine movements) was noted after 20 minutes of testing, compared with controls, however this was not evident until after 40 minutes of testing for animals maternally exposed with 100 or 300 mg/kg/day, compared with controls. Mean values were all within historical control range, however as this finding was noted in a dose responsive manner a relationship to treatment cannot be discounted.			
	Learning and memory:	-	-	-	-
	Acoustic startle:	-	-	-	-
	Mean no. days prior to mating:	2.4	2.7	2.5	2.4
	No. of males that mated:	20	20	18	20
	No. of fertile males:	18	17	18	18

2.6.7.14 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（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of pre- and postnatal development in the rat Study no. 1770878

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
F1 Females: Postweaning	No. evaluated:	20	20	20	20
	No. died or sacrificed moribund:	0	0	0	0
	Clinical observations:	-	-	-	-
	Necropsy observations:	-	-	-	-
	Body weight change:				
	Maturation Day 22 to 71	-	-	-	-
	GD 0 to 13	-	-	-	-
	Food consumption:				
	Maturation Day 22 to 71	-	-	-	-
	GD 0 to 13	-	-	-	-
	Pupillary reflex:	-	-	-	-
	Mean age of vaginal opening (days):	32	32	32	32
	Motor activity:	Dose-related reduction in activity for all test article treated groups, compared with controls, later in the testing period, which were considered to be test article-related. Values were however within the historical control ranges, indicating normal variability, and therefore, the intergroup differences were considered not to represent an adverse effect of the test article. A reduction in activity was noted in the later part of the testing period which was dose related in terms of onset and magnitude. For animals maternally exposed with 1000 mg/kg/day, reduced activity (basic and fine movements) was noted after 20 minutes of testing, compared with controls, however this was not evident until after 40 minutes of testing for animals maternally exposed with 100 or 300 mg/kg/day, compared with controls. Mean values were all within historical control range, however as this finding was noted in a dose responsive manner a relationship to treatment cannot be discounted.			
	Learning and memory:	-	-	-	-
	Acoustic startle:	-	-	-	-
	Mean no. days prior to mating:	2.4	2.7	2.5	2.4
	No. of females with confirmation of mating:	20	20	20	20

2.6.7.14 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（続き）

Report title: LNP023: Oral (gavage) study of pre- and postnatal development in the rat Study no. 1770878

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)	100 (Group 2)	300 (Group 3)	1000 (Group 4)
F1 Females: Postweaning (cont.)	No. of pregnant females:	18	17	20	18
	Mean no. corpora lutea:	13.4	13.6	15.0	14.7
	Mean no. implantation sites:	11.9	12.5	13.6	13.4
	Mean % pre-implantation loss:	13.56	9.82	8.30	8.33
F2 Litters	Mean no. early resorptions:	0.6	0.6	0.9	0.7
	Mean no. late resorptions:	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % post-implantation loss:	4.14	4.83	6.26	4.81
	Mean no. live embryos:	11.3	11.9	12.7	12.8

GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = lactation day; PND = post-natal day; - = no noteworthy findings

a = One control female was euthanized on GD 15 due to clinical observations of labored respiration and red coloration of the skin around the chin. The animal was recorded with a gelatinous thymus, dark lungs, and fluid in the thoracic cavity, which was most likely attributable to a dosing accident.

b = One female administered 100 mg/kg/day was found dead on GD 11. Red ovaries and thymus were recorded at necropsy, although a cause of death could not be confirmed. However, in the absence of any supporting data to suggest a test article effect, this death was considered to have arisen incidentally and was unrelated to the test article.

c = One female administered 1000 mg/kg/day was found dead on GD 13. Red fluid was evident in the thoracic cavity; this considered to be attributable to a dosing accident and was unrelated to the test article; One female administered 1000 mg/kg/day was euthanized on GD 8 due to clinical observations of piloerection, audible, slow, labored respiration, red coloration of the skin around the nose, and red discharge from the mouth. Abnormal contents and dark areas were recorded for the esophagus, along with dark lungs and gelatinous thymus. This death was considered to have arisen due to a previous gavage dosing error and was unrelated to the test article.

d = Includes females with no viable fetuses

2.6.7.15A　幼若イヌを用いた 8 週間反復投与用量設定試験

Test article: LNP023

Species / strain	Method of administration (vehicle / formulation)	Duration of dosing [a]	Doses (mg/kg/day)	Gender and no. per group	NOAEL [b] (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number	Location in CTD
Dog / Beagle	Daily oral gavage (0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension)	8 weeks (28 to 83 pp or 31 to 86 pp)	0	M: 4, F: 2,	150	≥ 150 mg/kg: heart rate increased, shorter RR and QT intervals	[1770671]	4.2.3.5.4-1
			5	M: 2, F: 2		≥ 300 mg/kg: shorter PR interval		
			30	M: 3, F: 1		300 mg/kg: myocardial degeneration/necrosis, alveolar eosinophilic material in the lung		
			150	M: 1, F: 4		600 mg/kg: not tolerated, clinical signs (i.e., decreased activity, tremors, salivation) and ECG findings (heart rate of 268 beats per minute)		
			300	M: 2, F: 3				
			600	M: 0, F: 1				

ECG = electrocardiography; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; pp = post partum

a = Except females no. 5501 dosed at 600 mg/kg for 2 days and euthanized on Day 31 pp due to excessive toxicity.

b = No Observed Adverse-Effect Level

2.6.7.15B　幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験

Test article: LNP023

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle
Study no.: [1870009]
Species / strain: Dog / beagle
Duration of dosing: 52 weeks
Location in CTD: 4.2.3.5.4-2
Initial age: PND 28
Duration of postdose: 27 weeks
GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted]-20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage), once daily
Vehicle / formulation: 0.5% w/w Methyl cellulose aqueous solution containing 0.5% w/w Tween 80 / suspension

Special features: Developmental parameters (height and length), Neurological assessments, Hormone and biomarker analysis, Bone marrow cytology, Blood immunophenotyping, TDAR, Pharmacodynamics, Bone measurements, Immunohistochemistry, Cardiomyocyte histomorphometry, Male reproductive organ and spermatogenic cycle assessment

No observed adverse effect level: Males: 5 mg/kg/day, Females: 30 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Toxicokinetics:									
Week 1 (PND 28)	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.04	3.95	23.5	23.2	77.9	73.9
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	39.9	36.3	226	207	848	797
Week 13 (PND 117)	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	4.37	4.65	22.7	20.3	92.1	73.1
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	35.1	35.4	163	136	811	664
Week 52 (PND 390)	Cmax (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	5.95	5.78	26.2	26.3	83.1	92.2
	AUC0-24h (µg.h/mL)	NA	NA	50.1	46.1	182	167	841	928
Noteworthy findings:									
Died or sacrificed moribund:		1 [a]	0	0	0	0	0	0	0
Body weight:		-	-	-	-	-	-	-	-
Developmental parameters:		-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Clinical observations [b]:									
PNDs 28 to 56	Salivation	0	0	1 (1)	2 (4)	1 (1)	0	9 (53)	10 (105)
	Thinness	1 (10)	2 (28)	0	0	0	0	0	0
PNDs 56 to 392	Salivation	0	0	1 (2)	1(1)	1(1)	0	8 (62)	10 (84)
	Thin	2 (5)	0	4 (84)	5 (128)	5 (105)	5 (130)	6 (121)	10 (239)
Ophthalmology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Neurological examination:		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:									
Week 2 (2.5 to 3.5 hrs postdose)									
Heart rate (beats/min)		235.3	216.2	213.2	238.8	220.0	225.4	238.7	222.0
RR interval (msec)		257.9	280.5	292.0	255.0	275.2	268.6	257.3	272.9
PR interval (msec)		65.6	67.2	72.8	67.6	61.2	63.8	62.2	66.1
QT interval (msec)		147.1	151.5	154.4	147.6	150.2	144.8	147.0	157.4
Week 13 (2.5 to 3.5 hrs postdose)									
Heart rate (beats/min)		136.6	143.3	141.2	139.8	153.4	160.0	178.6	176.6
RR interval (msec)		445.9	424.0	434.8	433.8	391.8	384.2	339.3	348.3
PR interval (msec)		85.0	85.7	77.4	83.8	73.4	73.6	70.8	77.5
QT interval (msec)		171.7	170.9	167.0	171.6	163.4	159.0	162.9	161.7
Week 52 (2.5 to 3.5 hrs postdose)									
Heart rate (beats/min)		114.0	113.3	117.2	109.4	113.4	128.2	145.9	146.7
RR interval (msec)		535.6	545.4	518.8	555.6	535.6	473.8	418.1	415.6
PR interval (msec)		93.5	94.7	90.6	89.4	81.0	86.8	78.8	84.0
QT interval (msec)		183.7	184.3	188.8	185.0	183.6	181.8	173.2	173.4

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Hematology:									
Week 13									
Red blood cells (10^{12}/L)		6.193	6.034	6.296	6.238	5.582	5.836	5.602	5.763
Hemoglobin (g/L)		134.7	135.6	136.2	134.6	123.8	128.6	120.0	126.8
Hematocrit (L/L)		0.4121	0.4179	0.4212	0.4168	0.3798	0.3980	0.3730	0.3947
Reticulocytes (10^{9}/L)		55.59	65.77	66.20	58.42	73.98	85.02	68.67	75.13
Mean corpuscular volume (fL)		66.56	-	66.94	-	68.12	-	66.63	-
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)		327.00	324.60	323.20	323.00	325.40	323.40	321.70	321.80
Week 26									
Red blood cells (10^{12}/L)		6.654	6.943	6.560	6.568	6.126	6.612	5.602	5.938
Hemoglobin (g/L)		146.2	157.0	147.2	148.4	136.0	147.4	124.7	136.4
Hematocrit (L/L)		0.4432	0.4781	0.4420	0.4440	0.4264	0.4624	0.3847	0.4150
Reticulocytes (10^{9}/L)		31.89	49.99	44.40	30.42	49.56	54.74	35.35	47.14
Mean corpuscular volume (fL)		66.61	-	67.36	-	69.58	-	68.72	-
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)		330.20	328.10	333.00	334.40	319.40	319.20	324.00	328.90
Nucleated red blood cells [c]		0	0	0	0	0	0	4/10	2/10

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Hematology (cont.):									
Week 39									
Red blood cells (10^{12}/L)		7.317	7.148	6.984	6.840	6.620	7.166	6.618	6.652
Hemoglobin (g/L)		157.5	160.0	152.2	150.6	147.4	158.8	144.4	149.1
Hematocrit (L/L)		0.4807	0.4849	0.4664	0.4620	0.4512	0.4938	0.4472	0.4623
Reticulocytes (10^{9}/L)		30.35	26.34	32.60	22.20	31.06	34.02	27.03	44.73
Mean corpuscular volume (fL)		65.73	-	66.78	-	68.14	-	67.75	-
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)		327.50	329.90	326.40	326.40	327.20	322.20	322.70	323.00
Week 52									
Red blood cells (10^{12}/L)		7.276	6.668	7.106	6.574	6.540	6.438	6.533	6.209
Hemoglobin (g/L)		162.4	157.0	158.4	148.6	151.0	147.6	145.6	142.5
Hematocrit (L/L)		0.4733	0.4498	0.4686	0.4384	0.4438	0.4402	0.4393	0.4276
Reticulocytes (10^{9}/L)		33.13	54.60	39.34	26.18	42.52	41.50	43.84	39.82
Mean corpuscular volume (fL)		65.04	-	66.04	-	67.86	-	67.39	-
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)		343.40	348.60	337.80	338.80	340.40	336.40	330.90	333.60
Nucleated red blood cells [c]		0	0	0	0	0	0	4/10	3/10
Coagulation:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Clinical chemistry:									
Week 13									
Total bilirubin (µmol/L)		0.32	0.05	0.48	0.58	0.14	0.55	0.26	0.56
Urea (mmol/L)		-	3.28	-	3.64	-	3.14	-	4.32
Creatinine (µmol/L)		-	31.8	-	35.4	-	35.4	-	34.5
Week 26									
Total bilirubin (µmol/L)		0.65	0.62	0.75	0.86	0.21	0.99	0.99	1.11
Urea (mmol/L)		-	4.61	-	4.93	-	4.78	-	5.28
Creatinine (µmol/L)		-	56.6	-	61.9	-	54.8	-	65.4
Phosphorus (mmol/L)		-	1.979	-	1.782	-	1.899	-	2.028
Week 39									
Total bilirubin (µmol/L)		0.70	0.72	0.44	0.89	0.92	1.09	0.82	1.16
Urea (mmol/L)		-	5.21	-	5.64	-	5.50	-	5.75
Creatinine (µmol/L)		-	63.6	-	61.9	-	63.6	-	76.0
Phosphorus (mmol/L)		1.521	1.501	1.531	1.485	1.666	1.576	1.853	1.650
Calcium (mmol/L)		2.550	2.530	2.585	2.610	2.595	2.580	2.622	2.630
Week 52									
Total bilirubin (µmol/L)		1.03	0.97	0.89	1.13	1.09	1.44	1.04	1.56
Urea (mmol/L)		-	5.00	-	5.36	-	5.93	-	6.21
Creatinine (µmol/L)		-	65.4	-	54.8	-	67.2	-	78.7
Phosphorus (mmol/L)		1.305	1.275	1.343	1.395	1.453	1.427	1.534	1.421
Calcium (mmol/L)		2.405	-	2.480	-	2.420	-	2.490	-
Urinalysis:		-	-	-	-	-	-	-	-
Urine chemistry:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Bone marrow cytology:		-	-	-	-	-	-	-	-
Hormone / biomarker analysis:									
Week 2									
Androstenedione (nM)		0.39	NA	0.80	NA	0.69	NA	1.21	NA
Testosterone (nM)		0.73	NA	1.06	NA	0.84	NA	1.79	NA
Dihydrotestosterone (nM)		10.1	NA	15.0	NA	11.7	NA	15.1	NA
T3 plasma (nmol/L)		1.80	1.77	1.92	1.81	1.84	1.78	2.09	1.97
NT-proBNP (pmol/L)		516	491	393	387	584	543	614	563
Week 4									
T3 plasma (nmol/L)		1.61	1.66	1.61	1.64	1.75	1.64	1.98	1.94
NT-proBNP (pmol/L)		300	303	315	315	325	395	378	420
Week 13									
NT-proBNP (pmol/L)		281	275	290	302	326	300	447	341
Week 26									
NT-proBNP (pmol/L)		353	364	405	403	448	466	491	460
Week 39									
NT-proBNP (pmol/L)		397	407	433	362	519	570	459	547
Week 51									
NT-proBNP (pmol/L)		349	327	399	357	501	589	410	447
Immunophenotyping:		-	-	-	-	-	-	-	-
TDAR:		-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Organ weights (%) [d]:	No. examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Heart		86.3452 g	70.2718 g	+5	−12	+7	+16	+33	+32
Liver / gallbladder		266.5938 g	-	+8	-	+1	-	+31	-
Prostate		8.4308 g	NA	+3	NA	−9	NA	−25	NA
Gross pathology [e]:	No. examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Heart; focus, pale		-	0	-	0	-	0	-	1
Histopathology [e]:	No. examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Heart									
Fibrosis									
Minimal		0	0	0	0	0	0	2	1
Mild		0	0	0	0	0	0	0	1
Artery									
Aorta mineralization									
Minimal		1	1	2	1	2	2	1	2
Mild		0	0	0	0	1	0	0	1
Aorta, Von Kossa stain									
Minimal		4	4	4	3	2	5	3	2
Mild		0	0	0	0	2	0	0	1
Liver									
Pigment; kupffer cell									
Minimal		0	0	0	0	1	3	1	3
Mild		0	0	0	0	0	0	2	1

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Histopathology (cont.) [e]:									
Liver; kuppfer cell special stains									
No. examined		2	2	0	0	0	0	2	2
Perls stain									
Minimal		2	2	NA	NA	NA	NA	0	2
Moderate		0	0	NA	NA	NA	NA	2	0
Schmorl’s stain									
Minimal		1	2	NA	NA	NA	NA	0	0
Mild		0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
Gland, adrenal									
Vacuolation; cortical, zona glormerulosa									
Minimal		0	0	0	0	0	0	1	2
Gland, thyroid									
Hypertrophy; follicular cell									
Minimal		1	1	1	1	2	1	4	4
Bone marrow									
Increased cellularity; hematopoietic									
Minimal		1	1	1	0	4	4	4	4

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Immunohistochemistry (IHC):									
No. examined		5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Kidney									
Positive; juxtaglomerular									
Minimal		5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Heart cardiomyocyte histomorphometry:									
No. examined		5	5	NA	NA	NA	NA	3 [f]	3 [f]
Cardiomyocyte diameter (µm)		13.38	11.76	NA	NA	NA	NA	11.56	11.88
Cardiomyocyte density (#/mm^2) [g]		3405	4302	NA	NA	NA	NA	4337	3951
Male reproductive organ and spermatogenic cycle assessment [e]:									
No. examined		5	NA	5	NA	5	NA	5	NA
Testis									
Hypospermatogenesis									
Minimal		2	NA	1	NA	5	NA	1	NA
Mild		0	NA	1	NA	0	NA	3	NA
Moderate		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymis									
Cellular debris; lumen									
Minimal		0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Mild		0	NA	1	NA	0	NA	2	NA
Pharmacodynamics (%) [h]:		NA	NA	30	40	78	90	96	98

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Postdose evaluation:									
Clinical chemistry:									
Week 65									
Urea (mmol/L)		5.44	5.43	NA	NA	NA	NA	6.21	6.85
Creatinine (µmol/L)		-	60.1	NA	NA	NA	NA	-	74.3
Phosphorus (mmol/L)		1.219	-	NA	NA	NA	NA	1.414	-
Calcium (mmol/L)		2.445	-	NA	NA	NA	NA	2.525	-
Week 79									
Urea (mmol/L)		4.46	4.71	NA	NA	NA	NA	6.43	6.71
Creatinine (µmol/L)		-	58.3	NA	NA	NA	NA	-	70.7
Phosphorus (mmol/L)		1.179	-	NA	NA	NA	NA	1.498	-
Calcium (mmol/L)		2.433	-	NA	NA	NA	NA	2.500	-
Organ weights (%) [d]:	No. examined	4	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Heart		-	68.6290 g	NA	NA	NA	NA	-	+31
Thyroid / parathyroid		0.9830 g	0.8272 g	NA	NA	NA	NA	+57	+24
Prostate		8.0373 g	NA	NA	NA	NA	NA	−15	NA
Gross pathology [e]:	No. examined	4	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Heart; focus, pale		0	-	NA	NA	NA	NA	1	-

2.6.7.15B 幼若イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Report title: A 52 week oral (gavage) toxicity study with a 27 week recovery period in the juvenile beagle Study no. 1870009

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control – Group 1)**		**5 (Group 2)**		**30 (Group 3)**		**150 (Group 4)**	
Number of animals	Main	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
	Recovery	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Histopathology [e]:	No. examined	4	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Heart									
Fibrosis									
Minimal		0	0	NA	NA	NA	NA	1	3
Artery, aorta									
Mineralization									
Minimal		2	2	NA	NA	NA	NA	3	4
Mild		0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Liver									
Pigment; kupffer cell									
Minimal		1	-	NA	NA	NA	NA	5	-

BLOQ = below the limit of quantification (< 0.100 µg/mL); BPM = beats per minute; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M= male; NA = not applicable; PND = post natal day; TDAR = T-cell dependent antibody response; - = no noteworthy findings

a = Recovery study control male no. 1108 euthanized on PND 421 due to poor and / or deteriorating condition; the cause of death was considered to be polyarteritis (beagle pain syndrome).

b = Number of animals affected (number of observations).

c = The range of nucleated red blood cells / 100 white blood cells is provided and the fraction represents the incidence of finding within the group.

d = For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

e = Incidence is presented.

f = Two (2) males and two females given 150 mg/kg/day were excluded from staining and measurements as heart fibrosis was observed.

g = #/mm^2 = number of cardiomyocytes per square millimeter (left ventricular free wall).

h = Extent of mean alternative complement pathway / amplification loop inhibition after 52 weeks treatment (sample taken 24 hours post the last dose).

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A その他の毒性試験：光毒性試験

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Mouse Balb/c fibroblast cell line 3T3 clone A31	*In vitro*	NA	Up to 1000 µM	NA	Photo irritation factor (PIF) of 7.0, indicating a weak phototoxicity potential.	No	[1315506]	4.2.3.7.7-1
Mouse / BALB/c	Oral (gavage)	3 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	F: 6	Transient erythema on day 1 or 2 only at 100 and 1000 mg/kg/day after UVA/Vis exposure. Statistically significant increase of ear weight at 100 and 300 mg/kg/day after UVA/Vis exposure. No clear evidence of *in vivo* photoactivation potential up to the highest dose tested of 1000 mg/kg/day (Cmax: 155000 ng/mL; AUC0-24h: 599000 ng.h/mL).	Yes	[1470564]	4.2.3.7.7-2

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; UVA/Vis = ultra-violet A and visible light

2.6.7.17B　その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Rat (Sprague Dawley) seminiferous tubules primary culture	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	NA	Testicular toxicity *in vitro* assay: No cytotoxic effects at all concentrations tested. Slight decrease in transepithelial electrical resistance at 200 µM starting Day 7 and modulation of genes specific for tight and gap junctions at various time-points and concentrations, yet without a consistent linear concentration-response relationship. Increased number of somatic cells starting D7 / D8 and modulated Sertoli cells specific genes, including the androgen receptor, which was clearly upregulated at Day 22 at all dose levels tested. No negative effect on the total number of germ cells throughout the study, but rather increased the number of germ cells at some time-points and concentrations tested.	No	[DIS R1720270]	4.2.3.7.3-1
Dog (beagle) seminiferous tubules primary culture	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	NA	Testicular toxicity *in vitro* assay: No cytotoxic effects at the concentrations tested. Modulation of genes specific for tight and gap junctions at various time-points and concentrations, yet without a consistent linear concentration-response relationship. In addition, LNP023 slightly increased the number of somatic cells at 20 µM and modulated Sertoli cells selective genes. LNP023 increased the number of spermatogonia and secondary spermatocytes at D7 / D8, which was overall associated with increases in the expression of genes specific for spermatogonia, pachytene spermatocytes and round spermatids.	No	[DIS R1720277]	4.2.3.7.3-2

2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Rat (Sprague Dawley) and Dog (beagle) seminiferous tubules primary cultures	*In vitro*	NA	2, 20 and 200 µM	NA	Comparison of testing LNP023 in the rat (Study 1720270) and dog (Study 1720277) [redacted] testicular toxicity model: Results were overall comparable. Some differences on the kinetic of LNP023-related effects on germ cell populations were observed between the rat and dog cultures: In the dog, LNP023 appeared to have transiently enhanced some parameters of the spermatogenic process after 1 week with some negative effects after 3 weeks of treatment. In contrast, in the rat culture, a transient, negative effect on the spermatogenetic process was noted after 1 week, which appeared to have resolved by the end of treatment week 3. In both cases, recovery is either already established at the end of the study, as in the rat culture, or, as for the dog culture, is anticipated after a treatment-free washout period based on the absence of negative effects on number and gene expression of spermatogonia.	No	[DIS R1720270a]	4.2.3.7.3-3

2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Human HEK293 recombinant reporter cells expressing androgen and thyroid hormone receptors	*In vitro*	NA	10,20,40,80, 160, 200 µM	NA	Androgen and thyroid hormone receptors activity assays: No cytotoxicity at the concentrations tested. No changes in androgen receptor activities. LNP023 decreased the activity of the agonist L-TriIodothyronine (T3) on the thyroid hormone receptors reporters THα and THβ in a dose-dependent way at concentrations ≥ 80 µM. The magnitude of those decreases ranged from −10% to −47% of controls and was most pronounced at high LNP023 concentrations in combination with low, but physiologically relevant T3 concentrations.	No	[DIS R1820225]	4.2.3.7.3-4
Rat (Wistar) liver	*In vitro*	NA	0.03,0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 µM	NA	Rat Thyroid receptor binding assay: No LNP023 effects at all concentrations tested.	No	[RD-2019-00025]	4.2.3.7.3-5
Human recombinant (Sf9 cells) expressing JMJD1A and JMJD1B	*In vitro*	NA	0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 µM	NA	*In vitro* assessment on histone lysine demethylase enzymes JMJD1A and JMJD1B involved in spermatogenesis: IC50 values above the highest tested concentration.	No	[RD-2020-00447]	4.2.3.7.3-6
Human recombinant (Sf9 cells) expressing JMJD1A and JMJD1B	*In vitro*	NA	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 200 µM	NA	*In vitro* assessment on histone lysine demethylase enzymes JMJD1A and JMJD1B involved in spermatogenesis: JMJD1A IC50 at 130 µM; JMJD1B: IC50 values above the highest tested concentration.	No	[RD-2020-00448]	4.2.3.7.3-7

2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Dog thyroid microsomes	*In vitro*	NA	5, 10, 20,40, 60,80, 100 µM	NA	*In vitro* assessment on Thyroid peroxidase activity: No LNP023 effects at all concentrations tested.	No	[DIS R1470567b]	4.2.3.7.3-8
Stem cells and progenitor cells derived from canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	NA	*In vitro* hematotoxicity assay: IC50 on progenitor cell burst forming unit (P-BFU) – erythroid (erythropoietic progenitor cells) proliferation extrapolated up to 3586 µM; No effects on other stem cell and progenitor cell proliferations at all concentrations tested.	No	[1920024]	4.2.3.7.3-9
Stem cells and progenitor cells derived from canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	NA	Gene expression analysis of progenitor erythroid cells (P-BFU) from *in vitro* hematotoxicity study 1920024: Non-significant effect on hematopoiesis and regulation of cell differentiation, erythrocyte differentiation, iron metabolism, hemoglobin synthesis, oxygen homeostasis response to hypoxia, KDM1A axis or SOX6 axis gene signatures.	No	[DIS R1920024a]	4.2.3.7.3-10
Stem cells and progenitor cells derived from human and canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	NA	*In vitro* hematotoxicity assay: IC50 on human progenitor granulocyte and macrophage (P-GM) cell proliferation extrapolated at 217 or 226 µM in cell cultures from two donors. No effects on other human or canine stem cell and progenitor cell proliferations at all concentrations tested.	No	[2020007]	4.2.3.7.3-11

2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性発現機序検討試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Stem cells and progenitor cells derived from human and canine bone marrow mononuclear cells	*In vitro*	NA	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 µM	NA	Gene expression analysis of human and canine progenitor erythroid cells (P-BFU) from *in vitro* hematotoxicity study 2020007: Non-significant effect on hematopoiesis and regulation of cell differentiation, erythrocyte differentiation, iron metabolism, hemoglobin synthesis, oxygen homeostasis response to hypoxia, KDM1A axis or SOX6 axis gene signatures.	No	[DIS R2020007a]	4.2.3.7.3-12
Mouse / complement factor B knockout (B6;129S4-Cfb<tm1Hrc>)	*Ex vivo*	NA	NA	NA	Mouse, complement factor B knockout phenotyping: No relevant difference in organ weights, macroscopic and microscopic changes were observed between B6;129S4-Cfb<tm1Hrc>mice (Complement Factor B knockout) and wild-type littermate control mice.	No	[DIS R1820037]	4.2.3.7.3-13

GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable

2.6.7.17C　その他の毒性試験：不純物の毒性試験

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration / Test article	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
(Q)SAR systems	*In silico*	NA	NA	NA	Prediction for mutagenicity of actual and potential impurities and by products.	No	[2300074]	4.2.3.7.6-1
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物C＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物C＊ Mutagenic potential in strain TA100 in the absence and presence of S9.	No	[1912571]	4.2.3.7.6-2
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物D＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物D＊Mutagenic potential in strain TA98 in the absence and presence of S9.	No	[2012513]	4.2.3.7.6-3
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物E＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ± S9	NA	不純物E＊Mutagenic potential in strain TA98 in the absence and presence of S9.	No	[2012516]	4.2.3.7.6-4
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物F＊	NA	15.81, 50,158.1, 500, 1581, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物F＊No evidence of mutagenic potential.	No	[1212590]	4.2.3.7.6-5
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物G＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物G＊No evidence of mutagenic potential.	No	[2012501]	4.2.3.7.6-6
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物H＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物H＊ No evidence of mutagenic potential.	No	[1612513]	4.2.3.7.6-7
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物I＊	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物I＊ No evidence of mutagenic potential.	No	[1612506]	4.2.3.7.6-8

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17C その他の毒性試験：不純物の毒性試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration / Test article	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物BB*	NA	15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物J*:No evidence of mutagenic potential.	No	[1012603]	4.2.3.7.6-9
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物K*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物K*:No evidence of mutagenic potential.	No	[2012503]	4.2.3.7.6-10
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物L*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物L*: No evidence of mutagenic potential.	No	[1912577]	4.2.3.7.6-11
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物M*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物M*: No evidence of mutagenic potential.	No	[1912578]	4.2.3.7.6-12
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物N*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物N*:No evidence of mutagenic potential.	No	[1912579]	4.2.3.7.6-13
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物O*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物O:*No evidence of mutagenic potential.	No	[1912580]	4.2.3.7.6-14
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物P*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物P:*No evidence of mutagenic potential.	No	[1912589]	4.2.3.7.6-15
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物A*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物A:*Mutagenic potential in strain TA98 in the absence and presence of S9.	No	[1912581]	4.2.3.7.6-16

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17C その他の毒性試験：不純物の毒性試験（続き）

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration / Test article	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Salmonella. typhimurium TA1535, TA98, TA100, TA97a and TA102	*In vitro* / 不純物A*	NA	16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate ±S9	NA	不純物A*: Mutagenic potential in strain TA98 in the absence and presence of S9.	No	[2012508]	4.2.3.7.6-17

GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17D　その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vitro* 遺伝毒性試験

Test article: LNP023

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay

Study no.: [2070174]

Test for induction of: Micronuclei

No. of independent assays: 2

Location in CTD: 4.2.3.7.6-18

Strains: Primary human peripheral blood lymphocytes

No. of replicates: 4 (vehicle), 2 (test article, positive controls)

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: β-Naphthoflavone / Phenobarbital-induced rat liver S9

No. cells analyzed / culture: Minimum of 2000

Date of treatment: [redacted]-20[redacted]

Treatment: 3 + 21 hour treatment in the absence and presence of metabolic activation (S9) and 24 + 24 hour treatment in the absence of S9.

Vehicles: Test item: Anhydrous analytical grade dimethyl sulfoxide (DMSO); Positive controls: DMSO (CPA), Purified water (MMC and VIN)

Toxic / cytotoxic effects: Concentration related decreases in replication indices under all treatment conditions.

Genotoxic effects: None for 3 + 21 hour treatment in the absence and presence of metabolic activation (S9). Induction of micronulcie observed for 24 + 24 hour treatment in the absence of S9.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17D その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay Study no. 2070174

Micronucleus Experiment 1

Treatment	Test item	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%)	Mean MN cell frequency (%)	Statistical significance
3 + 21 hr	DMSO	0	-	0.45	-
without activation	不純物A*	50.00	3	0.80	NS
		100.0	2	0.60	NS
		180.0	18 E	0.80	NS
	MMC	0.30	39	7.85	$p \leq 0.001$
3 + 21 hr	DMSO	0	-	0.40	-
with activation	不純物A *	50.00	5	0.45	NS
		100.0	13	0.40	NS
		150.0	10 E	0.60	NS
	CPA	5.00	46	3.50	$p \leq 0.001$
24 + 24 hr	DMSO	0	-	0.28	-
without activation	不純物A*	20.00	0	0.75	$p \leq 0.01$
		80.00	22	0.93	$p \leq 0.001$
		140.0	35 E	1.08	$p \leq 0.001$
	VIN	0.04	39	5.80	$p \leq 0.001$

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17D その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: *In vitro* human lymphocyte micronucleus assay Study no. 2070174

Micronucleus Experiment 2

Treatment	Test item	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%)	Mean MN cell frequency (%)	Statistical significance
24 + 24 hr without activation	DMSO	0	-	0.30	-
	不純物A*	20.00	0	0.15	NS
		60.00	22	0.55	NS
		140.0	37 [E]	1.40	$p \leq 0.001$
	VIN	0.04	44	3.65	$p \leq 0.001$
	MMC	0.20	40	41.40	$p \leq 0.001$

CPA = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MMC = mitomycin C; MN = micronucleated; NS = not significant; RI = replication index; VIN = vinblastine

E = precipitate observed at end of treatment.

Cytotoxicity is 100 – relative RI where relative RI is calculated using the formula below:

Relative RI = (number binucleate cells + 2 × number multinucleate cells) / total number of cells in treated cultures / (number binucleate cells + 2 × number multinucleate cells) / total number of cells in control cultures × 100

2.6.7.17E　その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vivo* 遺伝毒性試験

Test article: LNP023

Report title: 4 week dosing mammalian peripheral blood erythrocyte *Pig-a* gene mutation assay with micronucleus test in the rat

Study no.: [2070173]

Test for induction of: *Pig-a* gene mutations in RBC and RET with additional micronucleus assessment in peripheral blood reticulocytes

Treatment schedule: Once daily administrations from Day 1 to Day 28, approximately 24 hours apart

Location in CTD: 4.2.3.7.6-19

Species / strain: Rat / RccHan:WIST

Sampling time: *Pig-a*: Pre-dose, Day 15 and Day 28
Micronucleus: Day 4 (reserve) and Day 28 (analyzed)

GLP compliance: Yes

Initial age: 7 to 8 weeks

Cells evaluated: *Pig-a:* RBC and RET, Micronucleus: RET

Method of administration: Oral (gavage), once daily

Date of dosing: [redacted]-20[redacted] to [redacted]-20[redacted]

No. of cells analyzed / animal: *Pig-a:* Determination of approximately 100 × 10^6 RBCs and 3 × 10^6 RETs; Micronucleus: 20000 RETs

Vehicle / formulation: 0.5% w/v Methyl cellulose aqueous solution containing 0.1% Tween 80 / suspension

Positive control:
Pig-a: ENU, 20 mg/kg/day

Special features: None

Toxic / cytotoxic effects: Weak evidence of bone marrow toxicity from the peripheral blood MN data set where %RET's were observed to be lower for all test item dose groups as compared to the concurrent vehicle control response, though with all values still falling within the historical vehicle control (normal) range. There was no evidence of toxicity from the pig-a gene endpoint data.

Genotoxic effects: None

Evidence of exposure: Bioanalytical data indicated that all test item dosed animals were exposed to 不純物A*

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control - Group 1)**	**31.25 (Group 2)**	**62.50 (Group 3)**	**125.0 (Group 4)**
Number of satellite animals		M: 6	M: 6	M: 6	M: 6
Toxicokinetics (不純物A*):					
Day 1	Cmax (ng/mL)	BLOQ	573	1460	2570
	AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	363	2330	8690
Day 28	Cmax (ng/mL)	BLOQ	281	1150	2610
	AUC0-24h (ng.h/mL)	NA	485	3920	17900

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17E その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vivo* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: 4 week dosing mammalian peripheral blood erythrocyte *Pig-a* gene mutation assay with micronucleus test in the rat Study no. 2070173

Summary of mutant frequency – Pre-dose sample

Test item	Dose (mg/kg/day)	MF RBC ($\times 10^{-6}$) (Mean ± SD)	%RET (Mean ± SD)	MF RET ($\times 10^{-6}$) (Mean ± SD)
Control	0	0.32 ± 0.090	4.3 ± 0.88	0.27 ± 0.079
不純物A*	31.25	0.48 ± 0.216	4.7 ± 1.00	0.86 ± 0.790
	62.50	0.94 ± 1.316	4.6 ± 0.81	0.39 ± 0.392
	125.0	0.47 ± 0.203	4.5 ± 0.86	0.23 ± 0.202
ENU	20	0.31 ± 0.087	4.4 ± 0.72	0.35 ± 0.168

Summary of mutant frequency – Day 15 sample

Test item	Dose (mg/kg/day)	MF RBC ($\times 10^{-6}$) [a] (Mean ± SD)	Statistics [#]	Significance	%RET (Mean ± SD)	MF RET ($\times 10^{-6}$) [b] (Mean ± SD)	Statistics [#]	Significance
Control	0	0.51 ± 0.173	NA	NA	3.3 ± 0.34	0.96 ± 0.542	NA	NA
不純物A*	31.25	0.83 ± 0.728	0.4211	NS	3.4 ± 0.24	0.85 ± 1.372	0.9704	NS
	62.50	0.72 ± 0.649	0.6184	NS	3.7 ± 0.41	0.44 ± 0.355	0.9861	NS
	125.0	0.65 ± 0.383	0.5895	NS	3.9 ± 0.69	0.71 ± 1.091	0.9678	NS
ENU	20	22.32 ± 7.718	< 0.0001	*	2.0 ± 0.40	252.40 ± 77.304	< 0.0001	*

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17E その他の毒性試験：不純物 不純物A*の *in vivo* 遺伝毒性試験（続き）

Report title: 4 week dosing mammalian peripheral blood erythrocyte *Pig-a* gene mutation assay with micronucleus test in the rat Study no. 2070173

Summary of Mutant Frequency – Day 28 Sample

Test item	Dose (mg/kg/day)	MF RBC ($\times 10^{-6}$) [c] (Mean ± SD)	Statistics [#]	Significance	%RET (Mean ± SD)	MF RET ($\times 10^{-6}$) [d] (Mean ± SD)	Statistics [#]	Significance
Control	0	0.48 ± 0.436	NA	NA	2.9 ± 0.23	0.29 ± 0.331	NA	NA
不純物A*	31.25	0.50 ± 0.465	0.7357	NS	3.1 ± 0.14	0.27 ± 0.371	0.8157	NS
	62.50	0.74 ± 0.572	0.3608	NS	2.9 ± 0.45	0.47 ± 0.591	0.5792	NS
	125.0	0.48 ± 0.270	0.6435	NS	2.9 ± 0.49	0.67 ± 0.697	0.3204	NS
ENU	20	199.50 ± 59.016	< 0.0001	*	3.1 ± 0.29	679.45 ± 145.824	< 0.0001	*

Micronucleus Data, Day 28

Test item	Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Mean %RET	%Micronucleated RET [e]		
				Mean	SD	Significance
Control	0	M: 6	1.31	0.11	0.06	NA
不純物A*	31.25	M: 6	1.29	0.15	0.09	NS
	62.50	M: 6	0.96	0.09	0.03	NS
	125.0	M: 6	1.02	0.08	0.01	NS
CPA [f]	10	M: 3	1.55	1.03	0.19	*

BLOQ = below the limit of quantification (< 2.00 ng/mL); CPA = cyclophosphamide; ENU = N-ethyl-N-nitrosourea; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MF = mutant frequency; NA= not applicable; NS = not significant; RBC = red blood cells; RET= reticulocytes; SD = standard deviation; # = ANOVA and Dunnett's (Group 1 vs 2, 3, 4) and two-sample t-test (Group 1 vs 5) p-values; * = $p \leq 0.05$

a = MF RBC: Linear Contrast dose response p-value (Groups 1, 2, 3, 4) = 0.4196 (NS)

b = MF RET: Linear Contrast dose response p-value (Groups 1, 2, 3, 4) = 0.8704 (NS)

c = MF RBC: Linear Contrast dose response p-value (Groups 1, 2, 3, 4) = 0.3068 (NS)

d = MF RET: Linear Contrast dose response p-value (Groups 1, 2, 3, 4) = 0.1311 (NS)

e = Terpstra-Jonckheere dose response p-value (Groups 1, 2, 3, 4): 0.8364 (NS)

f = No animals dosed as part of this study. Positive control samples prepared under Covance Study Number 8383954 were analyzed alongside the study samples.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17F　その他の毒性試験：労働衛生に関連した試験

Test article: LNP023

Species / strain or Test system	Method of administration / Test article	Duration of dosing	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number	Location in CTD
Human epidermis model (EPISKIN)	*In vitro* / LNP023-E14 (AAB)	NA	At least 10 mg (applied directly on top of the skin tissue)	NA	LNP023 is non-irritant in the *in vitro* skin irritation test under the experimental conditions of this study.	Yes	[20253153]	4.2.3.7.7-3
Mouse / Balb/c	Topical (epidermal) / LNP023-E14 (AAB)	3 days	0.2, 2, and 20% in N,N-dimethylacetamide / acetone / ethanol (DAE433)	F: 6	No sensitizing or irritating potential was ascribed to LNP023 in the murine local lymph node assay (LLNA).	Yes	[20253155]	4.2.3.7.7-4

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable